



FISIOLOGIA VEGETAL

PARTE II

Enzimas y Coenzimas, mecanismos de regulación

Metabolismo

**Fotosíntesis, Plantas C-3, C-4, CAM, intermedias, foto
respiración, quimiosíntesis**

Respiración y fermentación

Metabolismo de hidratos de carbono

Metabolismo de lípidos

Metabolismo de Proteínas

Metabolismo de ácidos nucleicos, expresión genética

Metabolito secundarios

Elaborado por: Fernando Pérez Leal

2017

ENZIMAS Y COENZIMAS, MECANISMOS DE REGULACIÓN

ENZIMAS

INTRODUCCIÓN

Las enzimas son biocatalizadores de naturaleza proteica. Todas las reacciones químicas del metabolismo celular se realizan gracias a la acción de **catalizadores o enzimas**. La sustancia sobre la que actúa una enzima se denomina **substrato** (Botánica On Line <http://www.forest.uve> u e .

Son muy eficaces como catalizadores ya que son capaces de aumentar la velocidad de las reacciones químicas mucho más que cualquier catalizador artificial conocido, y además son altamente específicos ya que cada uno de ellos induce la transformación de un sólo tipo de sustancia y no de otras que se puedan encontrar en el medio de reacción.

Gran parte de la historia de la Bioquímica discurre pareja a la historia de la investigación de los enzimas. Citaremos algunos hitos importantes:

-La existencia de catalizadores biológicos fue descrita por primera vez a comienzos del S. XIX en estudios acerca de la digestión de la carne por secreciones del estómago y la conversión del almidón en azúcar por la saliva.

-En 1835 la primera teoría general sobre la catálisis química publicada por J.J. Berzelius incluía un ejemplo de lo que hoy conocemos como un enzima: la *diastasa* de la malta, señalando que la hidrólisis del almidón se catalizaba más eficazmente por ésta que por el ácido sulfúrico.

-En 1860 Louis Pasteur propuso que la fermentación del azúcar para transformarse en alcohol era inducida por ciertos catalizadores biológicos, razón por la cual los enzimas fueron llamados inicialmente "fermentos". Pasteur supuso que dichos catalizadores se hallaban unidos de modo insoluble a la estructura de las células de la levadura por lo que no podían actuar fuera de estas. *Pasteur descubrió que la fermentación del azúcar* mediante levaduras, con su conversión en alcohol etílico y anhídrido carbónico es catalizada por **fermentos o enzimas**

-En 1877 se utiliza por primera vez la denominación "enzima" (etimológicamente "en la levadura").

-En 1897 E. Büchner consiguió extraer de las células de la levadura los enzimas que catalizan la fermentación alcohólica, demostrando que éstos pueden actuar independientemente de la estructura celular. Este hecho permitió estudiar "in vitro" la actividad y propiedades de los enzimas, aislarlos en estado puro y analizar su composición.

-En 1926 J.B. Sumner aisló un enzima, la ureasa, en forma cristalina pura y demostró que los cristales estaban formados por proteínas, a partir de extractos obtenidos de *Cannavalia enzyformis* (Fabaceae) la que hidroliza la urea según la siguiente reacción:

UREASA



-Entre 1930 y 1936 se aislaron en forma cristalina pura diversas enzimas quedando establecida de modo definitivo la naturaleza proteica de estos catalizadores biológicos. Desde entonces se han identificado varios miles de enzimas diferentes, habiéndose aislado muchos de ellos en forma cristalina. En 1930, Northrop aisló en forma cristalina las enzimas digestivas: pepsina, tripsina y quimotripsina. En la actualidad se conocen más de 2000 enzimas que han sido aisladas en forma cristalina.

-En el mismo período J.B.S. Haldane expuso la idea de que los enzimas establecen 3 interacciones débiles con el sustrato para distorsionarlo y catalizar así su transformación; esta idea resultó capital para el moderno conocimiento de la acción enzimática.

-En 1981 se descubrió que determinados tipos de RNA pueden catalizar su propia síntesis, hecho este que obligó a revisar algunas de las ideas preexistentes acerca de la naturaleza de los biocatalizadores.

En la actualidad se considera que, con la excepción de un reducido grupo de moléculas de RNA con propiedades catalíticas, *los enzimas son proteínas*, y como tales, exhiben todas las propiedades inherentes a este grupo de biomoléculas. Los pesos moleculares de las proteínas enzimáticas oscilan desde unos 12.000 daltons hasta más de un millón.

En muchos casos, las cadenas polipeptídicas de la proteína enzimática son suficientes para que ésta desarrolle su actividad catalítica. En otros, se hace necesaria la participación de un compuesto químico adicional, de naturaleza no proteica, denominado **cofactor**.

En términos generales los catalizadores se caracterizan por las siguientes propiedades:

- 1.- Son eficaces en pequeñas cantidades. Tienen un número de recambio alto, que varía entre 100 y 36 millones (Ej.: anhidrasa carbónica). El número de recambio o actividad molar, se define como la cantidad de sustrato transformado en la unidad de tiempo por una cantidad dada de enzima, por [ej.](#) la catalasa hidroliza $5,6 \cdot 10^6$ moléculas de H_2O_2 por molécula de enzima por minuto, por lo que su número de recambio es $5,6 \cdot 10^6$.
- 2.- No se alteran durante las reacciones en que participan.
- 3.- Aceleran el proceso para la obtención del equilibrio de una reacción reversible.
- 4.- Muestran especificidad. La acción de la enzima es extremadamente selectiva sobre un sustrato específico.

Las enzimas tienen pesos moleculares que oscilan entre 12.000 y un millón. Algunas enzimas son proteínas conjugadas; ya que poseen un grupo no

proteico o prostético, por Ej. Un azúcar - glucoproteínas, un lípido - lipoproteínas, un ácido nucléico - nucleoproteínas. Una enzima completa se denomina **holoenzima**, y está formada por una parte proteica (apoenzima) y un cofactor no proteico (coenzima).

HOLOENZIMA = APOENZIMA + COENZIMA

Entre los cofactores que requieren las enzimas para su funcionamiento están las coenzimas: NADPH+H(nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reducido), NAD(nicotinamida adenina dinucleotido), FAD(flavina adenina dinucleótido), piridoxal, biotina, tiamina, ácido tetra hidrofólico, cobalamina, etc. Así mismo, muchas enzimas requieren activadores metálicos, y he de allí la importancia de los minerales para el buen funcionamiento y crecimiento de las plantas.

Cuadro 1.- Activadores metálicos de enzimas

| Elemento | Enzima Activada |
|-------------------------------------|--|
| Zn ⁺⁺ | Deshidrogenasas, anhidrasa carbónica, ARN y ADN polimerasas. |
| Mg ⁺⁺ | Fosfohidrolasas, RUBISCO, fosfotransferasas, fosfatasas. |
| Mn ⁺⁺ | Arginasas, peptidasas, quinadas. |
| Mo | Nitratoreductasa, nitrogenasa. |
| Fe ²⁺ , Fe ³⁺ | Citocromos, catalasas, ferredoxina, peroxidadas, nitritoreductasa. |
| Cu ²⁺ | Citocromo oxidasa, tirosinasa, ácido ascórbico oxidasa, plastocianina |
| Ca ²⁺ | 1,3 b glucan sintetasa, calmodulina. |
| K ⁺ | Piruvato fosfoquinasa, ATPasa. |
| Co | Vitamina B ₁₂ hallada en microorganismos y animales, pero no en plantas. Importante en la fijación simbiótica de nitrógeno. |
| Ni | Ureasa. |

NOMENCLATURA

Antiguamente las enzimas fueron nombradas atendiendo al sustrato sobre el que actuaban, añadiéndole el sufijo **-asa** o haciendo referencia a la reacción catalizada.

Así tenemos que la ureasa, cataliza la hidrólisis de la urea para rendir CO₂ y NH₃; la **arginasa** cataliza la hidrólisis del aminoácido **arginina**; la **DNA polimerasa** cataliza la síntesis del **DNA**; la amilasa, la hidrólisis del almidón; la lipasa, la hidrólisis de lípidos; la ATPasa, la hidrólisis del ATP, etc.

Ej.:

| | | |
|-----------------------------|---|---------------------------------|
| ATP | + | |
| CREATINA | | ADP + FOSFOCREATINA |
| Nombre recomendado: | | CREATIN-KINASA |
| Nombre sistemático: | | ATP:CREATIN FOSFOTRANSFERASA |
| Número de clasificación: | | EC 2.7.3.2. |

El primer dígito (2) indica la **clase** a la que pertenece el enzima, en este caso la clase transferasas (ver tabla); el segundo dígito (7) indica la **subclase** (fosfotransferasas); el tercer dígito (3) la **sub-subclase** (fosfotransferasas con grupo nitrogenado como aceptor); el cuarto dígito (2) identifica inequívocamente al **enzima** en cuestión.

Sin embargo, a medida que el número de enzimas conocidos iba aumentando, este tipo de nomenclatura comenzó a revelarse poco operativa y en ocasiones ambigua, por lo que se ha adoptado una clasificación sistemática elaborada por una Comisión Internacional de Enzimas reunida a tal efecto. El nuevo sistema divide a los enzimas en seis **clases** principales, cada una de las cuales se divide a su vez en *subclases* y éstas en *sub-subclases* atendiendo al tipo de reacción catalizada. Cada enzima es designada de tres modos:

- 1) Un **nombre recomendado**, generalmente corto y apropiado para su uso habitual.
- 2) Un **nombre sistemático**, que identifica la reacción que cataliza.
- 3) Un **número de clasificación**, que se emplea cuando se precisa una identificación inequívoca del enzima. Veamos como ejemplo el del enzima que cataliza la siguiente reacción.

En el número de clasificación **EC** es la abreviatura de *Comisión de*

Enzimas: **CLASIFICACIÓN DE LAS ENZIMAS**

Debido al gran número de enzimas conocidas en la actualidad, se ha adoptado una clasificación y nomenclatura más sistemática, en la que cada enzima tiene un número de clasificación que la identifica.

1. **Oxidoreductasas.** Reacciones de transferencia de electrones.
2. **Transferasas.** Transferencia de grupos funcionales. Ej. UDP-glucosa-fructosa-glucotransferasa.

3. **Hidrolasas.** Reacciones de hidrólisis. Ej. lipasa, proteasa, celulasa.
4. **Liasas.** Adición a dobles enlaces. Ej. carboxilasa, fenilalanina amonioliasa.
5. **Isomerasas.** Reacciones de isomerización. Ej. fosfoglucosa isomerasa.
6. **Ligasas.** Se conocían como **sintetasas**. Participan en la formación de enlaces con hidrólisis de ATP.

ESTRUCTURA DE LAS ENZIMAS:

EL CENTRO ACTIVO

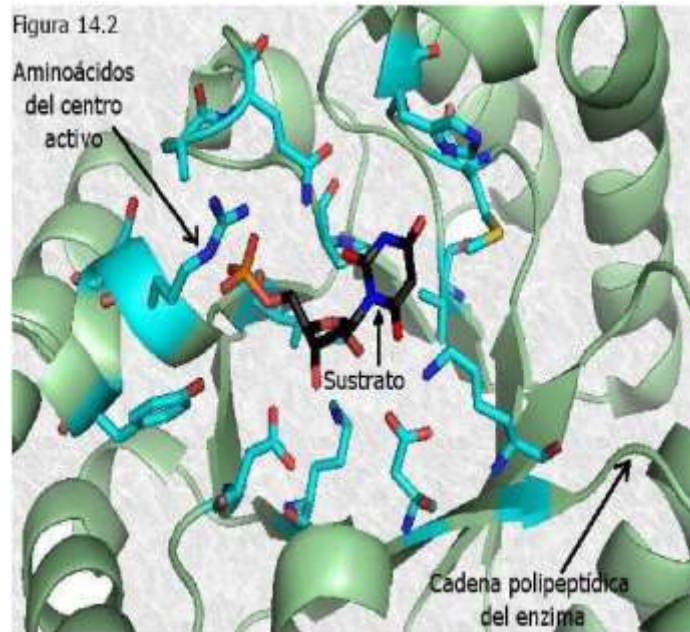


Figura 1. Centro activo de una enzima.

Las enzimas, en cuanto que proteínas, presentan todos los rasgos estructurales y propiedades químicas que caracterizan a esta notable clase de biomoléculas. En efecto, se ha podido comprobar que los enzimas pierden su actividad catalítica cuando sufren desnaturalización por efecto de los mismos agentes que afectan a las demás proteínas; la conformación tridimensional nativa intacta de la proteína enzimática resulta indispensable para que ésta desempeñe su función. Además, los enzimas, al igual que otras muchas clases de proteínas, presentan un **centro activo** a través del cual interactúan con la(s) molécula(s) de **ligando**, que en este caso recibe(n) el nombre de **sustrato(s)**, mediante un acoplamiento espacial (las superficies moleculares de ambos tienen formas complementarias) y químico (grupos funcionales complementarios del enzima y el (los) sustrato(s) establecen diferentes tipos de interacciones débiles entre sí). Tanto la actividad catalítica como el elevado grado de especificidad química que presentan los enzimas residen en esta interacción específica entre el enzima y su sustrato.

El **centro activo** es una cavidad existente en la superficie del enzima que está forrada interiormente por una serie de restos de aminoácidos. Por regla general los aminoácidos que forman parte del centro activo no se encuentran contiguos en la cadena polipeptídica, sino ocupando posiciones a veces muy alejadas en la misma. El hecho de que estos aminoácidos coincidan próximos entre sí sobre el centro activo no es más que una consecuencia del plegamiento característico de la cadena polipeptídica, es decir, de la conformación tridimensional nativa de la proteína enzimática. Puede resultar útil, aunque no siempre posible, distinguir entre los aminoácidos que **forman parte del centro activo dos categorías:**

- a) **Aminoácidos catalíticos.**- Son uno o más aminoácidos cuyas cadenas laterales R poseen unas peculiaridades químicas tales que los facultan para desarrollar una función catalítica. Constituyen el verdadero centro catalítico del enzima.
- b) **Aminoácidos de unión.**- Son una serie de aminoácidos cuyas cadenas laterales R poseen grupos funcionales que pueden establecer interacciones débiles (puentes de hidrógeno, interacciones iónicas, etc.) con grupos funcionales complementarios de la molécula de sustrato. Su función consiste en fijar la molécula de sustrato al centro activo en la posición adecuada para que los aminoácidos catalíticos puedan actuar.

En cuanto al resto de los aminoácidos de la cadena polipeptídica del enzima, los que no forman parte del centro activo, podría pensarse en principio que no desempeñan ninguna función, pero esto no es cierto; tienen la importante misión de mantener la conformación tridimensional catalíticamente activa del enzima; sin ella no existiría centro activo y el enzima no podría interactuar con su sustrato.

CATALISIS MOLECULAR

Un catalizador modifica la velocidad de una reacción química sin ser utilizado o aparecer como uno de los productos de la reacción. Una reacción química en la que un sustrato(S) se transforma en un producto (P): **S → P**, ocurre porque cierta fracción de moléculas de **S**, posee mucho más energía que el resto de ellas, lo que es suficiente para que alcancen un estado activado, en el que pueda formarse o romperse un enlace químico y se forme el producto **(P)**.

La energía de activación es la cantidad de energía expresada en calorías, necesaria para que todas las moléculas de un mol, a una temperatura dada alcancen el estado reactivo. Mientras que, el **estado de transición** es el estado rico en energía de las moléculas que interaccionan en la cima de la barrera de activación. La velocidad de una reacción química es proporcional a la concentración del complejo en el estado de transición en el que es muy fácil que se rompan o se formen uno o más enlaces químicos para formar los productos P.

Es frecuente confundir el **estado de transición** con un intermediario de reacción; sin embargo este *estado* no es ninguna especie química concreta,

sino que podría definirse con más exactitud como un "*momento molecular fugaz*", altamente inestable, en el que uno o más enlaces químicos están muy próximos a romperse o a formarse

Una reacción química se puede acelerar de la siguiente forma: 1) Al aumentar la temperatura se incrementa la energía cinética, por lo que es mayor el número de moléculas que alcanzan el estado de transición. Generalmente el $Q_{10} = 2$, lo que indica que la velocidad de una reacción química se duplica al aumentar la temperatura en 10°C . 2) Añadiendo un catalizador, que disminuye la energía de activación y aumenta la velocidad de reacción.

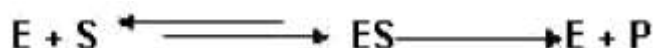
La velocidad de una reacción química es proporcional al número de moléculas por unidad de tiempo con energía suficiente para alcanzar el estado de transición. Este estado de transición posee una energía superior a la de los reactivos y a la de los productos constituyendo entre ellos una barrera energética que debe superarse para que la reacción tenga lugar. La diferencia entre la energía de los reactivos y la del estado de transición recibe el nombre de **energía libre de activación**.

Existen dos métodos generales mediante los cuales puede acelerarse la velocidad de una reacción química. Uno de ellos consiste en la elevación de la temperatura de modo que al incrementarse el movimiento térmico de las moléculas reaccionantes aumenta la fracción de moléculas que poseen energía suficiente para alcanzar el estado de transición.

El otro método consiste en usar un **catalizador**, sustancia que se combina de un modo transitorio con los reaccionantes de manera que éstos alcanzan un estado de transición de menor energía de activación; cuando se forman los productos se regenera el catalizador libre. Así, un catalizador es una sustancia que, sin consumirse en el proceso, aumenta la velocidad de una reacción química rebajando la barrera de energía de activación.

Es conveniente resaltar el hecho de que los catalizadores no alteran los equilibrios de las reacciones químicas, sólo consiguen que dichos equilibrios se alcancen más rápidamente de lo que lo harían en ausencia de catalizador.

La enzima (E), se combina con el sustrato (S) formando el complejo de transición, enzima-sustrato (E-S), mediante una reacción reversible, cuya energía de activación es menor que la de la reacción no catalizada. Cuando se forma el producto de la reacción (P), se regenera de nuevo la enzima (E) de forma libre, la que puede combinarse de nuevo con otra molécula de sustrato (S).



Una enzima reduce más eficientemente la energía de activación (**Ea**) de una reacción que un catalizador inorgánico, lo que permite que una reacción se realice a menor temperatura.

El siguiente ejemplo ilustra mejor lo que hemos discutido:

Cuadro 2. Reacción y energía de activación según catalizador

| Reacción | Energía de activación (Kcal*mol ⁻¹) |
|--|---|
| a) el peróxido de hidrógeno se descompone en: H ₂ O ₂ → H ₂ O + O ₂ | 18 |
| b) el hierro catalítico (Fe) realiza la reacción H ₂ O ₂ → H ₂ O + O ₂ | 13 |
| c) el platino catalítico (Pt) realiza la reacción : H ₂ O ₂ → H ₂ O + O ₂ | 12 |
| d) la catalasa una enzima hepática la realiza H ₂ O ₂ → H ₂ O + O ₂ | 5 |

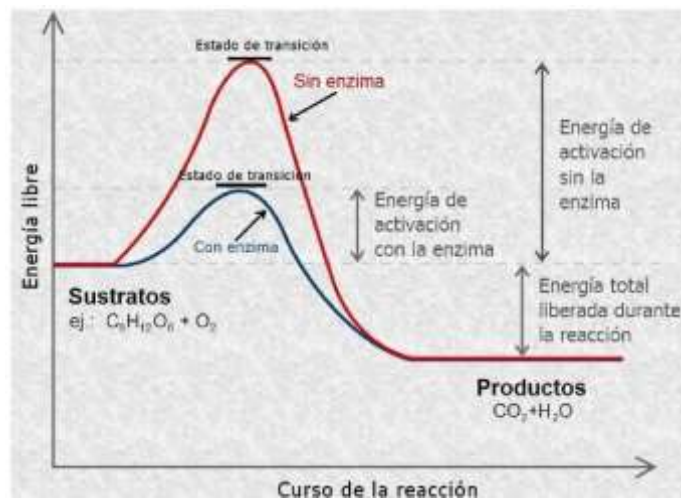


Figura 2. Una enzima no modifica la energía libre, ni la constante de equilibrio, sino que disminuye la energía de activación de la reacción.

EFEECTO DE LA CONCENTRACIÓN DEL SUBSTRATO SOBRE LA CATALISIS ENZIMATICA

Las enzimas actúan de acuerdo con los mismos principios generales que los demás catalizadores: aumentan la velocidad de las reacciones químicas combinándose transitoriamente con los reactivos de manera que estos alcanzan un *estado de transición* con una *energía de activación* menor que el de la reacción no catalizada. Hay que destacar sin embargo que los enzimas son mucho más eficaces que cualquier catalizador artificial conocido. Se ha podido comprobar que los aumentos de velocidad que producen son de entre 10^7 y 10^{14} veces la velocidad de la reacción no catalizada. La **actividad molecular** (número de moléculas de sustrato transformadas por una sola molécula de enzima por minuto) de distintos enzimas oscila entre unos pocos miles y varios millones de moléculas de sustrato por minuto. Cabe preguntarse pues, cómo consiguen los enzimas aumentos tan espectaculares en la velocidad de las reacciones químicas que catalizan.

Leonor Michaelis (1875-1949)



Maud Menten (1879-1960)



Figura 14.3

Figura 3 y 4. Leonor Michaelis (1875- 1949) y Maud Menten (1879-1960) pioneros de la enzimología.

Los métodos experimentales para conocer la actividad catalítica de los enzimas son cada vez más complejos y sofisticados. Sin embargo, el método más antiguo utilizado en enzimología, desarrollado por Leonor Michaelis y Maud Menten (Figura 5), y que en la actualidad sigue siendo de gran utilidad, consiste en analizar como varía la velocidad de las reacciones catalizadas enzimáticamente en función de algunos parámetros experimentales como la concentración del sustrato o la del propio enzima, lo que globalmente se conoce con el nombre de **cinética enzimática**.

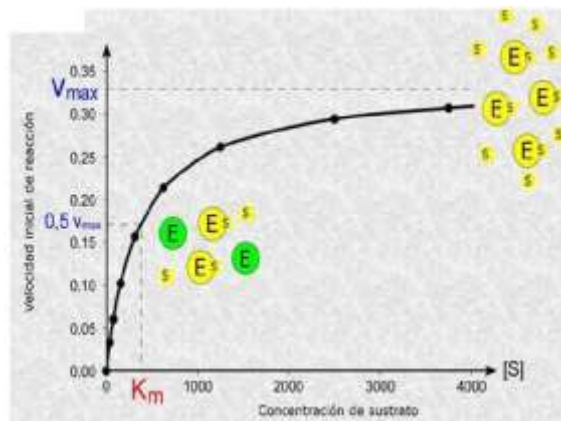


Figura 5. Cinética enzimática. Representa la saturación del enzima por el sustrato

La cinética de las reacciones catalizadas por enzimas muestra un rasgo característico que no se observa en las reacciones no enzimáticas: la

saturación del enzima por el sustrato (ver Figura 6). Cuando se mide la velocidad inicial de una reacción catalizada enzimáticamente se observa que para concentraciones de sustrato bajas la velocidad de reacción es proporcional a dicha concentración, como ocurre con carácter general para las reacciones no enzimáticas. A medida que la concentración de sustrato aumenta la velocidad de reacción deja de ser proporcional a ésta. Con un aumento posterior la velocidad de reacción llega a ser totalmente independiente de la concentración del sustrato y se aproxima asintóticamente a un valor máximo que es característico de cada enzima y que se conoce como **velocidad máxima**. Se dice entonces que el enzima se halla saturado por el sustrato. La concentración de sustrato a la cual la reacción alcanza la mitad de su velocidad máxima se conoce con el nombre de K_M (*constante de Michaelis-Menten*). K_M es un valor característico de cada enzima y constituye una medida de la actividad de una enzima se puede estudiar **in vitro**, bajo condiciones controladas añadiéndole una enzima a un sustrato. Si se trabaja con la condición de que la concentración del sustrato sea saturante, variando entonces la concentración de enzima, se observa que aumenta el producto de la reacción, a pH y temperatura constantes.

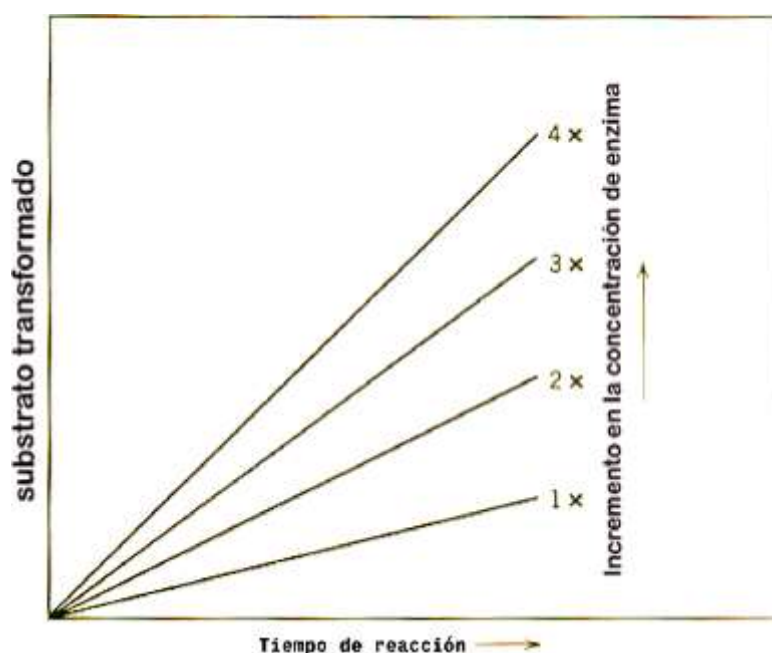


Figura 6. Representa el efecto de la concentración de enzima sobre la velocidad de reacción, según sustrato transformado por tiempo de reacción.

Si se mantiene la concentración de la enzima constante y variando la concentración de sustrato se obtiene una curva hiperbólica como la de la figura 5. Al principio un aumento de la concentración de sustrato produce un aumento rápido de la velocidad de reacción, pero si se sigue aumentando la concentración de sustrato, la velocidad de reacción comienza a disminuir y a muy altas concentraciones de sustrato se observa que no cambia la velocidad de reacción, se dice que los centros activos de la enzima se encuentran

saturados. La velocidad de reacción que se obtiene a esa alta concentración de sustrato se define como la velocidad máxima (V) de la reacción enzimática bajo las condiciones especificadas. La concentración de sustrato (S), a la semivelocidad máxima de reacción (V/2) se puede determinar de la figura y representa la constante de Michaelis o Km, la cual es una característica para cada enzima. La inversa de Km, o 1/Km, mide aproximadamente la afinidad de la enzima por el sustrato. Mientras más pequeño sea el valor de Km, mayor será la afinidad de la enzima por el sustrato. Si varias enzimas compiten en el metabolismo por el mismo sustrato, éste será transformado preferentemente por la enzima con mayor afinidad.

La ecuación de Michaelis describe la relación cuantitativa entre la velocidad de reacción y la concentración de sustrato [S], si se conoce Vmax o Km:

$$V = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]}$$

En donde v= es la velocidad de reacción observada a una concentración de sustrato determinada [S]

Km= constante de Michaelis en moles/lítro

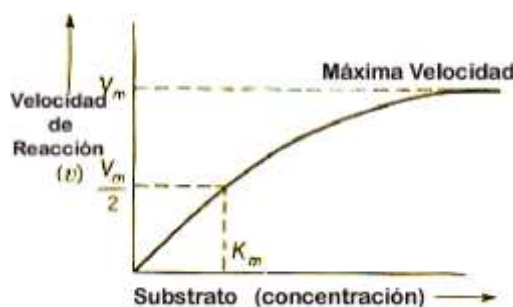


Figura 7. Representa el efecto de la velocidad de reacción según concentración del sustrato

Vmax= velocidad máxima a concentración saturante de sustrato.

$$\frac{V_{max}}{2} = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]}$$

Si v= Vmax/2; entonces:

$$K_m + [S] = 2[S]$$

$$K_m = [S]$$

De tal forma que podemos concluir que Km es igual a la concentración de sustrato a la semivelocidad máxima de reacción.

REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LINEWEAVER Y BURK

Si se toma el inverso en ambas miembros de la ecuación de Michaelis

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

tenemos:

Que es la ecuación de una línea recta, cuya pendiente es _____, que intercepta al eje de las ordenadas en _____ la abscisa en el punto $-\frac{1}{K_m}$. Lo que es evidente al hacer $\frac{1}{v} = 0$, ya que se convierte en $\frac{1}{S} = -\frac{1}{K_m}$.

Si se hace una gráfica con los dobles inversos, colocando los valores de $\frac{1}{v}$ en el eje de las ordenadas y $\frac{1}{[S]}$ en el eje de las abscisas, se obtiene una línea recta a partir de la cual se puede calcular fácilmente K_m .

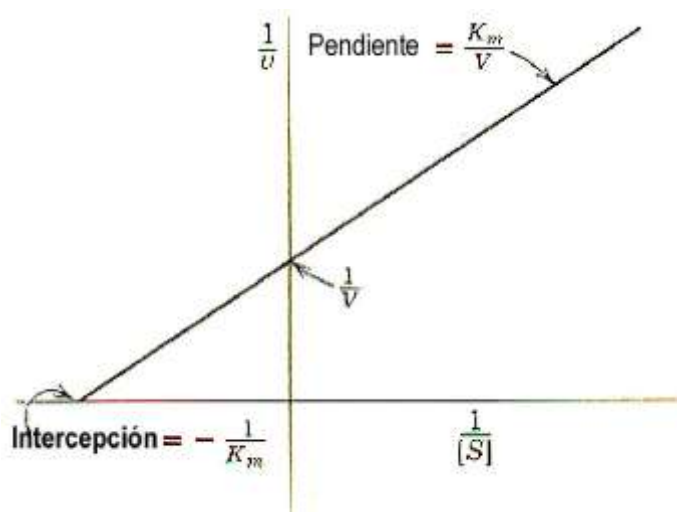


Figura 8. Gráfico de Lineweaver-Burk. La afinidad del enzima por el sustrato: valores bajos de K_m indican una alta afinidad mientras que valores altos representan una baja afinidad.

El enzima, una vez liberado, puede combinarse con una nueva molécula de sustrato para formar un nuevo *complejo enzima-sustrato* cerrándose así el **ciclo catalítico** del enzima. De este modo, una sola molécula de enzima puede transformar en producto, en sucesivos ciclos catalíticos, a un elevado número de moléculas de sustrato, lo que contribuiría a explicar la gran eficacia catalítica que exhiben estas biomoléculas.

La hipótesis del *complejo enzima-sustrato* explica de modo satisfactorio el efecto de saturación del enzima por el sustrato observado en los estudios de cinética enzimática: cuando la concentración de sustrato es muy superior a la concentración del enzima en el medio de reacción, todos los centros activos de las moléculas de enzima se hallan ocupados en un momento dado por moléculas de sustrato, con lo que aumentos posteriores de la concentración de éste no se traducen en aumentos en la velocidad de reacción.

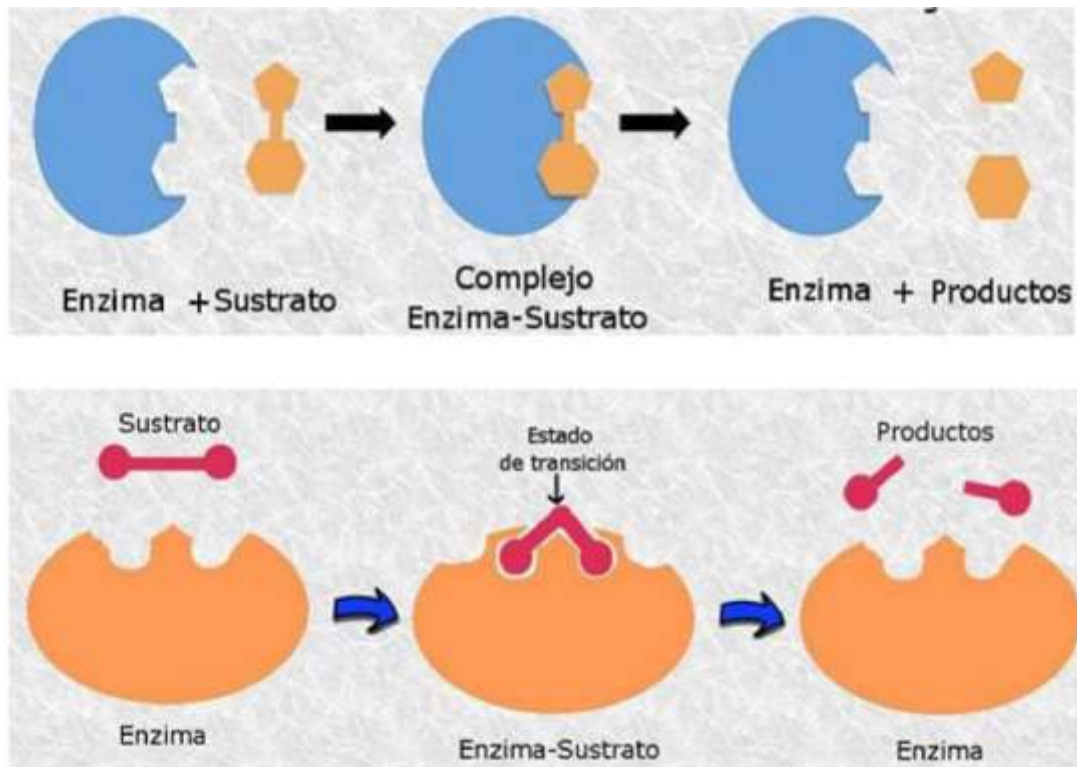


Figura 9. Complejos enzima – sustrato.

La idea de que el enzima se combina transitoriamente con el sustrato para formar un complejo enzima-sustrato en el cual se alcanza más fácilmente el estado de transición de la reacción catalizada es la piedra angular de todas las explicaciones acerca del fenómeno de la catálisis enzimática. Sin embargo, esta idea no termina de explicar en su totalidad dicho fenómeno; ciertamente, responde a la pregunta de *¿qué hacen los enzimas?* pero deja sin contestar otra pregunta esencial: *¿cómo lo hacen?*

Una forma interesante de abordar este problema consiste en preguntarse de donde procede la energía necesaria para provocar los considerables descensos en la *energía de activación* asociados con las reacciones químicas enzimáticamente catalizadas. Si nos atenemos a las leyes termodinámicas, la cuantía de tales descensos debe ser energéticamente "pagada" de alguna manera, ya que la energía "no se crea ni se destruye".

La respuesta a esta pregunta reside en la propia naturaleza de la interacción entre el enzima y el sustrato y en el concepto de **energía de fijación**. Como ya se apuntó anteriormente, la unión entre un enzima y su sustrato para formar el complejo enzima-sustrato se ve favorecida por la formación de una serie de interacciones débiles (puentes de hidrógeno, interacciones iónicas, etc) entre grupos funcionales complementarios de ambas moléculas. La formación de cada una de estas interacciones débiles va acompañada por la liberación de una pequeña cantidad de energía libre que contribuye a estabilizar el complejo. La suma de todas estas pequeñas cantidades de energía liberadas por la totalidad de las interacciones débiles formadas representa la *energía de fijación*. El papel que juega esta energía en la catálisis enzimática es de una importancia extraordinaria: *la energía de fijación no se limita a producir una*

estabilización del complejo enzima-sustrato, sino que constituye la principal fuente de energía libre que los enzimas utilizan para rebajar la barrera de energía de activación y con ello aumentar la velocidad de la reacción catalizada.

Prosiguiendo con nuestro análisis sobre la naturaleza de la actividad catalítica de los enzimas trataremos ahora de averiguar de qué manera utilizan los enzimas la energía de fijación para producir catálisis. En primer lugar, el enzima puede fijar a las moléculas reaccionantes (sustratos) de manera que queden muy *próximas* entre sí sobre el centro activo y a su vez próximos a eventuales grupos catalíticos del propio enzima.

En segundo lugar, el enzima fija a las moléculas reaccionantes de manera que quedan no sólo próximas entre sí, sino *orientadas* en la relación geométrica más favorable para que la reacción tenga lugar, es decir, con sus grupos funcionales reaccionantes enfrentados. Las colisiones al azar de moléculas reaccionantes en el medio de reacción son extremadamente improbables, y aún en el caso de producirse, la orientación de los grupos funcionales reaccionantes no será la más favorable en la mayor parte de los casos. Sin embargo, el centro activo del enzima, al fijar a los sustratos de manera energéticamente favorable mediante interacciones débiles, y al hacerlo con una orientación precisa, proporciona a éstos un "lugar de encuentro" idóneo para que se lleve a cabo la reacción.

La combinación de los factores de *proximidad y orientación* favorable de los sustratos sobre el centro activo explica por sí misma los incrementos de velocidad observados en algunas reacciones catalizadas enzimáticamente. Sin embargo, los enzimas todavía pueden utilizar la energía de fijación de un modo adicional para producir catálisis, a saber, provocando en la(s) molécula(s) de sustrato una *distorsión* favorable para que se alcance con prontitud el *estado de transición*.) ¿Cómo consiguen los enzimas provocar tal distorsión en su(s) sustrato(s)? Para contestar a esta pregunta es necesario revisar algunos conceptos que hasta ahora hemos tratado de una manera quizás excesivamente dogmática.

La elegante idea de que dos moléculas con superficies complementarias "encajan" tal y como lo harían "una llave y una cerradura" ha resultado extraordinariamente útil a la hora de explicar muchos procesos bioquímicos; sin embargo, esta idea puede resultar en cierto modo engañosa cuando se aplica a la catálisis enzimática. Un enzima que fuese *exactamente* complementario con su sustrato sería con toda probabilidad un pésimo enzima, puesto que *estabilizaría* al sustrato en lugar de inducir su transformación. Dicho de otro modo, el descenso de energía libre que acompañaría a la formación del complejo enzima-sustrato, gracias a la formación de múltiples interacciones débiles entre ambos, sumiría a éste en una especie de "pozo" energético del que le sería muy difícil salir. Este tipo de consideraciones teóricas, apoyadas en muchos casos por resultados experimentales, han conducido a los investigadores de la catálisis enzimática a afirmar que *los enzimas no son exactamente complementarios con sus sustratos sino más bien con las*

especies del estado de transición, es decir, las interacciones débiles que se forman entre el enzima y su sustrato son óptimas en el estado de transición.

Cuando el sustrato penetra en el centro activo del enzima se forman *algunas* interacciones débiles entre ambos; a partir de este momento, cualquier distorsión del sustrato tendente a alcanzar el estado de transición se verá acompañada por el establecimiento de interacciones débiles *adicionales* energéticamente favorables. Así, el coste energético que supone llevar al sustrato al estado de transición es "pagado" gracias al descenso de energía libre asociado con el establecimiento de dichas interacciones débiles. Una vez más, el concepto de *energía de fijación* resulta crucial para entender cómo los enzimas rebajan la barrera de energía de activación para aumentar la velocidad de una reacción química.

Es conveniente resaltar el hecho de que la distorsión del sustrato a la que hemos hecho referencia no es sólo estructural, es decir, no afecta sólo a la forma de la molécula, ángulos o distancias de enlace, sino también electrónica: la formación de interacciones débiles puede provocar cambios en la distribución global de la carga eléctrica, aparición de cargas parciales donde antes no las había, etc.

La energía de fijación del sustrato al centro activo todavía puede suponer una fuente adicional de poder catalítico. La optimización de las interacciones débiles entre el sustrato y el enzima puede conducir no sólo a una distorsión estructural y electrónica del sustrato, sino también a una alteración en la conformación de la proteína enzimática. Tal alteración conformacional, conocida como *encaje inducido*, puede conllevar una aproximación de grupos catalíticos esenciales del enzima a los grupos funcionales del sustrato susceptibles de reaccionar, con lo que las propiedades catalíticas del enzima se habrán visto incrementadas. La vieja y en exceso rígida imagen de la "llave y la cerradura" para describir la interacción específica entre el sustrato y el centro activo del enzima, ha sido sustituida por una más flexible en la que dicha interacción se contempla más bien como la que tiene lugar entre "una mano y un guante", reflejando así el ajuste mutuo que tiene lugar entre ambos objetos.

El importante papel que juega la energía de fijación en la catálisis enzimática da respuesta, por añadidura, a otra vieja pregunta que se formulaban los primeros investigadores de la naturaleza y acción de los enzimas: ¿Por qué los enzimas han de ser tan grandes con respecto a sus sustratos?

En efecto: si la energía de fijación es la principal fuente de poder catalítico, el enzima debe ofrecer el mayor número posible de grupos funcionales capaces de establecer interacciones débiles con el sustrato, con el consiguiente aumento en el tamaño de la proteína enzimática.

Hasta aquí hemos podido comprobar que los enzimas utilizan con gran eficacia la energía de fijación como fuente principal de energía libre para producir catálisis. En muchos casos esta energía utilizada tal y como se ha descrito es suficiente para explicar los espectaculares aumentos en las velocidades de reacción que los enzimas son capaces de producir.

No obstante, una vez fijado el sustrato, el enzima puede recurrir a formas adicionales de catálisis que no están basadas en la energía de fijación sino en el poder catalítico que poseen en sí mismos determinados grupos funcionales del centro activo. Estos grupos funcionales residen en los que hemos llamado anteriormente *aminoácidos catalíticos* y es su propia naturaleza química la que les permite funcionar como catalizadores. Aunque son múltiples los mecanismos según los cuales actúan estos grupos catalíticos, en general se pueden encuadrar en alguna de las dos siguientes modalidades:

a) *Catálisis covalente*.- Algunos enzimas se pueden combinar con el sustrato, a través de un grupo catalítico, para formar un intermediario covalente inestable que se descompone con facilidad para formar los productos.

b) *Catálisis ácido-base*.- La velocidad de algunas reacciones químicas se ve incrementada por la presencia de ácidos o bases en el medio de reacción. En estos casos, al proporcionar grupos funcionales capaces de actuar como dadores o aceptores de protones (carboxilo, amino, etc.), el enzima puede efectuar una catálisis general ácido-básica.

Los diferentes mecanismos que los enzimas ponen en juego para acelerar las reacciones químicas, unos basados en la energía de fijación, otros en la acción de grupos catalíticos específicos, no son mutuamente excluyentes. Cada enzima particular recurre a una determinada combinación de los diferentes mecanismos estudiados en la que pueden estar presentes todos o tan sólo algunos de ellos; la contribución específica que cada mecanismo aporta al hecho catalítico también es diferente según de qué enzima se trate. Todo parece indicar que, como regla general, los mecanismos basados en la energía de fijación son responsables en mayor medida de los aumentos en la velocidad de reacción que los basados en grupos catalíticos específicos (catálisis covalente y ácido-base)

ESPECIFICIDAD DE LOS ENZIMAS

Los enzimas, además de ser unos catalizadores muy eficaces, presentan un alto grado de **especificidad** química, es decir, *son capaces de inducir la transformación de un sólo tipo de moléculas y no de otros que también se encuentran presentes en el medio de reacción*. Un enzima es capaz de *discriminar* entre dos sustancias que potencialmente podrían actuar como sustratos.

Como ya se apuntó anteriormente, la relación que existe entre el enzima y su sustrato es un caso particular de un fenómeno más amplio: la relación entre las proteínas y sus respectivos ligandos.

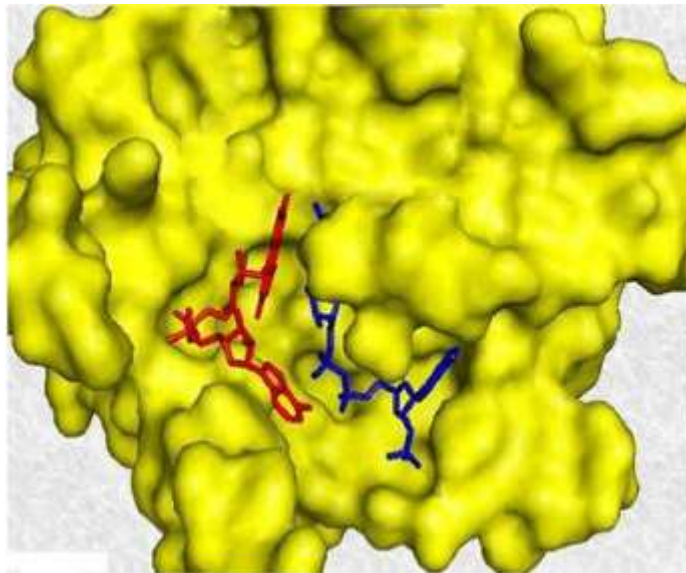


Figura 10. Especificidad de los enzimas.

Aunque hemos introducido alguna salvedad sobre el particular (el enzima no es exactamente complementario con el sustrato sino más bien con el estado de transición), podemos afirmar que entre el enzima y su sustrato se da un acoplamiento espacial (el sustrato "encaja" en el centro activo del enzima) y químico (ambos poseen grupos funcionales que pueden establecer interacciones débiles entre sí). La especificidad de los enzimas reside en esta *complementariedad estructural*. Así, aquellos potenciales sustratos que, por falta de acoplamiento espacial y/o químico, no puedan acceder al centro activo del enzima, no podrán ser transformados por él. Por otra parte, es necesario tener en cuenta que, en muchos casos, no es la totalidad de la molécula de sustrato, sino solamente una parte de ella, denominada *grupo determinante de la posición*, la que se acopla espacial y químicamente con el centro activo (ver Figura 10).

La importancia de las interacciones débiles entre grupos funcionales complementarios del sustrato y del centro activo en la determinación de la especificidad de los enzimas debe hacernos reflexionar sobre un hecho crucial: *la energía de fijación*, que como hemos visto es la principal fuente de energía libre para la catálisis, *proporciona también especificidad*. *Catálisis y especificidad* son dos propiedades de los enzimas que, aunque conceptualmente se distinguen con facilidad, responden en realidad a un mismo fenómeno: la interacción *energéticamente favorable* entre el enzima y el sustrato.

Aunque los enzimas son en general muy específicos comparados con cualquier catalizador artificial, su grado de especificidad resulta ser muy variado. Existen enzimas con una especificidad muy estricta que sólo reconocen a un sustrato determinado y no inducen la transformación de otras moléculas aunque estén

estructuralmente muy relacionadas con él; algunos enzimas incluso son capaces de distinguir entre formas estereoisómeras de una misma sustancia (por ejemplo la lactato-deshidrogenasa sólo es capaz de deshidrogenar al estereoisómero L del ácido láctico). En el otro extremo del espectro de especificidades se encuentran enzimas con una especificidad relativamente amplia: pueden inducir la transformación de toda una serie de sustratos que presentan determinado rasgo estructural común (por ejemplo la fosfatasa alcalina induce la hidrólisis de diferentes ésteres del ácido fosfórico). Existen entre ambos extremos todos los grados de especificidad imaginables.

ESPECIFICIDAD RELATIVA

Oxígeno

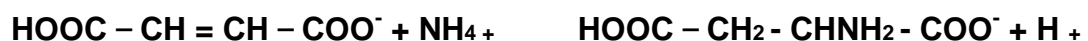
L-aminoácido α -cetoácido + NH_3 + H_2O_2 . L-
aminoácido oxidasa

Oxígeno

D-aminoácido _____ α -cetoácido + NH_3 + H_2O_2
D-aminoácido oxidasa

En este ejemplo se muestra la estereo-especificidad. Una enzima puede tener una especificidad óptica para isómeros D o L.

Hay enzimas que muestran especificidad absoluta como la aspartasa, que cataliza la adición reversible de amoníaco al doble enlace del ácido fumárico, pero no al de otros ácidos insaturados.



INHIBICIÓN ENZIMÁTICA

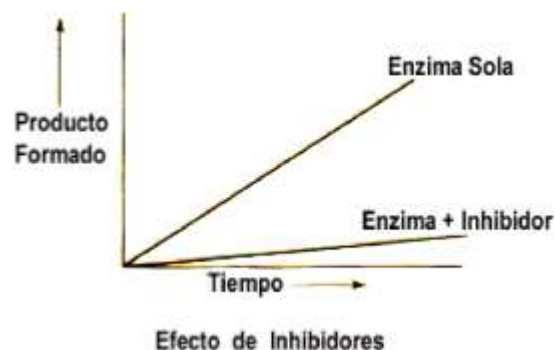


Figura 11. Efectos de inhibidores.

Mediante el uso de inhibidores enzimáticos se ha obtenido información muy valiosa sobre la conformación del centro activo de algunas enzimas.

Existen una serie de sustancias, llamadas **inhibidores**, que inhiben o anulan la acción de los enzimas sin ser transformados por ellos. Su estudio resulta de gran utilidad a la hora de comprender los mecanismos de catálisis, la especificidad de los enzimas y otros aspectos de la actividad enzimática.

La inhibición enzimática puede ser irreversible o reversible, esta última comprende a su vez tres tipos: inhibición competitiva, acompetitiva y no competitiva.

a) Inhibición irreversible:

Algunos inhibidores se combinan **de modo permanente** con el enzima uniéndose covalentemente a algún grupo funcional esencial para la catálisis con lo que el enzima queda inactivado irreversiblemente. El estudio de este tipo de inhibidores ha resultado de gran utilidad para identificar los grupos funcionales esenciales para la catálisis en aquellos enzimas a los que inactivan.

Este tipo de inhibición se conoce también como "envenenamiento" del enzima. Por ejemplo algunos compuestos organofosforados tóxicos llamados venenos nerviosos. Este tipo de inhibidores forman un enlace covalente con las enzimas cerca del centro activo. Un ejemplo son los gases nerviosos, como el fluorofosfato de diisopropilo (DFP) que se utilizan como insecticidas, que forma un complejo con la enzima acetilcolinesterasa, provoca envenenamiento en los animales, con este gas quedan paralizados, debido a la imposibilidad de transmitir adecuadamente los impulsos nerviosos. Actúa inhibiendo irreversiblemente al enzima **acetilcolinesterasa**, la cual interviene en la actividad del sistema nervioso. Se sabe que estos compuestos organofosforados inactivan al enzima formando un enlace éster fosfórico con el grupo hidroxilo de un determinado resto del aminoácido serina, lo que demuestra que ese grupo funcional es esencial para la catálisis.

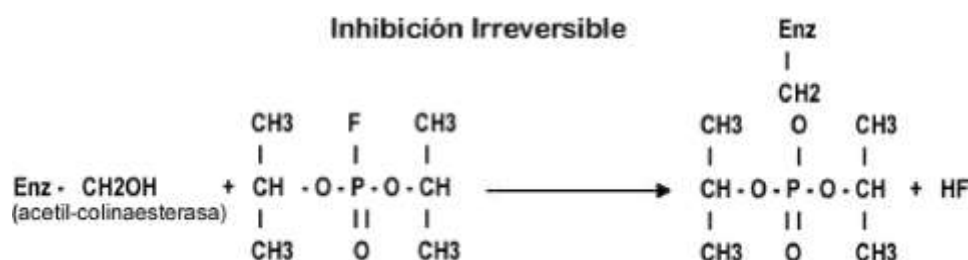


Figura 12. Ester di-isopropil fosfórico de la enzima

(inactivo). **INHIBICIÓN REVERSIBLE.**

Los inhibidores reversibles se combinan **transitoriamente** con el enzima, de manera parecida a como lo hacen los propios sustratos. Algunos inhibidores reversibles no se combinan con el enzima libre sino con el complejo enzima-sustrato.

Se distinguen tres tipos de inhibición reversible:

a) Inhibición competitiva: Es cuando el inhibidor compite con el sustrato por la unión con el centro activo de la enzima. Este tipo de inhibición puede reducirse si se aumenta la concentración de sustrato.

El inhibidor es una molécula que presenta un cierto parecido estructural con el sustrato, de manera que puede **competir** con él por acceder al centro activo, pero que no posee ningún enlace susceptible de ser atacado por el enzima (Figura 13). El inhibidor forma con el enzima libre un complejo enzima-inhibidor de características cinéticas análogas a las del complejo enzima-sustrato, pero que, lógicamente, no puede descomponerse a continuación para dar lugar al enzima libre y a los productos:

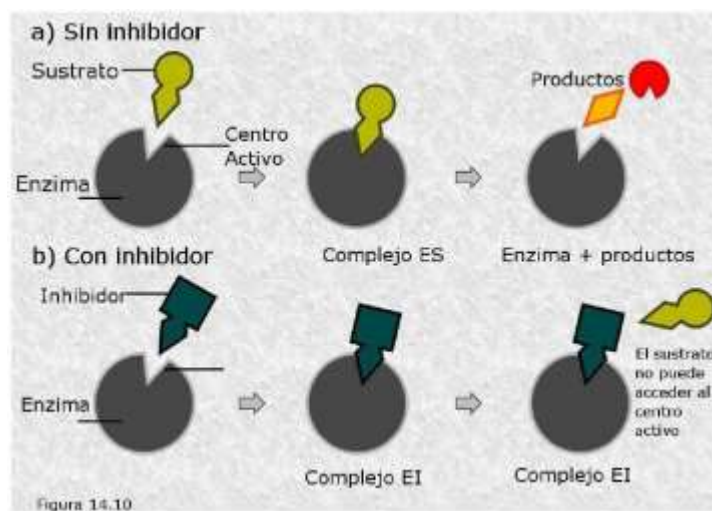
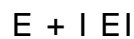
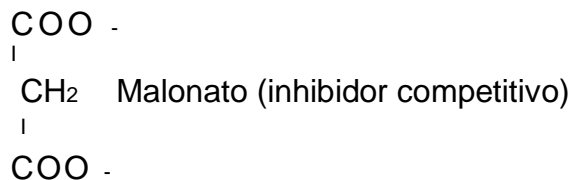
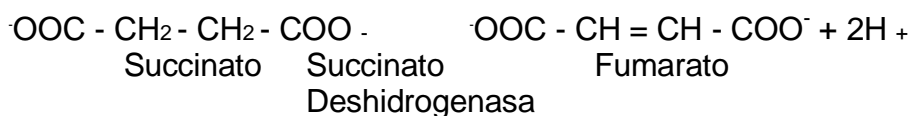


Figura 13. Ejemplo enzimas sin inhibidor y con inhibidor.

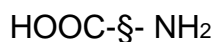
Ej.:



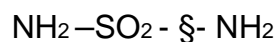
En la inhibición competitiva la enzima se combina con el inhibidor para formar un complejo enzima-inhibidor.



La sulfanilamida (bactericida) interfiere con la síntesis del ácido fólico compitiendo con el ácido p-aminobenzoico, de una forma competitiva.



ácido p- amino benzoico



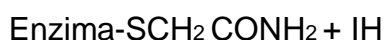
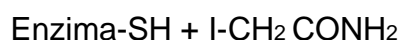
Sulfanilamida

ξ = fenil

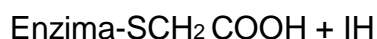
b) Inhibición no competitiva.

Esta inhibición se caracteriza por que no se puede revertir el efecto del inhibidor, aumentando la concentración del sustrato.

Por ejemplo la inhibición de la deshidrogenasa del gliceraldehido-3-fosfato por la yodo-acetamida:



La deshidrogenasa del gliceraldehido-3 fosfato puede ser inhibida también por el ácido iodo-acético:



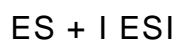
c) Inhibición por metales.

Ciertos metales como el plomo, mercurio y arsénico inhiben enzimas que tienen en su centro activo grupos -SH libres.

INHIBICIÓN INCOMPETITIVA.

El inhibidor no se combina con el enzima libre ni afecta a su unión al sustrato, sino que lo hace con el complejo enzima-sustrato dando lugar a un complejo inactivo enzima-sustrato-inhibidor, que no se descompone posteriormente para dar lugar a los productos (Figura 14).

El inhibidor se coloca próximo al centro activo situado de tal manera que impide físicamente la salida de los productos:



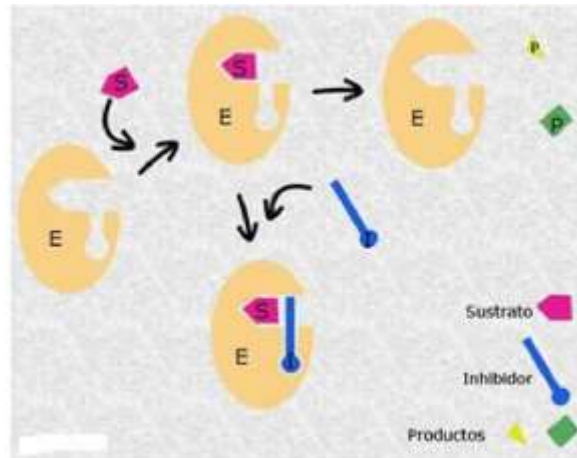


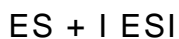
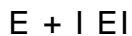
Figura 14. Inhibición incompetitiva.

Inhibición no competitiva

El inhibidor puede combinarse con el enzima libre o bien con el complejo enzima-sustrato, interfiriendo en la acción de ambos (Figura 15).

Los inhibidores no competitivos se unen a un lugar del enzima diferente del centro activo provocando en él una alteración que dificulta bien la formación del complejo enzima-sustrato o bien la descomposición de éste para dar lugar a los productos.

La unión con el inhibidor produce dos formas inactivas: los complejos EI y ESI, ninguna de las cuales puede descomponerse para dar lugar a los productos y al enzima libre:



Aunque podría pensarse que los distintos tipos de inhibición estudiados pueden desempeñar algún papel en la regulación de la actividad enzimática, todo parece indicar que no es así; la regulación de la actividad enzimática se lleva a cabo mediante mecanismos que no se ajustan a ninguno de los modelos de inhibición estudiados y que se describirán en el próximo apartado.

El interés del estudio de la inhibición enzimática reside más en su utilidad para comprender la estructura, mecanismos catalíticos y especificidad de los enzimas, que en una importancia biológica real.

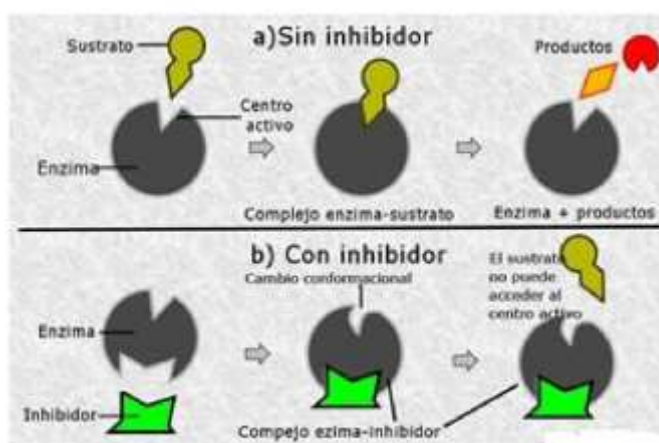


Figura 15. Inhibición no competitiva

FACTORES QUE AFECTAN A LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA.

Diferentes factores ambientales pueden afectar a la actividad enzimática. Destacaremos dos: el pH y la temperatura.

pH

La mayoría de los enzimas presentan un **pH óptimo** para el cual su actividad es máxima; por encima o por debajo de ese pH la actividad disminuye bruscamente. Este efecto se debe a que, al ser los enzimas de naturaleza proteica, al igual que otras proteínas, se desnaturalizan y pierden su actividad si el pH varía más allá de unos límites estrechos. De ahí la conocida importancia biológica de los sistemas tampón.

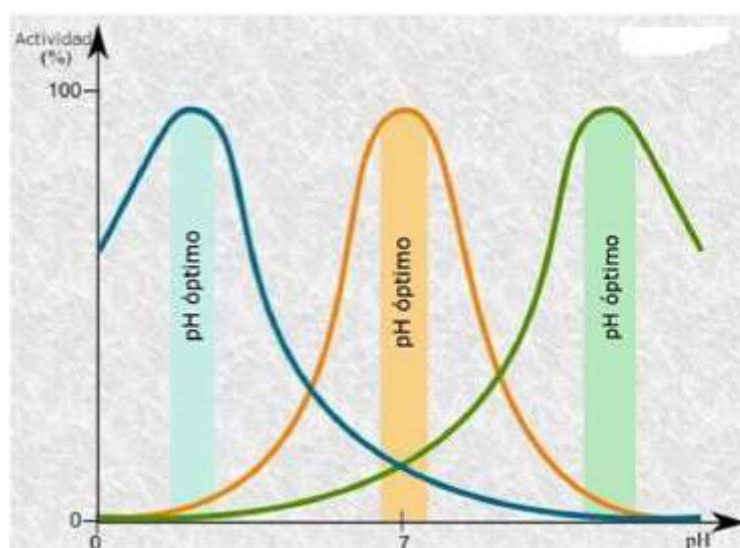
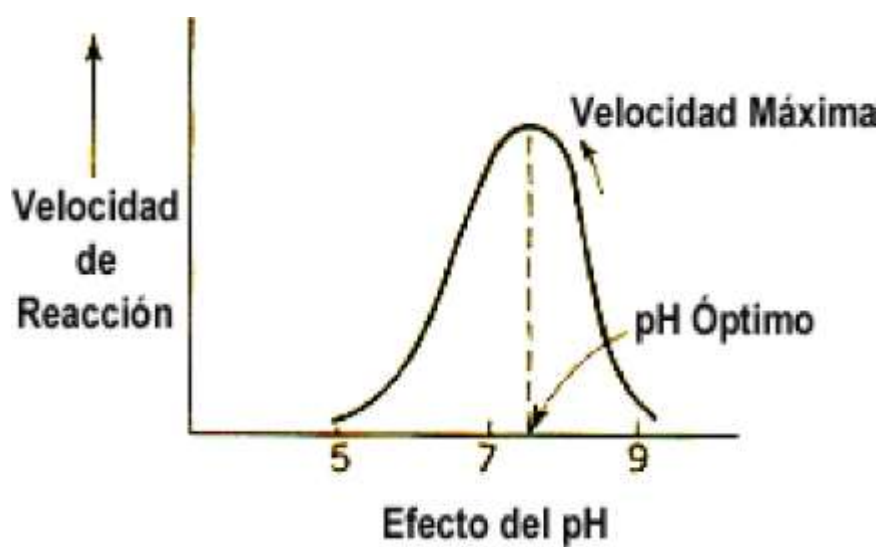
En la mayor parte de los casos el pH óptimo está próximo a la neutralidad, en consonancia con el pH intracelular, pero existen enzimas con pH óptimo muy diverso según sea el pH del medio en el que habitualmente actúan (los enzimas proteolíticos del jugo gástrico tienen pHs óptimos próximos a 2 ya que este es el pH de dicho jugo). Por último existen algunos enzimas a los que el pH no afecta en absoluto.

Sabiendo que las enzimas son proteínas, cualquier cambio brusco de pH puede alterar el carácter iónico de los grupos amino y carboxilo en la superficie proteica, afectando así las propiedades catalíticas de una enzima. A pH alto o bajo se puede producir la desnaturalización de la enzima y en consecuencia su inactivación. La fosfatasa ácida es más activa a pH 5,0, mientras que la fosfatasa alcalina lo es a pH 9,0. Muchas enzimas tienen máxima actividad cerca de la neutralidad en un rango de pH de 6 a 8.

El pH **per se** no afecta la actividad enzimática, sino la concentración de protones. Los protones además de alterar la estructura de la enzima y el sustrato, pueden participar también en la reacción como sustrato o producto. En esos casos, la concentración de protones afecta directamente la velocidad de la reacción.

Cuadro 3. PH óptimo para diferentes enzimas.

| ENZIMA | pH OPTIMO |
|--------------|-----------|
| Pepsina | 1,5 |
| Tripsina | 7,7 |
| Catalasa | 7,6 |
| Arginasa | 9,7 |
| Fumarasa | 7,8 |
| Ribonucleasa | 7,8 |

**Figura 16.** pH óptimo de algunas enzimas.**Figura 17.** Representa la velocidad máxima de reacción a pH óptimo.

TEMPERATURA

Al igual que ocurre con la mayoría de las reacciones químicas, la velocidad de las reacciones catalizadas por enzimas se incrementa con la temperatura. La variación de la actividad enzimática con la temperatura es diferente de unos enzimas a otros en función de la barrera de energía de activación de la reacción catalizada. Sin embargo, a diferencia de lo que ocurre en otras reacciones químicas, en las reacciones catalizadas por enzimas se produce un brusco descenso de la actividad cuando se alcanza una temperatura crítica. Este efecto no es más que un reflejo de la desnaturalización térmica del enzima cuando se alcanza dicha temperatura. Si representamos gráficamente la variación de la actividad de los enzimas en función de la temperatura (ver Figura 18) da la impresión de que existe una temperatura "óptima" análoga al pH óptimo estudiado anteriormente; hay que resaltar que esa aparente temperatura óptima no es más que el resultado de dos procesos contrapuestos: 1) el incremento habitual de la velocidad de reacción con la temperatura y 2) la desnaturalización térmica del enzima.

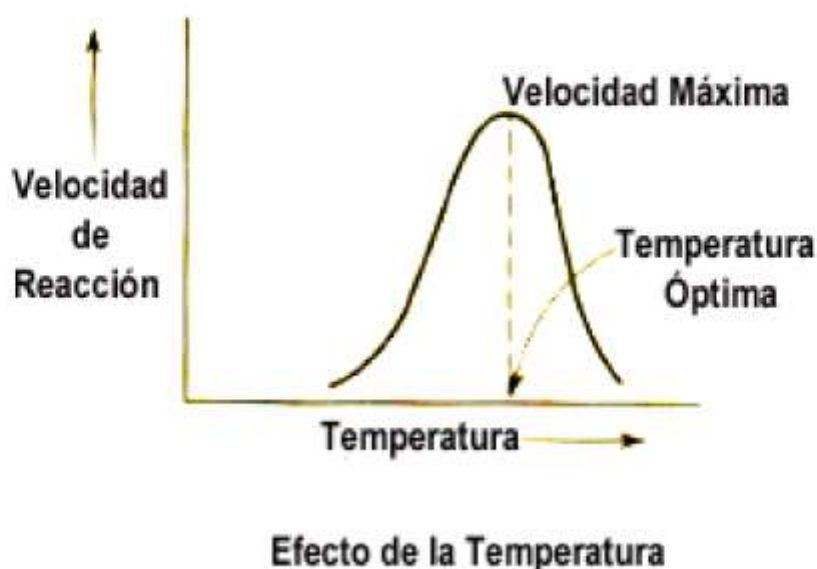


Figura 18. Velocidad máxima de reacción a temperatura óptima.

Las enzimas de muchos mamíferos tienen una temperatura óptima de 37°C , por encima de esa temperatura comienzan a inactivarse y se destruyen. Sin embargo, existen especies de bacterias y algas que habitan en fuentes de aguas termales y en el otro extremo ciertas bacterias árticas tienen temperaturas óptimas cercanas a 0°C .

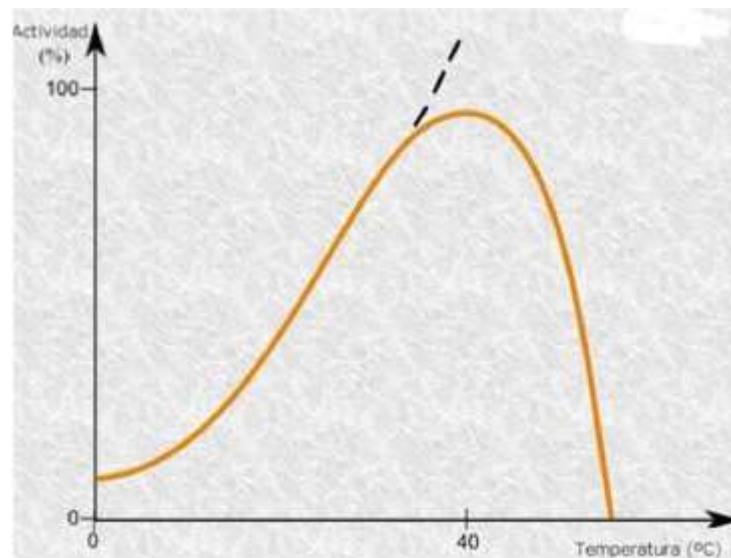


Figura 19. Un aumento en la temperatura provoca un aumento de la velocidad de reacción hasta cierta temperatura óptima, ya que después de aproximadamente 45° C se comienza a producir la desnaturalización térmica.

ESPECIFICIDAD ABSOLUTA

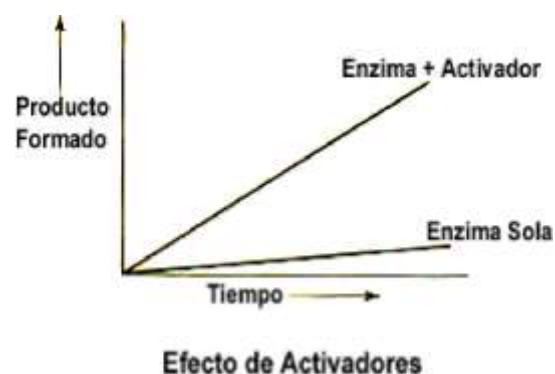


Figura 20. Producto formado según enzima + activador.

Ciertas enzimas se encuentran como apoenzimas o zimógenos que son inactivos.

El tripsinógeno es convertido en tripsina por la misma acción de la tripsina, que remueve un hexapéptido.

Tripsina + Tripsinógeno \rightarrow Tripsina + Val (Asp)₄ lisina

Otra forma de activación consiste en mantener los grupos SH reducidos. Estos grupos pueden formar parte de centros activos de ciertas enzimas. Si se oxidan

estos grupos a -S-S- la enzima se inactiva. Así tenemos que la enzima papaina, se inactiva después de exponerla al oxígeno; pero cuando se le añade un reductor apropiado la enzima se reactiva. Los grupos -S-S- se convierten en -SH, activándose la enzima.

Otra forma de activación requiere la presencia de otra substancia que se enlaza al sitio alostérico, el compuesto que se enlaza se denomina un *efector alostérico*. El centro alostérico es bien específico para el *efector o modulador alostérico*.

ENZIMAS REGULADORES.

La célula es una máquina química que debe ser capaz de autoajustarse o regular su propio funcionamiento para no desperdiciar tiempo ni energía en realizar procesos que no le son útiles en un momento dado, siguiendo así un principio de máxima economía molecular. Este autoajuste se lleva a cabo a varios niveles entre los que destaca la regulación de la propia actividad enzimática.

Todos los enzimas presentan propiedades que los hacen candidatos a constituir elementos reguladores del metabolismo. Estas propiedades son su sensibilidad a los cambios de pH, a la concentración del sustrato o a la concentración de otras sustancias accesorias que denominaremos cofactores.

Sin embargo, existen una serie de enzimas que, además de estas propiedades comunes a todos ellos, poseen otras que les confieren un papel específicamente regulador del metabolismo: son los **enzimas reguladores**. Existen dos tipos principales de enzimas reguladores: los **enzimas alostéricos** y los **enzimas modulados covalentemente**.

Ambos tipos son responsables de alteraciones en el estado metabólico de las células en intervalos cortos de tiempo (los enzimas alostéricos en cuestión de segundos, los modulados covalentemente en cuestión de minutos).

ENZIMAS ALOSTÉRICOS.

Los enzimas alostéricos son aquellos que, además del centro activo mediante el cual interactúan con el sustrato, poseen **otro centro de unión** llamado **centro alostérico** mediante el cual interactúan con otra molécula denominada **efector** o **modulador** (la palabra "alostérico" hace referencia a la existencia de ese "otro lugar").

La interacción del modulador con el centro alostérico es tan específica como lo es la interacción del sustrato con el centro activo y también está basada en la complementariedad estructural (Figura 21).

Los enzimas alostéricos presentan pesos moleculares en general superiores a los de otros enzimas y en la mayor parte de los casos son proteínas oligoméricas, es decir están formados por varias subunidades (normalmente en número par).

Los **moduladores** alostéricos pueden ser de dos tipos: unos estimulan la actividad del enzima al unirse al centro alostérico, reciben el nombre de moduladores positivos o **activadores**; otros la inhiben y se llaman moduladores negativos o **inhibidores**.

Los inhibidores alostéricos no responden a ninguno de los modelos de inhibición enzimática estudiados en el apartado anterior.

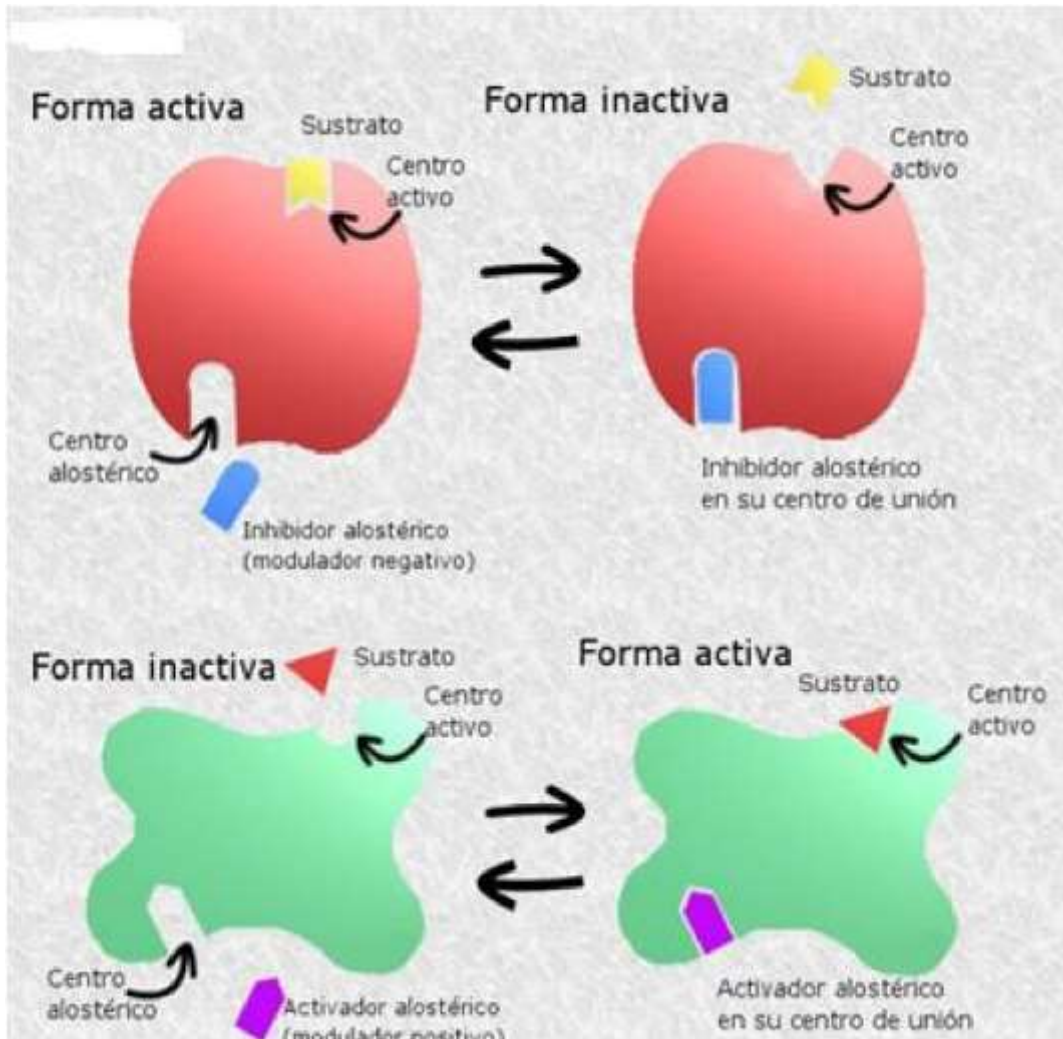


Figura 21. Enzimas alostéricos

Los enzimas alostéricos presentan siempre dos formas, una *activa* y otra *inactiva*, interconvertibles por efecto del modulador (Figura 21). Existen dos tipos de control alostérico: el **control heterotrópico** que se da cuando el modulador es una molécula diferente del sustrato, y el **control homotrópico** que se da cuando el modulador es el propio sustrato. En ambos casos el modulador puede ser positivo o negativo. Los enzimas con control homotrópico poseen dos o más centros de unión para el sustrato; en ellos la interconversión entre las formas activa e inactiva depende de cuántos sean los centros de unión que estén ocupados por moléculas de sustrato.

Un caso muy común de regulación del metabolismo mediante enzimas alostéricos es la **inhibición por el producto final**, también llamada **retroinhibición** o **control feed-back**. En ella, el producto final de una ruta metabólica inhibe alostéricamente al enzima que cataliza la primera reacción de dicha ruta, interrumpiendo así su propia síntesis cuando ésta ya no es necesaria. Este tipo de control es muy rentable para la célula, ya que no se interrumpe solamente la síntesis del producto final sino la de todos los intermediarios. Se trata de un control heterotrópico mediante un modulador negativo.

Otro caso es el del sustrato de la primera reacción de una ruta metabólica que actúa como activador del enzima que cataliza dicha reacción. Se trataría aquí de un control homotrópico mediante modulador positivo.

Aunque existen enzimas alostéricos **monovalentes**, que responden a un sólo modulador, la inmensa mayoría son enzimas **polivalentes**, que poseen varios centros alostéricos mediante los cuales interactúan con distintos moduladores positivos y/o negativos, presentando un tipo de control mixto homotrópico-heterotrópico.

ENZIMAS MODULADOS COVALENTEMENTE

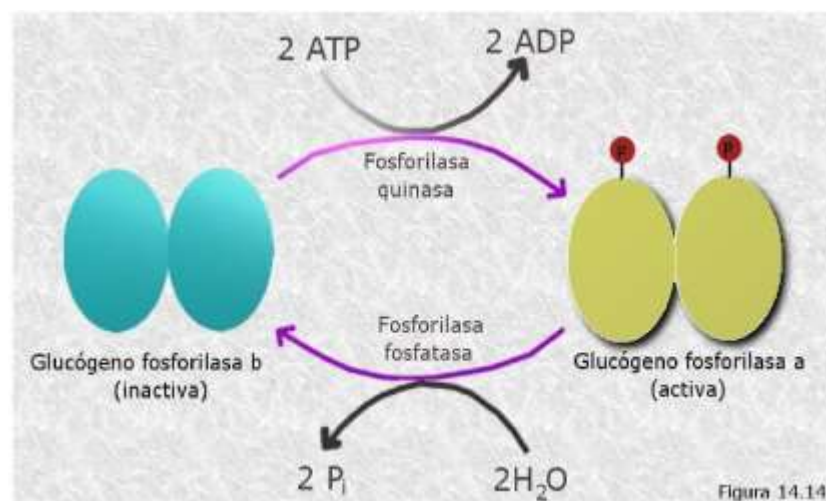


Figura 22. enzima modulado covalentemente.

Los **enzimas modulados covalentemente** también presentan dos formas, una activa y otra inactiva, que son interconvertibles por modificación covalente de sus estructuras catalizada por otros enzimas, denominados **enzimas moduladores**. Tal modificación suele consistir en la adición o eliminación de un grupo químico esencial para la catálisis (generalmente un grupo fosfato, metilo, adenilato u otros) de manera que el *enzima modulado* se activa cuando está unido a dicho grupo y se inactiva cuando éste se elimina. En la mayor parte de los casos son necesarios dos *enzimas moduladores* diferentes, uno que activa el *enzima modulado* y otro que lo inactiva. Un ejemplo clásico de modulación covalente lo constituye el enzima *glucógeno-fosforilasa*, que actúa en el metabolismo de los glúcidos liberando unidades de *glucosa-1-fosfato* a partir de

las cadenas polisacarídicas del *glucógeno*. La *glucógeno-fosforilasa* es activada por un enzima modulador, la *fosforilasa-quinasa*, que une covalentemente un grupo fosfato a un resto específico de *serina* en cada una de las dos subunidades del enzima modulado. Otro enzima modulador, la *fosforilasa-fosfatasa*, escinde hidrolíticamente dichos grupos fosfato desactivando así el enzima (Figura 22).

La *modulación covalente* tiene la ventaja de que puede utilizarse para amplificar una señal química, ya que una sola molécula del *enzima modulador* puede activar o desactivar a muchas moléculas del *enzima modulado*, que a su vez podrán actuar o no sobre un elevado número de moléculas de *sustrato*, produciéndose así lo que se conoce como **efecto cascada**. En muchos casos, los enzimas moduladores a su vez pueden activarse o desactivarse como respuesta a una *señal hormonal*. Por ejemplo, la hormona denominada *adrenalina* actúa sobre receptores específicos de la membrana de las células musculares desencadenando un proceso en el que están implicados varios *enzimas moduladores que a su vez resultan modulados covalentemente por otros enzimas moduladores de un nivel superior*. El resultado final de dicho proceso es una degradación masiva de glucógeno a glucosa-1-fosfato destinada a la producción de energía para las células musculares. De este modo, una débil señal química, consistente en unas pocas moléculas de hormona, es amplificada en varios escalones para producir un efecto metabólico de grandes proporciones.

Un caso particular de este tipo de regulación es la **activación covalente de los zimógenos**. Algunos enzimas se sintetizan dentro de las células en formas inactivas denominadas *zimógenos*. Una vez secretados al exterior de la célula son activados mediante la escisión hidrolítica catalizada enzimáticamente de algunos péptidos de su cadena polipeptídica. Este tipo de activación es irreversible. El ejemplo clásico de este tipo de regulación es el de los enzimas digestivos **pepsina, tripsina y quimotripsina** que, con el objeto de que evitar que lleven a cabo su actividad degradativa en el interior de las células, se sintetizan en forma de sus respectivos zimógenos inactivos y sólo se activan una vez han sido secretados al tracto digestivo.

COFACTORES ENZIMÁTICOS.

Algunos enzimas necesitan para llevar a cabo su actividad catalítica de la concurrencia de una o más sustancias de naturaleza no proteica que reciben el nombre de **cofactores**. No debe entenderse que los cofactores son sustancias que meramente potencian la actividad enzimática sino que, en determinados enzimas, son absolutamente imprescindibles para que ésta se realice. En ausencia de cofactor el enzima resulta catalíticamente inactivo y recibe el nombre de **apoenzima**; la combinación de apoenzima y cofactor da el **holoenzima** catalíticamente activo. Existen dos tipos de cofactores enzimáticos: los **iones metálicos** y los **coenzimas**.

Los iones metálicos que actúan como cofactores enzimáticos son generalmente cationes mono o divalentes. Pueden actuar de varias maneras: 1) En algunos enzimas el ion metálico constituye el verdadero *centro catalítico*; en estos casos el ion suele presentar por sí solo una cierta actividad catalítica, que se ve

incrementada cuando forma parte del enzima. 2) En otros enzimas el ion metálico constituye un *grupo puente* para unir el sustrato al centro activo. 3) A veces el ion metálico no forma parte del centro activo sino que se encuentra en un lugar del enzima muy alejado del mismo, actuando como *agente estabilizador* de la conformación nativa del enzima.

Cuando el cofactor es una sustancia *orgánica* de naturaleza *no proteica* recibe el nombre de **coenzima**. Los coenzimas actúan generalmente como **transportadores intermediarios** de grupos funcionales, de determinados átomos o de electrones, los cuales son transferidos de una sustancia a otra en la reacción enzimática global. A veces los coenzimas se hallan íntimamente unidos a la molécula proteica constituyendo un verdadero **grupo prostético**. En otros casos la unión es débil y el coenzima actúa en realidad como si de un sustrato más del enzima se tratase.

Cuando se analiza la estructura química de muchos coenzimas se comprueba que tienen formando parte de ella a alguna de las sustancias conocidas como **vitaminas**. Existe pues una clara relación entre vitaminas y coenzimas.

12.- VITAMINAS

Las **vitaminas** son una serie de sustancias de naturaleza química variada que, en cantidades mínimas, son necesarias para el normal desarrollo y funcionamiento de muchos organismos. Su importancia biológica se manifestó debido a que algunos organismos no las pueden sintetizar y deben adquirirlas por tanto de procedencia exógena.

Desde muy antiguo se sabía que determinados alimentos tenían propiedades curativas o preventivas para determinadas enfermedades. El fraccionamiento químico de estos alimentos condujo al aislamiento y purificación de las sustancias responsables de este efecto preventivo, las cuales recibieron el nombre de vitaminas debido a que la primera que se identificó era una amina (de "vital amina"). Pudo constatarse entonces su variada naturaleza química, siendo clasificadas en **hidrosolubles** y **liposolubles** según su mayor o menor afinidad por el agua o por las sustancias lipídicas.

En la actualidad está perfectamente establecida la **función coenzimática** de la mayoría de las vitaminas hidrosolubles: a excepción de la vitamina C todas forman parte de alguno de los coenzimas conocidos. Es conveniente resaltar que, aunque existe una clara relación entre las vitaminas hidrosolubles y los diferentes coenzimas que actúan en el metabolismo, vitaminas y coenzimas no son exactamente la misma cosa; un ejemplo nos ayudará a aclararlo: el *ácido nicotínico* es una vitamina hidrosoluble que no puede ser sintetizada por las células humanas.

Ahora bien, dichas células sí pueden transformar el ácido nicotínico en *nicotinamida*, la cual, unida a otros componentes celulares, forma parte de los coenzimas *NAD* y *NADP*, que actúan en el metabolismo como transportadores de electrones. Por otra parte, las vitaminas liposolubles parecen presentar

funciones de naturaleza hormonal o reguladora del metabolismo que en algunos casos aún no son bien comprendidas.

Las necesidades exógenas de vitaminas difieren ampliamente de unas especies a otras según éstas sean capaces o no de sintetizarlas. Por ejemplo el hombre necesita 14 vitaminas de procedencia exógena, mientras que la especie bacteriana *Escherichia coli* sólo necesita una (la biotina) pudiendo sintetizar todas las demás. Por otra parte, sólo los animales superiores parecen necesitar vitaminas liposolubles de procedencia exógena.

El ATP como Fuente de energía Celular

El ATP (adenosina trifosfato), químicamente es un nucleótido formado por una base nitrogenada, la molécula de adenina, unida a un azúcar de 5-carbonos, la ribosa y a tres grupos fosfatos. El ATP puede actuar como transportador de energía química, en cientos de reacciones celulares, por lo que se le considera como un **compuesto rico en energía**; ya que muestra una gran disminución de energía química cuando participa en reacciones hidrolíticas.

La energía que se libera cuando se hidroliza el ATP, es utilizada en la síntesis de biomoléculas, en el transporte activo de iones en contra de un gradiente de concentración, en movimientos de ciclosis citoplasmática, en la contracción muscular, en la emisión de luz por bacterias, luciérnagas y en el movimiento de flagelos y cilios. El ATP a nivel celular funciona como una batería, que almacena energía por períodos cortos de tiempo; en otras palabras se puede considerar como la moneda de intercambio de energía de la célula.

La energía liberada cuando se hidroliza enzimáticamente el ATP, convirtiéndose en ADP y P_i , se utiliza para mover reacciones endergónicas (que requieren energía) de biosíntesis en cualquier parte de la célula. Estos procesos juegan una parte vital en establecer orden biológico. La energía liberada es de aproximadamente 7,3 Kcal/mol

$P_i = HPO_4^{2-}$

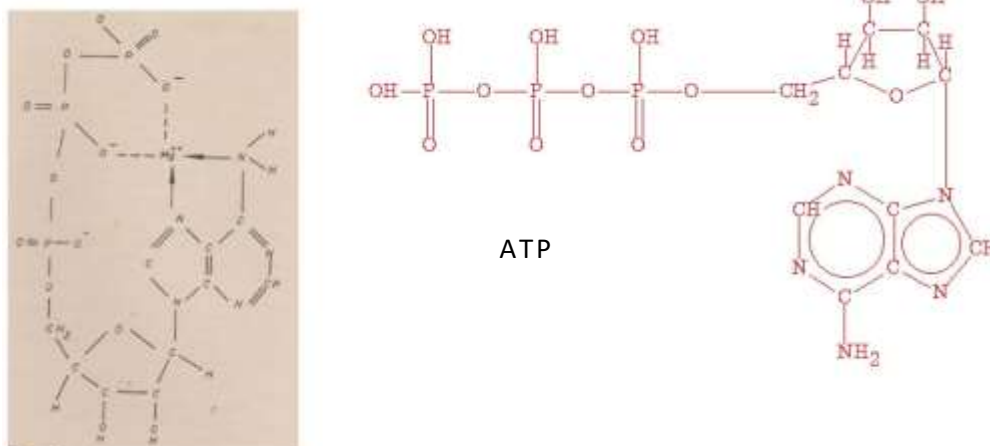


Figura 23. Molécula de ATP y complejo de ATP y Mg según Lehninger (Bioenergéticos, W. A. Bamjamín, 1965).

El ATP es inestable a ácidos, álcalis y al calor. A pH 7,0 el ATP se encuentra como un anión con cuatro cargas negativas. El fosfato terminal del ATP se puede decir que existe en un **estado activado**, cuando este fosfato se hidroliza se forma ADP y Pi, dos moléculas de menor contenido energético. El enlace químico que se rompe en esa reacción de hidrólisis se conoce algunas veces como un **enlace de alta energía**.

¿Cuál es la razón de que el ATP tenga alta energía de hidrólisis?

Los productos resultantes de la hidrólisis, ADP^{-3} y HPO_4^{-2} se hallan cargados negativamente, por lo que tienen poca tendencia a aproximarse, debido a la repulsión de sus cargas. Es por eso que son más estables que el ATP.

La molécula de ATP^{-4} a pH 7,0 tiene cargas negativas muy próximas entre sí, lo que ocasiona una fuerte repulsión de sus cargas eléctricas.

Cuando se hidroliza el grupo fosfato terminal desaparece parte de la tensión creada por la repulsión de las cargas eléctricas.

Los productos de la hidrólisis se estabilizan por resonancia.

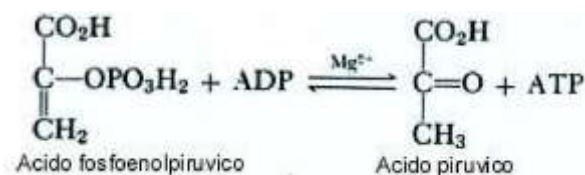
¿Cómo se sintetiza el ATP?

El ATP se puede sintetizar a partir de ADP y Pi mediante dos procesos:

Fosforilación a nivel de sustrato.

Mecanismo quimiosmótico de Mitchell.

La fosforilación a nivel de sustrato ocurre en el citoplasma celular. Por ejemplo, la formación del ácido pirúvico a partir del ácido fosfoenol pirúvico, catalizada por la enzima piruvatoquinasa produce ATP.



Según la teoría quimiosmótica de Mitchell (ganador del premio Nobel en 1978), el sistema transportador de electrones produce un gradiente de protones entre los dos lados de la membrana mitocondrial interna, que crea una diferencia de pH y un potencial de membrana.

De acuerdo a esta teoría, los protones son bombeados de la matriz mitocondrial hacia el compartimento intermembranal, a medida que los electrones del NADH_2 se mueven a través de una cadena transportadora de electrones, la cual forma parte de la membrana mitocondrial. Cada par de electrones cruza la membrana tres veces, transportando en cada una de ellas

dos protones hacia el espacio intermembranal. Se forma así un gradiente de protones y de potencial eléctrico (**gradiente electroquímico**), que origina un movimiento inverso de protones hacia la matriz, a través de canales de difusión formados por la ATP asa (ATP sintetasa). A medida que los protones (H^+) pasan a través de la ATP sintetasa, la energía libre liberada potencia la síntesis de ATP a partir de ADP y fosfato. Por cada $NADH_2$ que se oxida, se traslocan 6 protones los que al regresar a la matriz generan 3 moléculas de ATP. La síntesis de ATP acoplada al consumo de oxígeno se llama fosforilación oxidativa.

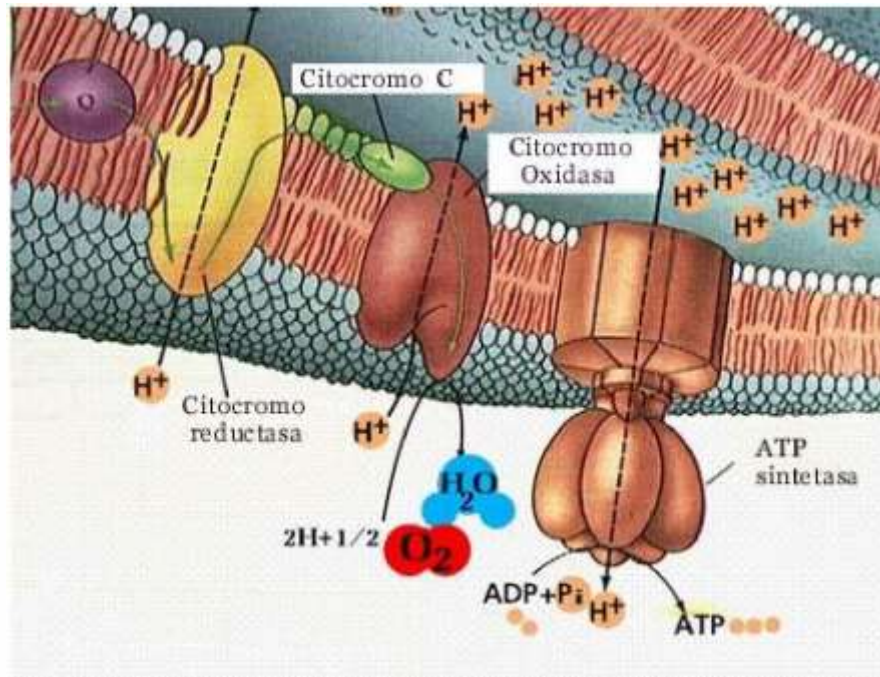


Figura 24. Formación de ATP en la mitocondria.

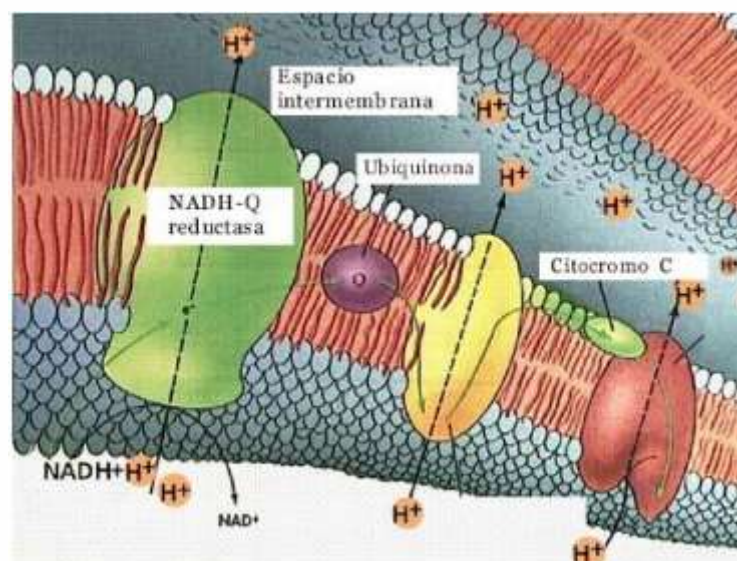


Figura 25. Liberación de electrones e hidrógenos del $NADH+H$ y formación de NAD^+ .

Fosforilación fotosintética

La síntesis de ATP producida en los cloroplastos, mediante la utilización de energía luminosa, se denomina fotofosforilación:

ADP + Pi + cloroplastos + luz → ATP

En la membrana tilacoidal como resultado de la fotólisis del agua ($\text{H}_2\text{O} \rightarrow \frac{1}{2}\text{O}_2 + 2\text{H}^+$) y de la oxidación de la plastoquinona ($\text{PQH}_2 \rightarrow \text{PQ} + 2\text{H}^+$) se generan protones (H^+), que originan un alto gradiente de concentración de protones, al ser transportados del lumen tilacoidal hacia el estroma. Ese gradiente de pH a través de la membrana es responsable de la síntesis de ATP, catalizada por la enzima ATP sintetasa.

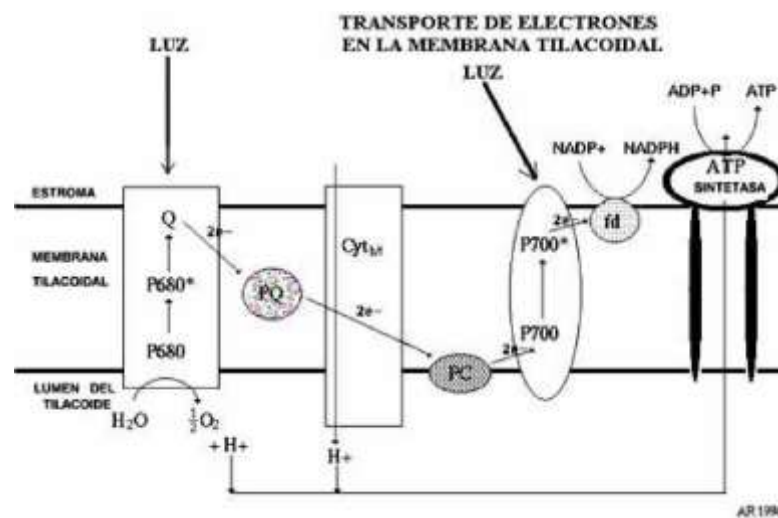


Figura 26. Transporte de electrones en la membrana tilacoidal y liberación de H^+ en el fotosistema I y II de la fotosíntesis.

REGULACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

La interconversión de biomoléculas dentro de la célula se da a partir de vías o rutas metabólicas, secuencias de reacciones químicas catalizadas por enzimas que llevan a la producción de los diferentes componentes celulares. Estas vías pueden ser denominadas *anabólicas* cuando están destinadas a la síntesis de un compuesto a partir de precursores más pequeños, o *catabólicas*, cuando proceden en el sentido de degradar compuestos. Algunas vías pueden ser consideradas como *anfibiólicas*, cuando pueden proceder en uno u otro sentido, y generalmente comparten algunas enzimas.

Consideremos el camino anfibiólico:

Æ catabólico

$E_1 \quad E_2 \quad E_3$

A \rightleftharpoons B \rightleftharpoons C
 \rightleftharpoons D

anabólico

Ä

Donde E_1 , E_2 y E_3 son las enzimas que catalizan cada una de las reacciones. Como vemos es imposible controlar el flujo en una sola dirección sin afectar la otra. Por eso, lo que se observa en general es que las etapas regulatorias de una vía metabólica anfibólica están organizadas de la siguiente manera:

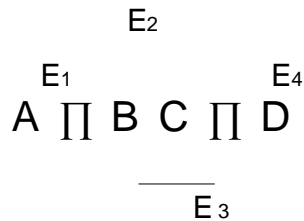


Figura 27. Siempre habrá por lo menos una enzima únicamente perteneciente a una de las direcciones metabólicas. Además, por lo general estas reacciones son irreversibles ($\Delta G \ll 0$).

Las necesidades fisiológicas de cada célula hacen que las vías metabólicas sean capaces de cambiar rápidamente de velocidad o sentido. En realidad, no todas las vías metabólicas funcionan a su máxima capacidad al mismo tiempo y más aún, existen rutas que en ciertas fases del ciclo celular son anuladas por completo. La situación contraria implicaría un despilfarro de metabolitos y energía para las células (ver ciclos fútiles).

El control del funcionamiento de las diferentes rutas metabólicas se realiza modulando la actividad de una o más enzimas claves de la vía (enzimas regulatorias). Esta regulación no se da en todas las enzimas de la vía, sino casi siempre en aquellas que son únicas para la vía (ver ejemplo anterior).

Los seres vivos han desarrollado diferentes estrategias para lograr la regulación mencionada:

- Compartimentalización
- Regulación de la cantidad absoluta de enzima -

Regulación de la actividad enzimática:

- mediada por metabolitos
- modificación covalente
- modificación de la estructura cuaternaria
- unión a otras proteínas
- activación proteolítica irreversible

- Isoenzimas

Compartimentalización

Con el objeto de maximizar la economía celular, muy a menudo las rutas catabólicas y anabólicas se hallan separadas en diferentes organelas. La presencia en un mismo compartimiento de la síntesis de ácidos grasos y su

degradación conduciría a la existencia de un ciclo fútil. La ocurrencia de la síntesis de los ácidos grasos en el citoplasma mientras la oxidación de los mismos tiene lugar en la mitocondria brinda la posibilidad de controlar ambos metabolismos regulando el transporte de los metabolitos comunes a nivel de membrana.

En plantas existen vías glucolíticas paralelas en el cloroplasto y en el citosol, con funciones y regulación adecuadas a su entorno, y el proceso de fotorrespiración tiene lugar en tres compartimientos celulares diferentes.

Otro ejemplo de compartimentalización muy claro es el que existe en el núcleo de las células eucariotas donde la síntesis de ADN y ARN se realiza en zonas localizadas.

Control de la concentración de enzima

Las necesidades metabólicas pueden requerir cambios en la actividad de alguna enzima en particular. Una de las formas más obvias en que esto puede conseguirse es cambiando la concentración de enzima. Así, la necesidad de una mayor actividad enzimática encontraría respuesta a través de una mayor velocidad de síntesis de esa enzima. Esto puede ocurrir por procesos hormonales o estar vinculados a la concentración del sustrato o un metabolito relacionado con la actividad de esta enzima. Del mismo modo, puede ocurrir que la necesidad sea una disminución de la actividad, en cuyo caso puede darse una baja en la velocidad de síntesis. Otro mecanismo plausible es un incremento en la velocidad de degradación de la enzima (por proteólisis).

A este tipo de regulación se lo denomina grueso o grosero, para diferenciarlo de la regulación fina que se verá más adelante.

Cualquiera sea el mecanismo, las principales características de la regulación a través de la variación de la concentración de enzima son:

- a. Es un proceso costoso energéticamente (hay que sintetizar *de novo* ácidos nucleicos y proteínas, o bien destruir proteínas que costó mucho sintetizar)
- b. Es un proceso lento, puede tomar de horas a días
- c. Es muy importante durante la adaptación a nuevas condiciones ambientales o durante cambios en el desarrollo (embriogénesis, diferenciación tisular)

Como ya se ha discutido la velocidad de una reacción depende de la cantidad de enzima presente. Muchas enzimas que catalizan puntos de regulación de una vía metabólica se hallan en concentraciones muy pequeñas.

La velocidad de síntesis de estas enzimas puede ser aumentada o reprimida mediante la acción de hormonas sobre los mecanismos que controlan la expresión génica. Por ejemplo, la insulina es una hormona anabólica que induce la síntesis de glucoquinasa, fosfofructoquinasa, piruvato quinasa y glucógeno sintetasa mientras que reprime la síntesis de varias enzimas gluconeogénicas.

También en muchos casos un sustrato determinado es capaz de regular la síntesis de una enzima. Por ejemplo la glucosa es capaz de inhibir la síntesis de

piruvato carboxilasa, que es la enzima que cataliza la etapa limitante en la síntesis de glucosa a partir de piruvato. Este es un ejemplo más de la lógica del metabolismo: no tendría sentido habiendo gran cantidad de glucosa sintetizar más a expensas de los aminoácidos que son una posible fuente de piruvato.

En procariotes, los genes relacionados con el uso de un metabolito particular se encuentran adyacentes entre sí en el cromosoma, e incluyen regiones del ADN que regulan la velocidad con que se transcriben estos genes en respuesta a la disponibilidad de ese metabolito. A estos arreglos genómicos se los denomina operones. Definimos entonces como concepto de operón a un conjunto de genes, cuya función está relacionada, controlados por un único promotor, y cuya transcripción da lugar a un único mensajero que es policistrónico.

Un ejemplo clásico de control de la síntesis de enzima es el de la β -galactosidasa de *Escherichia coli*. Esta enzima cataliza la hidrólisis de lactosa para convertirla en glucosa y fructosa, hexosas que pueden ser metabolizadas por glucólisis. El gen de la β -galactosidasa (Z) en *E. coli* forma parte de un operón, llamado lac, junto con otros dos genes: el de la β -galactósido permeasa (Y) y el de la β -tiogalactósido transacetilasa (A). El operón lac posee además de los genes mencionados otros elementos: el promotor (zona reconocida por la ARN polimerasa) y que codifica para la síntesis de una proteína represora que se une al operón durante la transcripción. En presencia de lactosa en la célula, se produce alolactosa que se une al represor, lo inactiva y se transcribe el ARNm (Figura 28).

(ver animación en <http://www.people.virginia.edu/~rjh9u/zlacoperonanim.html>,

<http://www.sumanasinc.com/webcontent/anisamples/majorsbiology/lacoperon.html>)

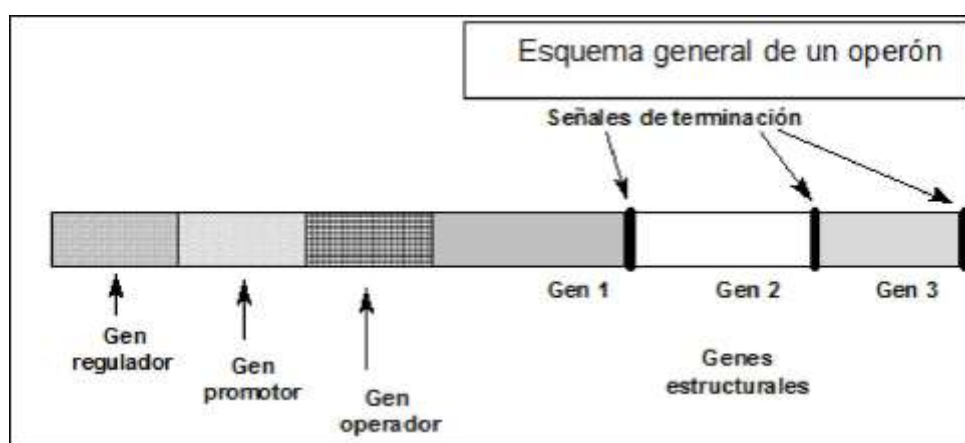


Figura 28. Esquema general de un operón.

Regulación fina de la actividad enzimática

La regulación de la actividad enzimática a nivel de su síntesis es un proceso a largo plazo. A lo largo del ciclo celular muchos metabolitos son sintetizados y dejan de serlo en repetidas ocasiones dependiendo de las necesidades de ese

metabolito en cada ocasión. La adaptación a necesidades inmediatas de cambios en la velocidad metabólica se da por medio de la regulación fina de la actividad de enzimas persistentes, sin modificación de su concentración. Este tipo de regulación se da mediante diversos mecanismos.

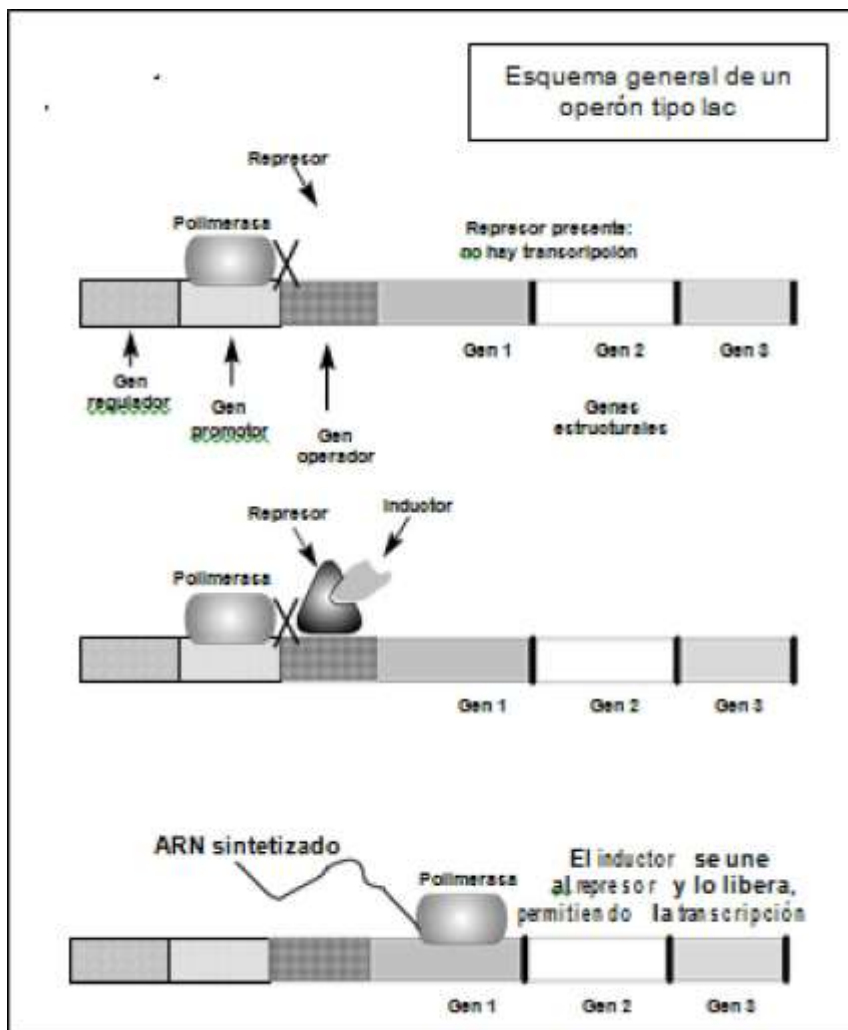


Figura 29. Esquema general de un operón tipo lac.

Regulación por metabolitos

La regulación por metabolitos es un proceso reversible que puede involucrar activación o inhibición. No es del tipo sí o no, que anula completamente una vía activa o restaura la actividad de otra que tiene actividad nula. Esencialmente todas las regulaciones de este tipo se dan sobre enzimas que catalizan etapas irreversibles. Las moléculas efectoras (activadores o inhibidores) operan según dos tipos de estrategias:

- efectores que actúan sobre **el sitio activo**: en el caso de que se trate de un inhibidor el mecanismo es de inhibición competitiva

- efectores que se unen a un sitio **distinto del sitio activo**: la unión de la molécula efectora (estimulador o inhibidor) a un sitio diferente al de la catálisis implica una modificación en la estructura de la proteína que implica un cambio en su actividad enzimática. Este mecanismo es el **alosterismo** (discutido en sesiones anteriores).

Este tipo de regulación permite grandes cambios en la actividad a pesar de que la [S] no varíe demasiado dentro de la célula.

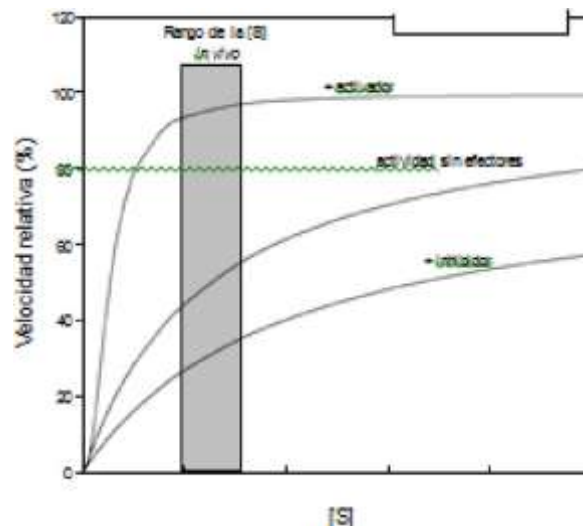


Figura 30. Muestra la regulación enzimática que permite cambios en la actividad.

Si bien la naturaleza de los metabolitos implicados en regular enzimas es muy variada, es muy frecuente encontrar como efectores alostéricos a los adenilatos (ATP, ADP y AMP). El uso de estos compuestos como efectores permite coordinar la velocidad de formación de ATP con la de su uso. Así, fue muy útil la introducción del concepto de **carga energética**, definida como:

$$\frac{[\quad] + [\quad]}{+ [\quad] + [\quad]}$$

Este cociente varía entre 0 y 1, si es 0 todo el adenilato está como AMP, si es 1 como ATP. La CE varía *in vivo*, adoptando valores entre 0,7 y 0,9.

La Figura 31 muestra de que manera están influenciadas las velocidades de las enzimas que utilizan o consumen ATP por la CE. Debido a la acción de la adenilato kinasa ($ATP + AMP \rightleftharpoons 2 ADP$) y a que $[ATP] > [ADP] \gg [AMP]$, cualquier pequeño cambio en las concentraciones de ATP o ADP resultarán en cambios relativamente grandes en [AMP]. Así, las enzimas que tienen al AMP como efector alostérico son sensibles a pequeños cambios en la [ATP] o [ADP].

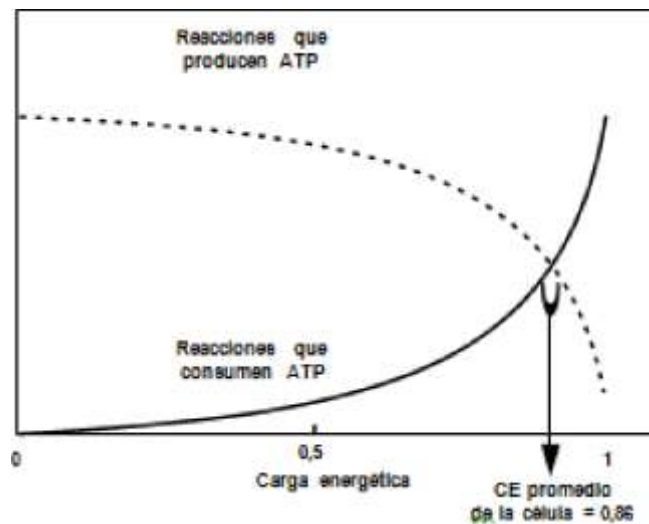


Figura 31. Reacciones que producen y consumen ATP.

Inhibición feed-back o retroinhibición. Este tipo de regulación de una determinada vía metabólica se da cuando el producto final de una vía principal o secundaria inhibe una de las primeras enzimas del proceso. La retroinhibición se puede dar en caminos lineales como la glucólisis (inhibición por ATP o citrato de la fosfofructoquinasa) o en caminos ramificados como la síntesis de desoxirribonucleótidos.

No tiene sentido mantener la producción de desoxirribonucleótidos durante todo el ciclo celular: cuando cesa la replicación, aumenta la concentración de los mismos y estos inhiben la ribonucleósido fosfato reductasa.

En vías metabólicas ramificadas se pueden encontrar diferentes variantes de este tipo de inhibición.

- *Retroinhibición secuencial.* Cada uno de los productos finales inhibe a la primera enzima que conduce a su propia síntesis, pero no a la primera de la vía general, que es inhibida por el precursor común a las ramas metabólicas. P inhibe a E₄, Q inhibe a E₅ solamente. Esto causa acumulación de D, que generalmente actúa como inhibidor de E₁. Cada uno inhibe su propia síntesis. Este tipo de inhibición se da en la síntesis de nucleótidos, y permite balancear la cantidad que se produce de una y otra base.

- *Inhibición concertada.* Es una alternativa a la retroinhibición secuencial. En este caso P y Q inhiben a E₁, pero deben estar juntos para ejercer su efecto, por separado no son inhibidores. Se elimina la necesidad de regular E₁ indirectamente a través de D.

- *Inhibición cooperativa o sinérgica.* En este caso P y Q inhiben a nivel de E₁, pueden hacerlo de forma independiente de la presencia del otro, pero tienen un efecto mayor si están juntos. Supongamos que 1 mM P produce un 50% de inhibición, y Q otro tanto. Si los dos están juntos en una concentración de 1 mM cada uno, la actividad residual no va a ser del 25% como cabría de esperar sino

menor aún. Podemos considerar que la presencia de uno de los inhibidores potencia el efecto del otro, y viceversa.

Inhibición acumulativa (parcial). P y Q inhiben fuertemente su propia vía (E₄ y E₅), pero inhiben a E₁ parcialmente, es decir que aunque estén en concentraciones saturantes, no llevan la actividad a 0. Así se previene que una acumulación excesiva de P o Q frene por completo la síntesis del otro compuesto.

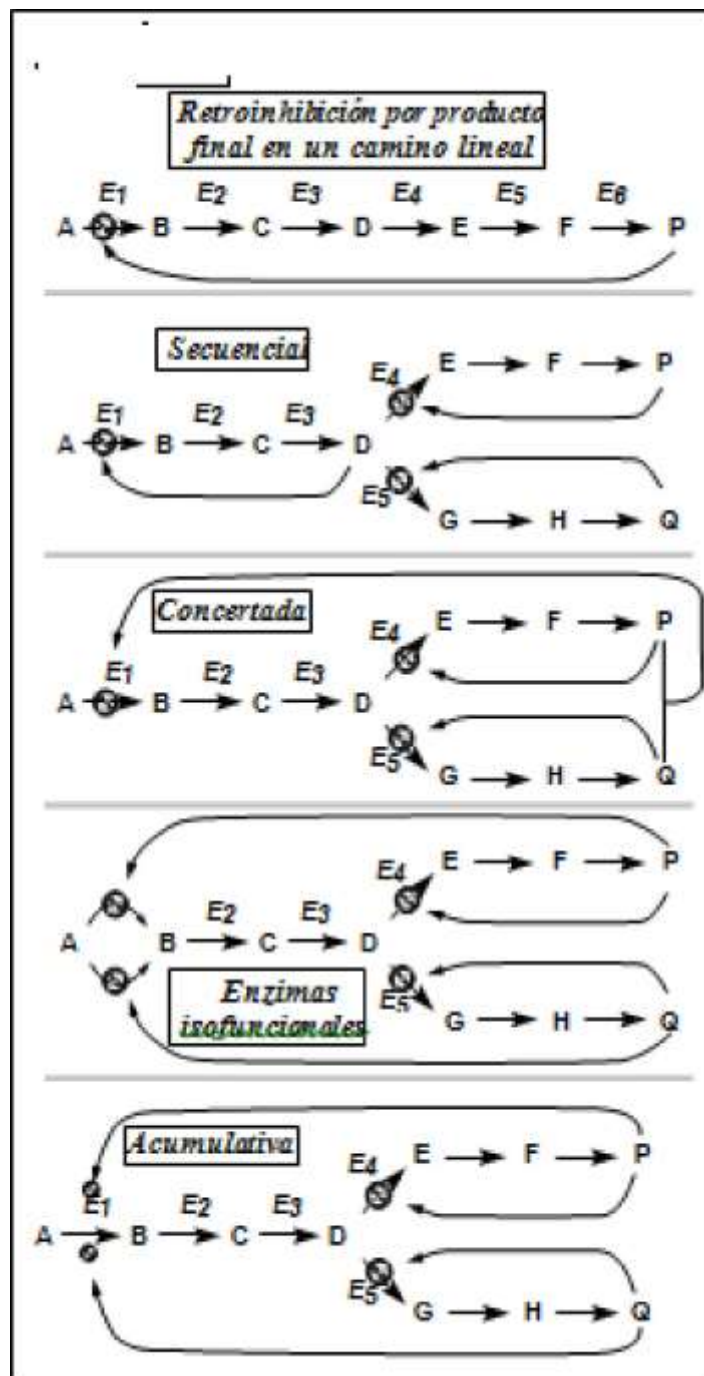


Figura 32. Retroinhibición por producto final en un camino lineal.

Otra forma de regular este tipo de caminos metabólicos es cuando existen enzimas isofuncionales (isoenzimas) en el primer paso, es decir que la obtención de B puede darse a partir de dos enzimas diferentes. Allí uno de los productos finales, digamos P, regula una de las enzimas, mientras que Q regula la otra.

Regulación por modificación covalente

Muchas veces la actividad de una determinada enzima es regulada mediante modificación covalente reversible de la misma. Algunas de estas enzimas pasan de una forma menos activa a otra más activa uniéndose covalentemente a un grupo químico de pequeño tamaño como el Pi o el AMP. También se da el caso inverso, en el que una enzima muy activa se desactiva al liberar algún grupo químico.

Fosforilación

El caso más típico de modificación covalente es el de fosforilación-defosforilación. Este tipo de reacciones son catalizadas por proteína quinasas, siendo ATP el dador de fosfato. Los residuos de aminoácidos que pueden ser fosforilados son: Ser, Thr, Tyr Lys y His. Por ejemplo la glucógeno fosforilasa (la enzima que libera unidades de glucosa del glucógeno) es activada en un residuo específico de serina.

La fosforilación puede tener distintos efectos sobre la actividad de una enzima:

- activación
- inhibición
- cambio en la sensibilidad a efectores
- cambio en la estructura cuaternaria

La remoción de los grupos fosfato es catalizada por proteína fosfatasas específicas.

Un ejemplo de modulación de la actividad enzimática mediante fosforilación-defosforilación es el de la fosforilasa:



En general, en las enzimas de las vías degradativas del metabolismo, la forma fosforilada es más activa que la no fosforilada, mientras que en las vías biosintéticas ocurre lo contrario.

Adenilación. Otro ejemplo de regulación de la actividad enzimática por modificación covalente es la adenilación-desadenilación. Este es el caso de la glutamina sintetasa que se describe más abajo.



Interconversión disulfuro-ditiol. La interconversión de grupos ditiolos (–SH)

de cadenas laterales de cisterna en disulfuros (-S-S-) por oxidación es un proceso de enorme importancia en la regulación enzimática en plantas. Es necesaria la existencia de al menos tres proteínas: la ferredoxina, la tiorredoxina y la tiorredoxina reductasa. En el caso de las enzimas del ciclo de Calvin y Benson, el estado reducido de las enzimas blanco de este sistema tiene una v_{max} unas 50 veces superior al estado oxidado.

Uridilación-desuridilación

La uridilación-desuridilación es otro mecanismo de regulación presente en la cascada de regulación de la glutamina sintetasa. Las dos actividades: la de uridilación y la de hidrólisis son catalizadas por la misma cadena polipeptídica.

Enzima + UTP \rightleftharpoons Enzima-UDP + P_{pi}

Glutamina sintetasa

La regulación de la glutamina sintetasa bacteriana (enzima que sintetiza glutamina a partir de glutamato) es un ejemplo en el que varios mecanismos de control se conjugan para lograr una regulación extremadamente fina y coordinada de su actividad.

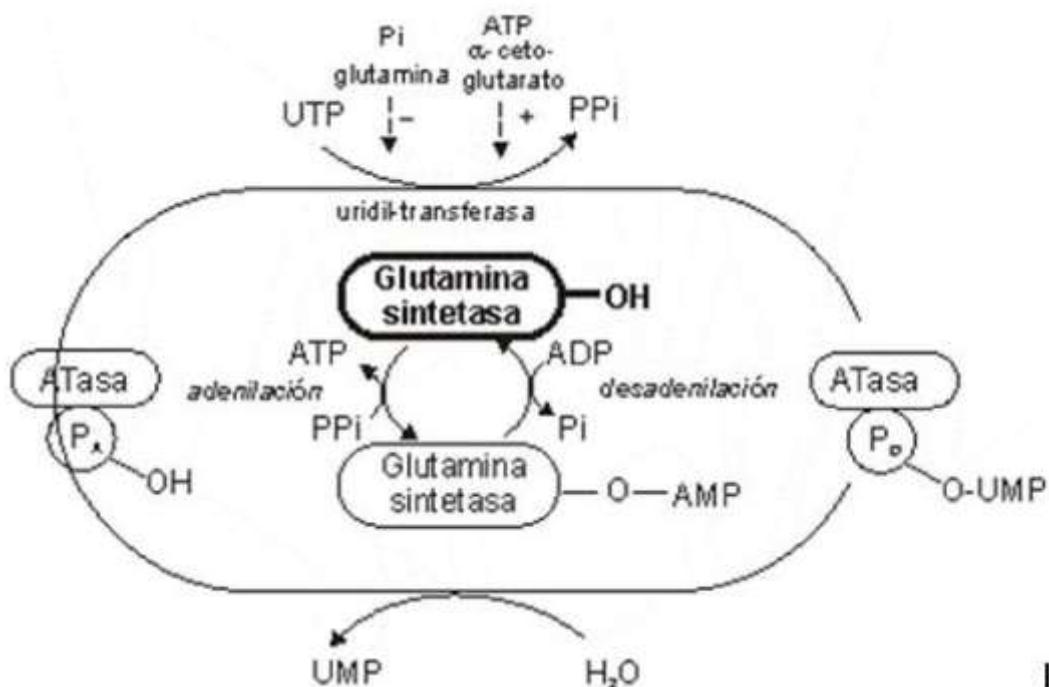


Figura 33. Actividad de la glutamina sintetasa.

Esta enzima es regulada acumulativamente por los metabolitos finales del metabolismo de glutamina (la glutamina es la fuente de grupos amino de una serie de compuestos) y por alanina y glicina. Cuando todos estos metabolitos están presentes la inhibición es total.

También la actividad de esta enzima se controla mediante modificación química reversible por adenilación. Cuando está adenilada es menos activa, mientras que es más activa mientras está desadenilada. Tanto la adenilación como la desadenilación están catalizadas por la misma enzima: la adeniltransferasa (ATasa). Esta enzima es capaz de catalizar un proceso o el inverso dependiendo de su regulación a través de una proteína P que puede existir en dos formas PA (enlaza AMP) y PD (lo libera). La conversión de PA a PD es regulada a su vez por uridilación.

La glutamina sintetasa también es regulada a nivel de la expresión génica (es decir a nivel de la cantidad absoluta de enzima).

Regulación por proteínas: Existen enzimas que son reguladas por proteínas estimuladoras o proteínas inhibidoras. Un ejemplo típico es el de la calmodulina que es capaz de registrar los niveles intracelulares de calcio y activar un gran número de enzimas cuando el nivel del catión aumenta dentro de la célula. Otro caso conocido es el de la glucocinasa, que se asocia a una proteína reguladora (GKRP) capaz de transmitir señales regulatorias por parte de metabolitos que se unen a esta proteína y no a la glucocinasa. La GKRP compete con la glucosa por la unión a glucoquinasa, de modo que actúa como un inhibidor competitivo con respecto a la glucosa. La unión es promovida por fructosa-6-P. Como esta se produce a partir de la Glc-6-P que la misma glucoquinasa genera, es similar a una retroinhibición, sólo que es efectuada indirectamente a través de la GKRP. Por otra parte, la fructosa-1-P se une a la GKRP y hace que esta se desprege de la glucoquinasa, por lo que incrementa la actividad de fosforilación de glucosa. Estas propiedades le permiten al hígado balancear la fosforilación de glucosa con la de fructosa luego de una ingesta de sacarosa.

Activación proteolítica:

El mecanismo más arriba mencionado implica la interconversión reversible entre una forma activa y una inactiva de la enzima. La activación proteolítica es en cambio un mecanismo de activación irreversible de formas enzimáticas inactivas a formas activas.

Muchas enzimas se activan por hidrólisis de uno o más péptidos de un precursor inactivo llamado zimógeno o proenzima. Este mecanismo regulatorio se da en enzimas digestivas como tripsina, quimotripsina y pepsina y en enzimas que participan en el proceso de coagulación de la sangre. Estas proteínas son inactivadas mediante la unión de inactivadores proteicos específicos.

Por ejemplo, el quimotripsinógeno (24kD) da origen a la quimotripsina por separación de 2 dipéptidos.

Este precursor es una cadena de 245 aminoácidos que posee en su estructura dos puentes disulfuro intracatenarios. Su conversión a alfa-quimotripsina se debe a la hidrólisis enzimática de 4 enlaces peptídicos por acción de la tripsina y quimotripsina consecutivamente:

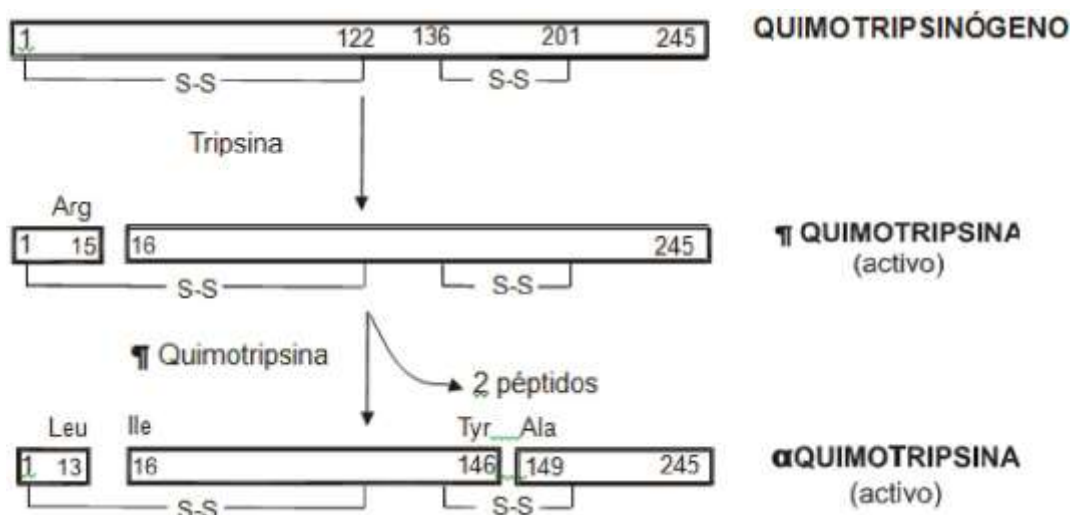


Figura 34. Quimotripsinógeno (24kD) da origen a la quimotripsina por separación de 2 dipéptidos.

La quimotripsina hidroliza enlaces peptídicos que contiene grupos carbonilo de aminoácidos aromáticos.

La pancreatitis, condición dolorosa y a menudo fatal, se caracteriza por la activación prematura de proteasas secretadas por el páncreas.

El tripsinógeno (24kD), da origen a la tripsina por separación de un hexapéptido del amino-terminal por acción de la enterocinasa. La tripsina hidroliza enlaces en los que intervienen Arg y Lys.

Isoenzimas:

Algunas enzimas tienen distinta estructura molecular aunque su función biológica es similar. Se llaman isozimas o isoenzimas. Estas diferencias de estructura se traducen en ligeros cambios en sus propiedades, de forma que cada isozima se adapta perfectamente a la función que debe realizar. Así, podemos observar la existencia de isoenzimas en función de:

el tipo de tejido: Por ejemplo, la lactato deshidrogenasa presenta isozimas distintas en músculo y corazón.

el compartimento celular donde actúa: Por ejemplo, la malato deshidrogenasa del citoplasma es distinta de la de la mitocondria.

el momento concreto del desarrollo del individuo: Por ejemplo, algunas enzimas de la glicólisis del feto son diferentes de los mismos enzimas en el adulto.

Un ejemplo muy claro de la diferencia en regulación que aportan diferentes isoenzimas en distintos tejidos es el de la fosfofructoquinasa 2 (PFK2), responsable de la formación de Fructosa-2,6-P2 (Fru-2,6-P2), un

potente activador de la fosfofructoquinasa 1 (PFK1), enzima clave para la regulación de la glucólisis. La enzima de hígado es inactivada por fosforilación luego de una señal hormonal, reduciendo la cantidad de Fru-2,6-P2 y frenando así la glucólisis. La enzima de músculo, bajo las mismas condiciones, es fosforilada en un sitio diferente resultando activada, con lo que aumenta la cantidad de Fru-2,6-P2 y se activa la PFK1 y por consiguiente la glucólisis. Más aún, la enzima de hígado es apenas inhibida por glicerol-3-P, mientras que la contraparte muscular es fuertemente inhibida por este metabolito.

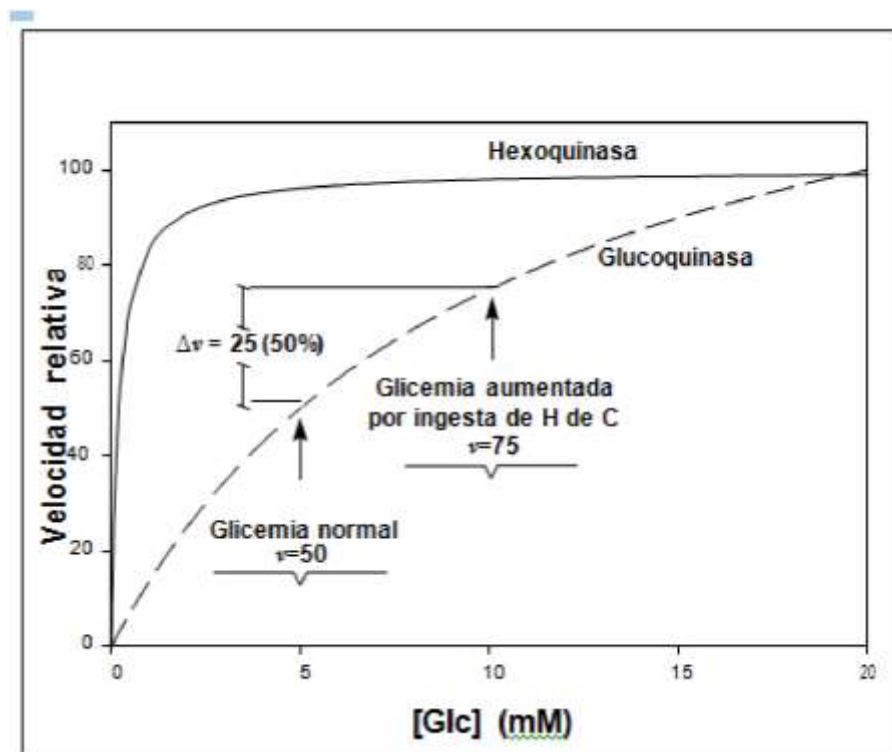


Figura 35. Isoenzimas, velocidad relativa.

Esto permite que bajo el mismo escenario metabólico y aprovechando las mismas señales hormonales, tejidos diferentes empleen las mismas enzimas para tareas opuestas (gluconeogénesis en hígado, glucólisis e músculo).

También en hígado y páncreas, la fosforilación de la glucosa se puede dar por dos isoenzimas, la hexoquinasa, de especificidad amplia (fosforila otras hexosas además de glucosa) y muy baja K_m ($\sim 0,1$ mM) o la glucoquinasa, estrictamente específica para glucosa y de K_m más alta (~ 5 mM). Además, la glucoquinasa tiene una v_{max} aproximadamente 1,5 veces mayor que la hexoquinasa.

La lógica de la existencia de dos isoenzimas en hígado es que este órgano debe hacer frente a cambios en la concentración sérica de glucosa (glucemia) para mantenerla constante en alrededor de 5 mM. Como a esa concentración la hexoquinasa está completamente saturada, ante un incremento importante en la glucemia como el que se da luego de una ingesta abundante de hidratos

de carbono su actividad no cambia. En cambio, la glucoquinasa sí responde incrementando su actividad en respuesta al aumento de su sustrato al no estar saturada (un 50% más de actividad, ver Figura 35). Esto permite al hígado retirar rápidamente el excedente de glucosa de la circulación. Como se observa en la Figura, la actividad de la hexoquinasa no varía. A modo de ejercicio y a efectos de comparar las diferencias cinéticas, sugerimos calcular la variación en velocidad de la hexoquinasa entre 5 y 10 mM Glc, y de ambas entre 5 y 15 mM Glc, considerando valores de K_m de 0,1 y 5 mM y de v_{max} de 100 y 150 U para la hexoquinasa y la glucoquinasa, respectivamente, con cinéticas hiperbólicas en ambos casos.

Enlace Recomendado:

Hernández Gil, Rubén, 2001. Enzimas: <http://www.arrakis.es/~lluengo/biologia.html>; <http://WWW.foret.ula.ve/~rubenhg> Libro botánica On Line. Universidad de Los Andes - Mérida – Venezuela. Unidad de Desarrollo Virtual. Versión 2.

<http://www.departamentos.ulpgc.es/dbbf/medicina/bioquimical/enzimas.pdf>

http://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/pluginfile.php/5985/mod_resource/content/0/Regulacion_de_la_actividad_enzimatica.pdf

METABOLISMO VEGETAL

De Wikipedia, la enciclopedia libre.

Es el conjunto de fenómenos físico-químicos que se producen en la planta, gracias a los cuales se llegan a sintetizar, en una serie de procesos anabólicos, los diversos elementos que forman el organismo, a la vez que, por otra parte, y de manera catabólica la materia es degradada o simplificada. La relación entre el anabolismo y el catabolismo mantiene el equilibrio vital.

Por otro lado se denomina **metabolismo** (o también metabolismo intermediario) al conjunto de reacciones químicas enzimáticamente catalizadas que tienen lugar en la célula. Esta definición, si bien es correcta, resulta un tanto incompleta, ya que no da idea de que el metabolismo no es un mero conjunto de reacciones, sino una actividad química altamente ordenada y llena de sentido cuyo objetivo es la correcta manipulación de la materia y la energía por parte de la célula para así mantener el estado vital. En sucesivos apartados de este tema iremos profundizando más en la verdadera naturaleza y significado del metabolismo.

La función principal de los cloroplastos dentro de la célula es la de llevar a cabo el metabolismo de la planta. Este metabolismo es fotosintético, o más exactamente fotolitoautótrofo oxigénico, es decir, fotótrofo por la captación de la energía solar por medio de la absorción de luz, autótrofo o sintético por la capacidad de sintetizar sus propias moléculas orgánicas a partir de moléculas inorgánicas más simples (fijando el dióxido de carbono), litótrofo por el uso de sustancias inorgánicas como agentes reductores (disociación del agua) y oxigénico por la liberación final de oxígeno. La fotosíntesis almacena la energía lumínica de la luz del Sol en forma de energía química en las moléculas orgánicas que se forman, tanto en la "fijación de carbono" como en la formación de ATP. La fotosíntesis es el conjunto de reacciones químicas que, con la energía de la luz del Sol, convierte dióxido de carbono (un gas atmosférico) y agua (que adquirió por ejemplo absorbiéndola por las raíces), en glucosa (una molécula orgánica) y oxígeno (otro gas que se libera a la atmósfera).

Anabolismo

De Wikipedia, la enciclopedia libre.

El anabolismo o biosíntesis es una de las dos partes del metabolismo, encargada de la síntesis o bioformación de moléculas orgánicas (biomoléculas) más complejas a partir de otras más sencillas o de los nutrientes, con requerimiento de energía, al contrario que el catabolismo. Aunque anabolismo y catabolismo son dos procesos contrarios, los dos funcionan coordinada y armónicamente, y constituyen una unidad difícil de separar.

El anabolismo es el responsable de:

La formación de los componentes celulares y tejidos corporales y por tanto del

crecimiento.

- El almacenamiento de energía mediante enlaces químicos en moléculas orgánicas.

Las células obtienen la energía del medio ambiente mediante tres tipos distintos de fuente de energía que son:

- La luz solar, mediante la fotosíntesis en las plantas.
- Otros compuestos orgánicos como ocurre en los organismos heterótrofos.
- Compuestos inorgánicos como las bacterias quimiolitotróficas que pueden ser autótrofas o heterótrofas.

El anabolismo se puede clasificar académicamente según las biomoléculas o principios inmediatos que se sintetizan en:

- Replicación o duplicación de ADN.
- Síntesis de ARN. Síntesis de proteínas.
- Síntesis de glúcidos.
- Síntesis de lípidos.

Catabolismo

El **catabolismo** es la parte del **metabolismo** que consiste en la transformación de moléculas orgánicas o biomoléculas complejas en moléculas sencillas y en el almacenamiento de la energía química desprendida en forma de enlaces fosfato de moléculas de ATP, mediante la destrucción de las moléculas que contienen gran cantidad de energía en los enlaces covalentes que la forman.

Tipos de catabolismo

Catabolismo de los hidratos de carbono:

Es el proceso de obtener energía a partir de la glucosa que se realiza por tres mecanismos:

- glucólisis
- respiración celular
- fermentación

Catabolismo de las grasas: Consiste en la rotura de los triglicéridos en ácidos grasos y glicerol, mediante la incorporación de tres moléculas de agua y la ayuda de enzimas llamadas lipasas.

Catabolismo de las proteínas: Es la escisión de las cadenas polipeptídicas en sus aminoácidos mediante enzimas llamadas proteasas. Los aminoácidos obtenidos tienen un catabolismo diferente y algunos pueden formar glucosa mediante la gluconeogénesis.

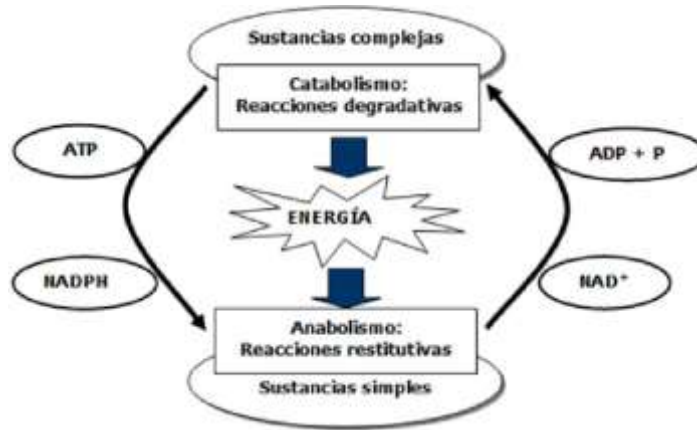


Figura 36. Interdependencia anabolismo - catabolismo.

FUENTES DE MATERIA Y ENERGÍA PARA EL METABOLISMO

La maquinaria de transformación energética de las células está formada por biomoléculas orgánicas. Estas biomoléculas poseen características similares en todas las formas de vida. Sin embargo, existen grandes diferencias entre distintos tipos de células en lo que se refiere a la forma en que obtienen de su entorno el carbono que necesitan para construir los esqueletos de sus biomoléculas constituyentes, así como otros elementos, como el nitrógeno y el azufre, que necesitan incorporar a algunas de ellas. Atendiendo a este criterio podemos distinguir dos tipos de células:

a) Células autótrofas (también llamadas **litótrofas**).- Obtienen el carbono en forma de **CO₂** y otros elementos como el nitrógeno y el azufre en forma de **sales minerales** (nitratos y sulfatos), es decir, toman la materia de su entorno en forma de materia inorgánica y son capaces de transformarla después en materia orgánica. La palabra "autótrofa" significa etimológicamente "que se alimenta por sí misma" aunque quizás sea más adecuada la denominación "litótrofa" ("que se alimenta de piedra") si nos tomamos la licencia poética de llamar "piedra" a la materia inorgánica que estas células toman de su entorno. Las células autótrofas son relativamente autosuficientes ya que no dependen de otras células para alimentarse.

b) Células heterótrofas (también llamadas **organótrofas**).- No pueden utilizar el CO₂ ni las sales minerales, es decir, la materia inorgánica, y por lo tanto deben obtener tanto el carbono como otros elementos en forma de **sustancias orgánicas**, tales como monosacáridos, aminoácidos, etc., que han sido elaboradas previamente por las células autótrofas, de las cuales dependen para su alimentación. La palabra "heterótrofa" significa etimológicamente "que se alimenta de otros".

Por otro lado, aunque todas las células transforman la energía que extraen de su entorno en energía química de los enlaces de sus biomoléculas constituyentes, existen grandes diferencias entre distintos tipos de células en lo que se refiere a la forma en la que obtienen dicha energía. Atendiendo a este segundo criterio también podemos dividir las células en dos grandes grupos:

a) Células fotótrofas ("que se alimentan de la luz").- Obtienen la energía que precisan en forma de energía radiante asociada a las radiaciones electromagnéticas, fundamentalmente la luz visible.

b) Células quimiótrofas.- Obtienen la energía que precisan a partir de reacciones químicas exergónicas, concretamente **reacciones redox**, en las que determinadas sustancias ceden sus electrones (se oxidan) a otras que tienen tendencia a aceptarlos (reduciéndose así), lo cual conlleva un desprendimiento de energía. Estas células pueden a su vez subdividirse en **aerobias**, si utilizan el O₂ comoceptor último de electrones en sus reacciones redox, y **anaerobias**, si utilizan alguna otra sustancia, generalmente de naturaleza orgánica. Muchas células pueden funcionar de modo aeróbico si hay oxígeno disponible y en modo anaeróbico en caso contrario; se dice que son **facultativas**. También hay células quimiótrofas que en ningún caso pueden utilizar el oxígeno e incluso resultan intoxicadas por él; se dice que son **anaerobias estrictas**.

Teniendo en cuenta simultáneamente los dos criterios enunciados podemos clasificar las células vivas en cuatro grandes grupos según sean las fuentes de materia y energía que utilizan para su metabolismo:

Cuadro 4. Clasificación de las células vivas según sean las fuentes de materia y energía.

| TIPO DE CÉLULA | FUENTE DE MATERIA | FUENTE DE ENERGÍA |
|--------------------|--------------------|-------------------|
| Fotolitótrofas | Materia inorgánica | Luz |
| Fotoorganótrofas | Materia orgánica | Luz |
| Quimiolitótrofas | Materia inorgánica | Reacciones redox |
| Quimioorganótrofas | Materia orgánica | Reacciones redox |

Es conveniente reflexionar sobre el hecho de que las células quimiolitótrofas y quimioorganótrofas utilizan respectivamente la materia inorgánica y la materia orgánica no sólo como materias primas para la construcción de sus biomoléculas sino también como sustancias dadoras de electrones en las reacciones redox mediante las cuales obtienen su energía. El mismo doble papel desempeñan respectivamente la materia inorgánica y la materia orgánica en las células fotolitótrofas y fotoorganótrofas, ya que, como veremos más adelante, éstas células, en realidad, también obtienen su energía a partir de reacciones redox, las cuales, a diferencia de las que tienen lugar en las células quimiótrofas, son endergónicas, por lo que requieren un aporte energético en forma de luz.

La mayor parte de las células vivas son o bien fotolitótrofas (células verdes de las plantas superiores, algas, cianofíceas y bacterias fotosintéticas) o bien

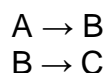
quimioorganótrofas (células animales, células de los hongos y la mayor parte de los microorganismos). Sin embargo existe un reducido grupo de microorganismos quimiolitótrofos y fotoorganótrofos que no deben ser considerados meras anécdotas de la naturaleza, ya que algunos de ellos desempeñan importantes papeles en la biosfera (por ejemplo la fijación del nitrógeno atmosférico por algunos microorganismos del suelo).

Es importante observar que no todas las células de un organismo pluricelular determinado son necesariamente de la misma clase: por ejemplo en las plantas superiores las células de las partes verdes (hojas y a veces tallos) son fotolitótrofas, mientras que las células de la raíz son quimioorganótrofas y dependen nutritivamente de los productos elaborados por las primeras. Es más, algunas células poseen una gran flexibilidad metabólica: las células de las hojas en las plantas superiores son fotolitótrofas durante el día y quimioorganótrofas durante la noche.

RUTAS METABÓLICAS

Los centenares de reacciones químicas que integran el metabolismo no tienen lugar de manera independiente unas de otras, sino que están articuladas en largas *secuencias de reacciones consecutivas ligadas entre sí por intermediarios comunes*, de manera que el producto de cada reacción resulta ser el sustrato o reactivo de la siguiente. Estas secuencias de reacciones reciben el nombre de **rutas metabólicas**.

La existencia de un intermediario común entre dos reacciones consecutivas hace posible la transferencia de energía química entre ellas. Por ejemplo en dos reacciones consecutivas tales como:



Parte de la energía química que reside en los enlaces de la sustancia **A** puede transferirse hasta la sustancia **C** a través del intermediario común **B**. Así, sobre la base de este **principio del intermediario común**, las rutas metabólicas constituyen eficaces medios para transferir la energía química desde aquellas reacciones exergónicas que la liberan hasta aquellas, endergónicas, que la requieren.

Las rutas metabólicas a su vez están organizadas en un complejo entramado en el que unas están conectadas con otras a través de **encrucijadas metabólicas**, en las cuales hay un metabolito común a dos o más rutas.

FASES DEL METABOLISMO: CATABOLISMO Y ANABOLISMO

El metabolismo se divide en dos fases principales: el **catabolismo** y el **anabolismo**.

El catabolismo es la fase degradativa del metabolismo, en la cual moléculas orgánicas complejas y relativamente grandes como los polisacáridos o las

proteínas se degradan para dar lugar a moléculas de estructura más simple y menor tamaño tales como el ácido láctico, CO₂, agua, amoníaco o urea. Este proceso degradativo va acompañado de la liberación de la energía química inherente a la estructura de las moléculas orgánicas que se degradan; es por lo tanto un proceso exergónico. Muchas reacciones del catabolismo suponen una oxidación, es decir, una pérdida de electrones, de los sustratos orgánicos que se degradan. En resumen, el catabolismo es un proceso **degradativo, oxidante y exergónico**.

En contrapartida, el anabolismo es la fase constructiva del metabolismo, en la cual tiene lugar la síntesis de los componentes moleculares de las células tales como los ácidos nucleicos, las proteínas, los polisacáridos y los lípidos a partir de moléculas precursoras de estructura más sencilla y menor tamaño. Este proceso biosintético requiere energía química para poder ser llevado a cabo, es decir, es un proceso endergónico. La construcción de biomoléculas orgánicas altamente hidrogenadas requiere electrones para reducir a sus precursores relativamente oxidados. En resumen, el anabolismo es un proceso **constructivo, reductor y endergónico**.

Las rutas metabólicas que forman parte del catabolismo se denominan **rutas catabólicas**, mientras que las que forman parte del anabolismo se denominan **rutas anabólicas**. Existen también algunas rutas que, en todo o en parte, son comunes al catabolismo y al anabolismo; reciben el nombre de **rutas anfibólicas**.

De lo expuesto anteriormente podría extraerse la falsa impresión de que catabolismo y anabolismo son procesos que transcurren por separado en el espacio y en el tiempo. En realidad ambos tienen lugar simultáneamente en el citoplasma celular puesto que las células están permanentemente en un proceso de renovación de sus componentes moleculares. Habría que considerar al catabolismo y al anabolismo, más que como fases, como dos "facetas" o "áreas de actividad" de una unidad funcional única que es el metabolismo.

CONEXIONES ENERGÉTICAS EN EL METABOLISMO

Como vimos en el apartado anterior el metabolismo incluye procesos que liberan energía (los procesos exergónicos del catabolismo) y otros que la consumen (los procesos endergónicos del anabolismo). Esta liberación y este consumo de energía no tienen por qué ocurrir al mismo tiempo ni en el mismo lugar de la célula. Por lo tanto debe existir algún mecanismo que almacene esta energía y la transporte desde los lugares en que se libera hasta aquellos en que se consume, es decir, algún tipo de conexión energética entre el catabolismo y el anabolismo.

Dos son los sistemas que universalmente utilizan las células para llevar a cabo este almacenamiento y transporte de energía que conecta el catabolismo con el anabolismo: el sistema **ADP/ATP** y el sistema de los **coenzimas transportadores de electrones**:

1.-EL SISTEMA ADP/ATP.

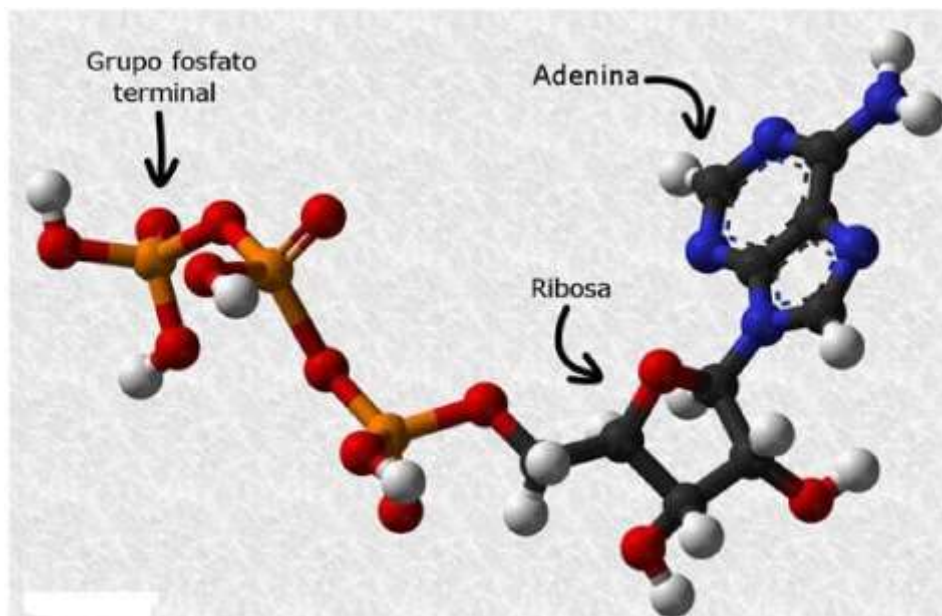


Figura 37. El sistema ADP/ATP.

Puesto que las células no pueden utilizar el calor como fuente de energía (son esencialmente isotermas), la energía que se desprende en los procesos exergónicos del catabolismo debe ser recuperada y almacenada en alguna otra forma más útil para producir trabajo, tal como la energía química inherente a ciertos enlaces.

Las células recuperan y almacenan la energía desprendida durante los procesos degradativos del metabolismo en forma de la energía química del enlace fosfato terminal del **trifosfato de adenosina (ATP)** (Figura 37). La particular estructura química de este nucleótido hace que el enlace anhídrido que une sus grupos fosfato segundo y tercero sea un enlace rico en energía, es decir, un enlace que consume una cantidad importante de energía cuando se forma y que libera una cantidad importante de energía cuando se rompe.

La energía desprendida en las reacciones exergónicas del catabolismo se utiliza para formar enlaces fosfato terminales del ATP en un proceso endergónico que se denomina **fosforilación** y que tiene lugar mediante la reacción:

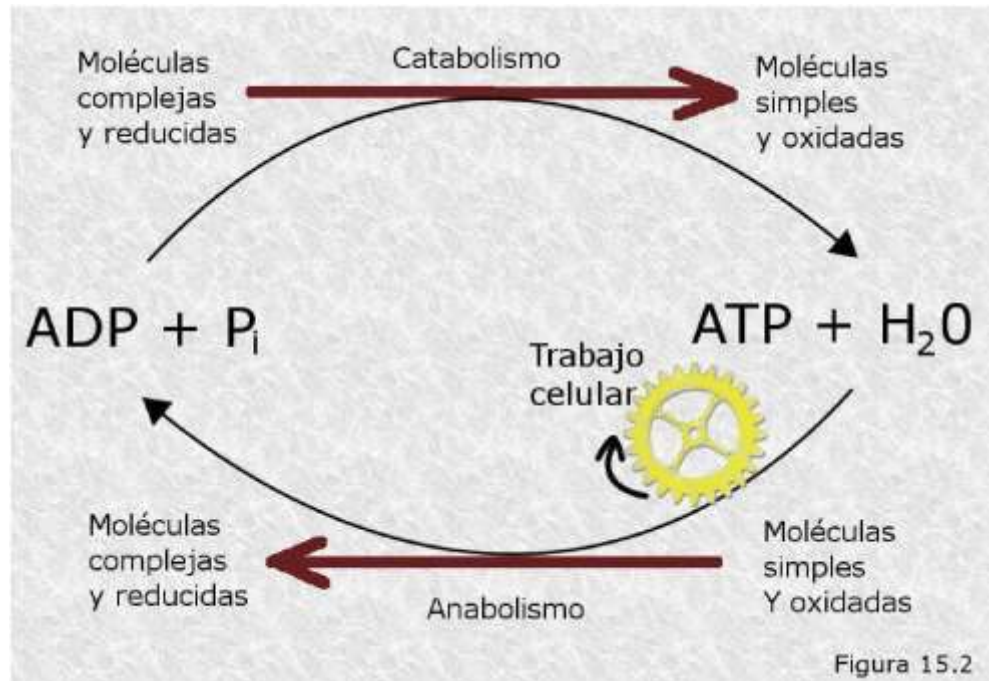
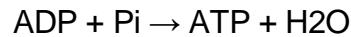


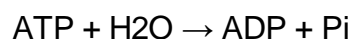
Figura 38. Existen dos mecanismos para acoplar el desprendimiento de energía durante el catabolismo con la síntesis de ATP:

a) Fosforilación a nivel de sustrato.- Se realiza en dos etapas. En la primera se forma un compuesto intermediario con algún enlace rico en energía. En la segunda se utiliza la energía desprendida en la hidrólisis de este compuesto para llevar a cabo la fosforilación.

En el estudio de las distintas rutas catabólicas tendremos ocasión de ver varios ejemplos de este proceso.

b) Fosforilación acoplada al transporte electrónico.- El transporte de electrones a través de unas cadenas de transportadores ubicados en la membrana mitocondrial interna o en la membrana tilacoidal de los cloroplastos libera energía, la cual es utilizada por un enzima, la *ATP-sintetasa*, para fosforilar el ADP a ATP. Si este proceso tiene lugar en la mitocondria se denomina **fosforilación oxidativa** y si tiene lugar en el cloroplasto **fosforilación fotosintética**.

La energía así almacenada en forma de los enlaces fosfato terminales del ATP puede ahora ser ahora utilizada para impulsar las reacciones endergónicas del anabolismo mediante el acoplamiento de éstas con el proceso exergónico que es la **hidrólisis** del ATP:



Este acoplamiento se realiza mediante enzimas que hacen posible la reacción

global. Generalmente el ATP cede en primer lugar su grupo fosfato terminal al sustrato de la reacción para dar lugar a un intermediario fosforilado que a continuación se hidroliza para rendir fosfato inorgánico y el producto de la reacción.

De lo dicho hasta aquí se deduce que el ATP viene a ser una especie de "moneda energética" de la célula ya que es la molécula que almacena y transporta la energía química desde los procesos que la liberan hasta los que la consumen. Aunque existen otros compuestos cuya hidrólisis libera mucha más energía que la del ATP, el "cuántum" energético inherente a esta molécula parece ser el más adecuado para dosificar la energía de una manera eficaz, atendiendo así al principio de máxima economía que rige el metabolismo celular.

Por último, aunque el ATP es con mucho la molécula más utilizada por las células como almacén y transporte de energía, otros nucleótidos trifosfato pueden desempeñar funciones similares, como por ejemplo el UTP en la síntesis de polisacáridos o el GTP en la síntesis de proteínas. El ATP puede ceder su grupo fosfato terminal a diferentes nucleótidos difosfato para obtener los correspondientes nucleótidos trifosfato.

5.2.-COENZIMAS TRANSPORTADORES DE ELECTRONES.

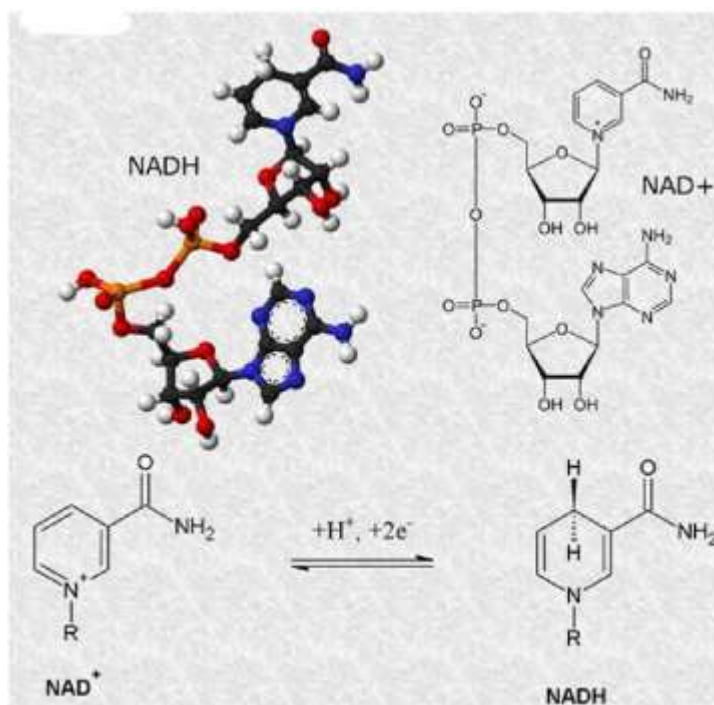


Figura 39. NADH⁺, coenzima transportadora de electrones.

Los electrones constituyen otro eficaz vehículo para canalizar hacia el anabolismo la energía química desprendida en el catabolismo. Como sabemos, muchas reacciones del catabolismo suponen una oxidación de los sustratos orgánicos que se degradan, es decir, una pérdida de electrones por parte de éstos, mientras que la biosíntesis anabólica de moléculas orgánicas

altamente hidrogenadas requiere electrones para reducir a sus precursores relativamente oxidados. Puesto que los procesos que liberan electrones y los que los requieren no tienen por qué suceder simultáneamente ni en el mismo lugar de la célula, debe existir algún mecanismo para transportar dichos electrones entre estos dos tipos de proceso. Este mecanismo está integrado por una serie de **coenzimas transportadores de electrones**. Se trata de coenzimas cuya particular estructura química les permite aceptar o ceder electrones, es decir reducirse u oxidarse, de modo reversible.

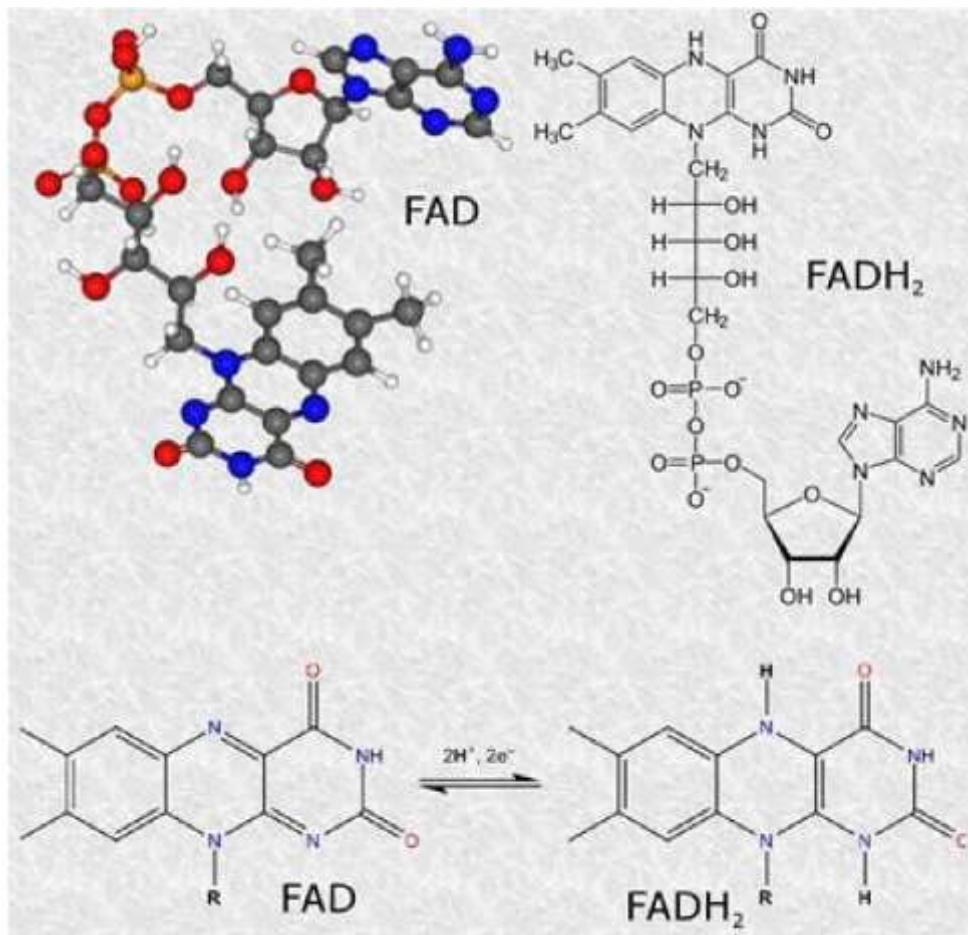


Figura 40. Flavina transportadora de electrones

Existen varias coenzimas transportadoras de electrones. Químicamente todos son nucleótidos que poseen como parte de su estructura alguna de las bases nitrogenadas **nicotinamida** y **flavina**, en las cuales reside precisamente su capacidad para aceptar o ceder electrones. Estas bases nitrogenadas, que son diferentes a las que se encuentran habitualmente en los ácidos nucleicos, no pueden ser sintetizadas por la mayoría de los animales superiores, por lo que éstos deben incorporarlas en la dieta en forma de las vitaminas **ácido nicotínico** y **riboflavina** respectivamente. En la siguiente tabla se reflejan los coenzimas transportadores más importantes en sus formas oxidada y reducida. Las figuras 15.3 y 15.4 muestran las estructura química de los coenzimas más importantes.

Cuadro 5. Forma oxidada y forma reducida de los transportadores de electrones

| FORMA OXIDADA | FORMA REDUCIDA |
|----------------------|------------------------|
| NAD ⁺ | NADH + H ⁺ |
| NADP ⁺ | NADPH + H ⁺ |
| FAD | FADH ₂ |
| FMN | FMN ₂ |

Se puede apreciar que los electrones siempre son aceptados o cedidos por pares, bien en forma de tales electrones o de átomos de hidrógeno, siendo acompañados en este último caso por los correspondientes protones.

No todos los electrones que se desprenden en las oxidaciones del catabolismo son canalizados directamente hacia las biosíntesis reductoras del anabolismo, sino que muchos de ellos son cedidos por los coenzimas transportadores a la *cadena de transporte electrónico* mitocondrial con el objeto de obtener ATP mediante el proceso de fosforilación oxidativa.

El estudio que hemos realizado sobre estos aspectos generales del metabolismo nos permitirá abordar con mayor garantía de comprensión el análisis detallado de las rutas del catabolismo y el anabolismo, cosa que haremos en los próximos temas.

METABOLISMO PRIMARIO DE LAS PLANTAS

Se llama metabolismo primario de las plantas a los procesos químicos que intervienen en forma directa en la supervivencia, crecimiento y reproducción de las plantas. Son procesos químicos pertenecientes al metabolismo primario de las plantas: la fotosíntesis, la respiración, el transporte de solutos, la translocación, la síntesis de proteínas, la asimilación de nutrientes, la diferenciación de tejidos, y en general la formación de carbohidratos, lípidos y proteínas que intervienen en estos procesos o son parte estructural de las plantas.

Son metabolitos primarios de las plantas los compuestos químicos que intervienen en los procesos mencionados: los aminoácidos destinados a la formación de proteínas, los nucleótidos, los azúcares, los acilglicéridos. Debido a su carácter universal en el Reino de las plantas, los procesos que intervienen en el metabolismo primario y sus metabolitos, se encuentran en todas las plantas sin excepción.

El concepto de metabolitos primarios fue creado en contraposición al de "metabolitos secundarios de las plantas", que no cumplen un rol directo en la supervivencia de la planta y por lo tanto su ausencia no es letal para ésta,

aunque sí cumplen importantes roles de defensa, atracción de polinizadores, entre otros.

METABOLISMO SECUNDARIOS DE LAS PLANTAS

También metabolitos secundarios de las plantas, se denomina a los compuestos químicos sintetizados por las plantas que cumplen funciones no esenciales en ellas, de forma que su ausencia no es fatal para la planta, ya que no intervienen en el metabolismo primario de las plantas. Los metabolitos secundarios de las plantas intervienen en las interacciones ecológicas entre la planta y su ambiente. También se diferencian de los metabolitos primarios en que cada uno de ellos tiene una distribución restringida en el Reino de las plantas, a veces a sólo una especie o un grupo de ellas, por lo que muchos de ellos son útiles en Botánica Sistemática.

Por muchos años el valor adaptativo de la mayoría de los metabolitos secundarios fue desconocido. Muchas veces fueron pensados simplemente como productos finales de procesos metabólicos, sin función específica, o directamente como productos de desecho de las plantas. En general fueron percibidos como insignificantes por los biólogos por lo que históricamente han recibido poca atención por parte de los botánicos. Muchas de las funciones de los metabolitos secundarios aún son desconocidas.

El estudio de estas sustancias fue iniciado por químicos orgánicos del siglo XIX y de principios del siglo XX, que estaban interesados en estas sustancias por su importancia como drogas medicinales, venenos, saborizantes, pegamentos, aceites, ceras, y otros materiales utilizados en la industria. De hecho, el estudio de los metabolitos secundarios de las plantas estimuló el desarrollo de las técnicas de separación, la espectroscopía para dilucidar su estructura, y metodologías de síntesis que hoy constituyen la fundación de la química orgánica contemporánea.

En estudios biológicos más recientes se determinó que la mayoría de los metabolitos secundarios cumplen funciones de defensa contra predadores y patógenos, actúan como agentes alelopáticos (que son liberados para ejercer efectos sobre otras plantas), o para atraer a los polinizadores o a los dispersores de las semillas (Swain 1973, Levin 1976, Cronquist 1977).

El reconocimiento de propiedades biológicas de muchos metabolitos secundarios ha alentado el desarrollo de este campo, por ejemplo en la búsqueda de nuevas drogas, antibióticos, insecticidas y herbicidas. Además, la creciente apreciación de los altamente diversos efectos biológicos de los metabolitos secundarios ha llevado a reevaluar los diferentes roles que poseen en las plantas, especialmente en el contexto de las interacciones ecológicas.

FOTOSÍNTESIS

Introducción, naturaleza de la luz, clorofila y pigmentos accesorios, estructura del cloroplasto y de las membranas fotosintéticas, fases de la fotosíntesis, reacciones de luz, fotosistemas, fotofosforilación, efectos de herbicidas en el transporte fotosintético de los electrones, reacciones de oscuridad, plantas con el ciclo dicarboxílico, fotorespiración, plantas con el metabolismo ácido de crasuláceas (MAC o CAM), **ciclo del carbono**.

INTRODUCCIÓN

La vida en la tierra depende fundamentalmente de la energía solar, la cual es atrapada mediante el proceso fotosintético, que es responsable de la producción de toda la materia orgánica que conocemos. La materia orgánica comprende los alimentos que consumimos diariamente tanto nosotros como los animales, los combustibles fósiles (petróleo, gas, gasolina, carbón); así como la leña, madera, pulpa para papel, inclusive la materia prima para la fabricación de fibras sintéticas, plásticos, poliéster, etc.

La cantidad de carbono fijado por la fotosíntesis es espectacular, como lo demuestran las cifras de la producción anual de materia orgánica seca, estimada en $1,55 \times 10^{11}$ toneladas, con aproximadamente 60% formada en la tierra, el resto en océanos y aguas continentales.

Los organismos que en el curso de la evolución aprendieron a usar la energía solar y a transformarla en energía química son los llamados autótrofos, que están representados por bacterias y organismos del Reino Vegetal.

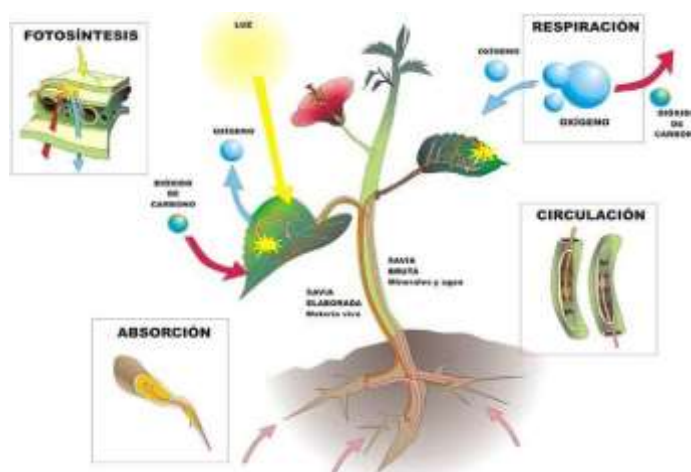


Figura 41. Fotosíntesis y respiración dos procesos del metabolismo.

NATURALEZA DE LA LUZ

La luz blanca se separa en diferentes colores (longitudes de ondas) al pasar a través de un prisma. La longitud de onda (λ) se define como la distancia entre dos crestas o dos valles de una onda. La energía es inversamente proporcional a la longitud de onda; las longitudes de onda largas tienen menos energía que las de longitudes de onda cortas. Teoría corpuscular: La energía de un fotón se puede calcular con la ecuación: $E = h f$

Donde: h = constante de Planck

f = frecuencia de vibración ($\text{mhos} \cdot \text{s}^{-1}$)

$$f = \ddot{i} = v \cdot \lambda^{-1}$$

$$E = \quad \text{molécula}$$

Donde h es la constante de Planck con valor de $6,6262 \times 10^{-34} \text{ J.S}$ (ó $6,62 \times 10^{-27} \text{ erg} \cdot \text{s}^{-1}$), $c = v$ velocidad de la luz $3,0 \times 10^8 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ y λ la longitud de onda de la radiación en milimicra o nanometro ($\text{m}\mu = \text{nm}$).

$$E =$$

Donde: N = número de Avogadro = $6,02 \times 10^{23}$.

$$E =$$

La energía del fotón es inversamente proporcional a la longitud de onda (λ).

El ordenamiento de los colores del espectro luminoso, está determinado por las longitudes de onda de la luz. La luz visible es una pequeña parte del espectro electromagnético comprendida entre 390 nm y 770 nm (nanómetro).

La luz se propaga por ondas electromagnéticas concéntricas.

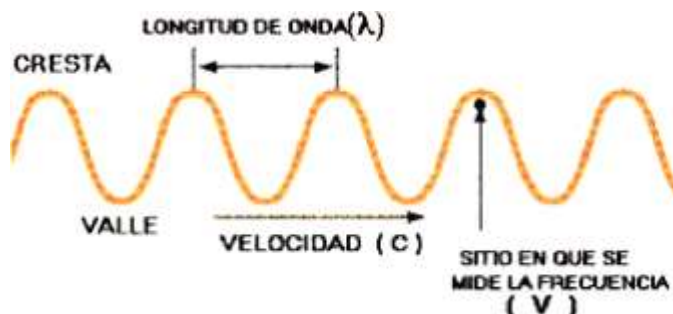


Figura 42. Detalles de una longitud de onda.

La luz se comporta como una onda y como una partícula. Las propiedades de onda de la luz incluyen la curvatura de la onda cuando pasa de un medio a otro (Ej. A través de un prisma, el arcoiris, un lápiz introducido en un vaso de agua,

etc.). Las propiedades de partícula se demuestran mediante el efecto fotoeléctrico. Por ejemplo cuando un átomo de Zn se expone a la luz ultravioleta, se carga positivamente (Zn^+), debido a que la energía luminosa expulsa electrones del Zinc. Estos electrones pueden crear una corriente eléctrica. Los elementos sodio, potasio y selenio tienen una longitud de onda crítica, es la longitud de onda máxima (visible o invisible) que produce un efecto fotoeléctrico. En 1905, Albert Einstein desarrolló una teoría en la que se propuso que la luz estaba compuesta de partículas llamadas fotones, cuya energía es inversamente proporcional a la longitud de onda de la luz. La luz tiene propiedades que se pueden explicar tanto por el modelo de onda como por el de partícula.

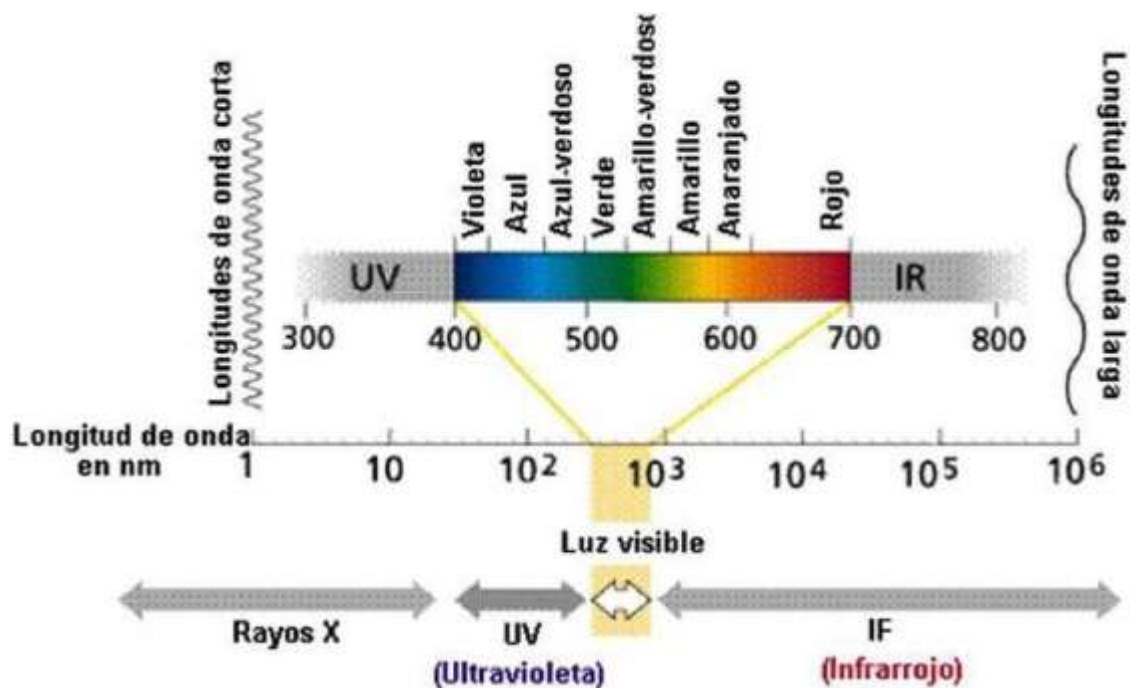


Figura 43. La luz visible sólo representa una pequeña porción del espectro electromagnético.

La distribución de los colores en el espectro está determinada por la longitud de onda de cada uno de ellos, a mayor longitud de onda más tendiente al rojo es el color. Los pigmentos de los cloroplastos de las hojas pueden absorber más del 90% de las longitudes de onda del violeta y del azul y un porcentaje casi tan elevado de las correspondientes al rojo y el anaranjado.

Fuente: <http://www.efn.uncor.edu/dep/biologia/intrbiol/fotosint.htm>

Cuadro 6. Definición y características de varias regiones de longitud de onda de la luz.

| Color | Rango de longitud de onda (nm) | Longitud de onda representativa | Frecuencia (Ciclos/S) o hertzios | Energía (KJ/mol) |
|--------------|--------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|------------------|
| Ultravioleta | <400 | 254 | 11.8×10^{14} | 471 |
| Violeta | 400-425 | 410 | 7.31×10^{14} | 292 |
| Azul | 425-490 | 460 | 6.52×10^{14} | 260 |
| Verde | 490-560 | 520 | 5.77×10^{14} | 230 |
| Amarillo | 560-585 | 570 | 5.26×10^{14} | 210 |
| Anaranjado | 585-640 | 620 | 4.84×10^{14} | 193 |
| Rojo | 640-740 | 680 | 4.41×10^{14} | 176 |
| Infrarrojo | >740 | 1400 | 2.14×10^{14} | 85 |

Mientras la longitud de onda de la luz visible sea más larga, más rojo es el color y sí la longitud de onda es más corta ésta, estará más cerca del lado violeta del espectro. Las longitudes de onda mayores que las rojas, se conocen como infrarojas y las más cortas que las violetas son ultravioletas.

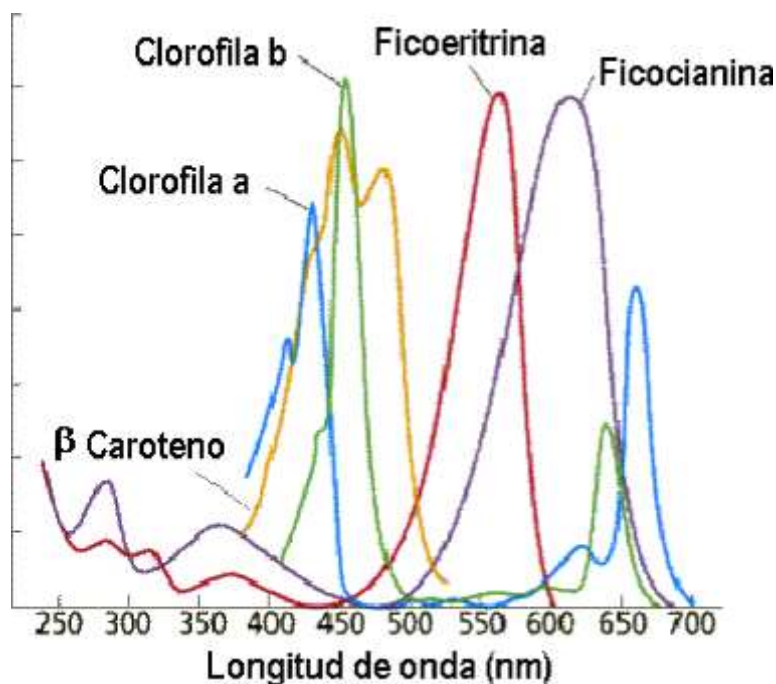


Figura 44. Según Curtis 2003, en el esquema se muestran los espectros de absorción de la clorofila (a y b), carotenos, ficoeritrina y ficocianina. Como puede observarse cada pigmento tiene un pico de absorción característico.

De la luz blanca de 400 a 760 nm los más eficientes son:

Azul de 419 a 492nm (azul corto de 419 a 450nm y azul largo de 450 a 492nm)
y

Rojo de 640 a 760 nm (rojo corto de 640 a 700nm y rojo largo de 700 a 760nm)

Energía del azul es >> que Energía del rojo:

$$E_{\text{azul}} = 2.86 \cdot 10^{-19} \text{ J} \quad E_{\text{rojo}} = 2.7806 \cdot 10^{-19} \text{ J} \quad < \lambda > \text{ fotosíntesis}$$

Sistemas de unidades de medida de la luz

A) Unidades Fotométricas.

- Iluminación o luminosidad de ambiente, iluminancia (medición en lux, con fotómetro o luxímetro).
- Energía luminosa, (medición en Talbot)
- Flujo luminoso, (medición en lúmen)

B) Unidades radiométricas.

- Radiómetros (medición con Radiómetro líquido en Cal . cm² ó Joule, erg, watt).
- Energía radiante: erg, joule, calorías
- Flujo radiante: erg⁻¹ . cm⁻²; watt . cm⁻².

Foot – candle (pie de vela, candelas pie, ó bujías pie)

$$1 \text{Foot – candle (Fc)} = 10,7 \text{ lux}$$

Pero para hacer más eficiente la absorción de luz las plantas utilizan sistemas "trampa" o fotosistemas, con un pigmento principal como la clorofila a o b y diferentes pigmentos accesorios. A través de estos sistemas los autótrofos pueden aprovechar mejor la energía lumínica.



Figura 45. Los cloroplastos cuentan con un centro de reacción ocupado generalmente por clorofila (a o b) en las plantas terrestres, hacia donde es dirigida la energía lumínica, como se verá a continuación.

Antes de comenzar a describir las reacciones químicas que ocurren en la etapa fotodependiente es conveniente ubicarnos espacialmente en el lugar de la planta donde ocurren.

Los cloroplastos, se ubican en las células expuestas a la luz, es decir, aquellas partes de la planta que son fotosintéticamente activas.

En el caso de las plantas superiores la fotosíntesis ocurre principalmente en las hojas, y dentro de éstas, en cloroplastos ubicados en células del parénquima, que es uno de los tejidos de la hoja. Las hojas, además, poseen pequeñas aberturas o "estomas", formadas por células que pueden agrandar o cerrar la abertura y que permiten, de este modo, regular la entrada o salida de agua y gases, como el oxígeno y dióxido de carbono.

Los cloroplastos son organelas formadas por una doble membrana externa y vesículas apiladas formando estructuras llamadas grana. Cada grana está formada por varios tilacoides.

El término Quanosoma corresponde morfológicamente a la unidad básica fotosintética (UBF).

Efecto Emerson

Durante la etapa luminosa o fotónica de la fotosíntesis que se realiza en los Tilacoides que forman Grana, los fotones de luz solar son absorbidos por las 2 moléculas clorofílicas de antena o centros de reacción primaria, la P700 en PSI y la P680 en el PSII. Como en la etapa luminosa se sintetiza ATP.

Rober Emerson de la Universidad de Illinois, en la década de los 50, se interesó en la razón por la que la luz roja con longitudes de onda mayores de 690 nm es tan ineficiente para inducir actividad fotosintética, aunque gran parte de ella se absorbe por la clorofila *a* in vivo. Su equipo de investigación descubrió que si se proporciona una luz de longitud de onda más corta al mismo tiempo que otras longitudes del rojo (que son más largas), la fotosíntesis era aún más rápida que la suma de las tasas individuales que se producen al aplicar por separado cualquiera de ambos colores. A este sinergismo o intensificación se le denominó efecto Emerson.

También habrían propuesto que el ATP que se sintetiza en la etapa fotónica de la fotosíntesis proviene de los propios fotones de luz solar, es decir, el fósforo inorgánico que se acopla al ADP para formar ATP proviene de los cuantos de energía luminosa de los fotones lumínicos, este mecanismo de liberación de ATP se dio a conocer como fotofosforilación (síntesis de ATP gracias a los fotones de luz solar). En este mecanismo ningún sistema enzimático u orgánico distinto de los fotones de luz solar sirve como fuente primaria de energía para fosforilar al ADP en obtención de ATP.

Al mismo tiempo establecieron que dentro de los Tilacoides existen 2 sistemas pigmentarios diferentes: el PSI con una molécula de antena o centro de

reacción primaria la P700 y el PSII con otra molécula de antena o centro de reacción primaria la P700 y el PSII con otra molécula de clorofila de antena la P680. La denominación de P700 (pigmento) se debe a que la máxima absorción de la luz solar se produce a los 700 nm (nanómetros) mientras que en el PSII la P680 absorbe las longitudes de onda de los colores Azul y rojo a los 680 nm.

En cada Fotosistema ocurre un verdadero acto fotoquímico diferente, cuando los fotones de luz solar son transportados hacia la P700 esta se blanquea, se Oxida y pierde 1 electrón de alta energía química hacia un nivel energético superior que es aceptado por un 1° aceptor de electrones de naturaleza desconocida (Q_e^-), mientras que en el PSII al oxidarse la P680 por la absorción de fotones de luz solar también queda transformado en un ión por la pérdida de 1 electrón que es liberado hacia otro nivel energético superior y aceptado por otro aceptor de naturaleza desconocida (Z_e^-).

Como consecuencia de ellos las 2 moléculas de clorofila principal quedan transformados en Iones ($P700^+ / P680^+$), el camino del electrón perdido es diferente en los 2 fotosistemas, mientras que en el PSI el e^- aceptado por Q_e^- es dado hacia la Ferredoxina y esta lo cede a la coenzima $NADP^+$ para obtener $NADPH_2$ (fuente altamente reductora).

En cambio el e^- aceptado por Z_e^- siguen una trayectoria en bajada pasando por aceptores de electrones intermedios (citocromob, plastoquinona, citocromo f, plastocianina), entre el citocromo f y la plastocianina ocurre síntesis de ATP por fosforilación, que ahora se conoce de manera diferente como se detalla más adelante.

Los dos fotosistemas trabajan de forma independiente pero relacionados, es decir, termina de actuar el PSI para comenzar el PSII.

Ligado al PSII está la fotólisis del H_2O (ruptura de la molécula de H_2O debido a la acción directa de la luz solar) si bien este término es aceptado la molécula de H_2O no se rompe por acción directa de la luz solar sino por el Poder oxidante de la $P680^+$ Ionizada, esta molécula de clorofila hace que la molécula de H_2O se rompa en 1 electrón, 2 protones H^+ y O_2 molecular que es liberado hacia la atmósfera a través de los Estomas foliares.

El Electrón es aceptado nuevamente por el pigmento $P680^+$ recuperando su estabilidad molecular, los 2 Protones H^+ son ceptado por la coenzima $NADP^+$ para obtener $NADPH_2$. En tanto que el pigmento $P700^+$ recupera su estabilidad molecular cuando la Plastocianina le cede el electrón que posee.

Entonces la Hipótesis de un Fotosistema Doble hace referencia que en la etapa luminosa hay 2 Sistemas pigmentario diferentes dentro de los Tilacoides, el PSI y el PSII donde en cada uno de ellos ocurre un acto fotoquímico diferente y

donde los Fotones de luz solar quedan convertidos en energía química (ATP y NADPH₂) sustancias orgánicas que serán utilizadas en la etapa oscura para sintetizar moléculas orgánicas (Carbohidratos).

Fases de la fotosíntesis

I → Absorción de la luz

II → Transformaciones de energía absorbida en energía química (ATP y NADPH₂).

III → Utilización de energía química para formación de carbohidratos (para la síntesis orgánica (CHO)).

Partes del cloroplasto

1. Porción lipo-proteica (tilacoides y lamelas), aquí se encuentran los pigmentos fotosintéticos y se dan la fase I y II.
2. Estroma, aquí se la síntesis de carbohidrato (Fase III).

Tipos de planta

- Planta C₃ el primer producto que se forma con el CO₂ es de 3C. (Son plantas de clima templado). En el cloroplasto se dan las fases I, II y III de la fotosíntesis.
- Planta C₄ el primer producto que se forma con el CO₂ es de 4C. (son plantas de clima tropical). Tienen 2 tipos de cloroplasto (uno en el mesófilo donde se dan la fase I y II y otro en la vaina donde se dan las fases I, II y III de la fotosíntesis).

Bibliografía

- Taiz Lincoln & zieger. 1991 – 1988. Plant Physiology.
 Salisbury & Roes. 1992. Plant Physiology.
 Hopkins Willian G. 1995 – 1998. Plant Physiology.
 Coll et el. 1997 – 1992. Fisiología Vegetal.
 Azcon et al. 1993. Fisiología y Bioquímica vegetal. Lawlor. 1955. Fotosíntesis.
 Hall & Rao. 1955. Fotosíntesis
 Pessaraki. 1996. Han book of Photsyntheses.
 Parknobel. 1993. Biophysical Plant Physiology.

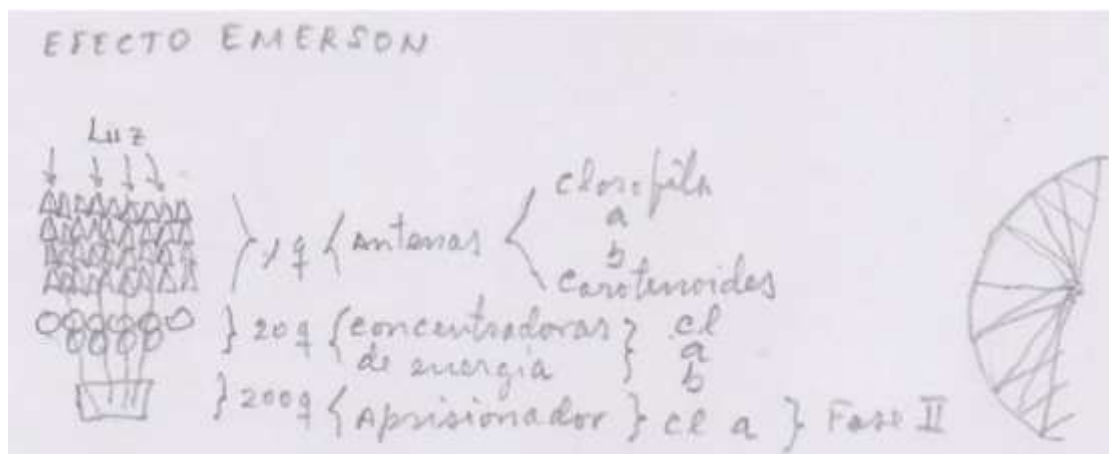


Figura 46. Por 1 mol de O_2 producido interviene 2500 moléculas de clorofina, 10 quanta. Un quantum = 250 moléculas de clorofila. Con luz blanca la eficiencia es de 100%, con Rojo lejano (710 nm) la eficiencia es de 10%, Con luz roja corta (660 nm) la eficiencia es de 42%; con 710 + 660 nm al mismo tiempo la eficiencia es de 72%.

Fotosistemas de la fotosíntesis

Fotosistema I = PSI

Fotosistema II = PSII

Condiciones para la ruptura de la molécula de H_2O

1. Alta inestabilidad eléctrica del P680 (Centro de demanda de cargas negativas).
2. Estructura polar del H_2O
3. Alta radiación energética (alto nivel energético de radiación de longitud de onda corta).
4. Presencia en el lúmen de Mn.

ESPECTRO DE ABSORCIÓN DE LA CLOROFILA A Y B

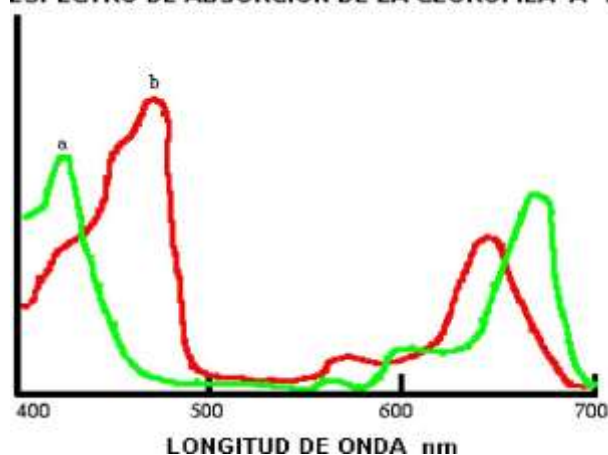


Figura 47. Espectro de absorción de la Clorofila a y b.

Un pigmento es cualquier sustancia que absorbe luz. El color de un pigmento es el resultado de la longitud de onda reflejada (no absorbida). La clorofila, el pigmento verde de todas las células fotosintéticas, absorbe todas las longitudes de onda de la luz visible excepto el verde, el cual es reflejado y percibido por nuestros ojos. Un cuerpo negro absorbe todas las longitudes de onda que recibe. El pigmento blanco o colores claros reflejan todo o casi todas las longitudes de onda. Las sustancias coloreadas tienen su espectro de absorción característico, que es el patrón de absorción de un pigmento dado.

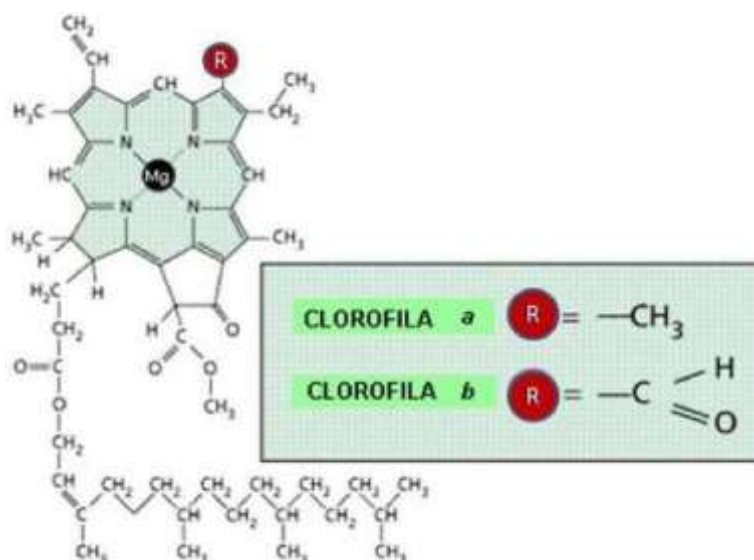


Figura 48. Fórmula estructural de la clorofila a y b.

La clorofila es una molécula compleja, formada por cuatro anillos pirrólicos, un átomo de magnesio y una cadena de fitol larga ($C_{20}H_{39}OH$).



Figura 49. Modelo de la molécula de clorofila.

En las plantas y otros organismos fotosintéticos existen diferentes tipos de clorofilas. La clorofila a se encuentra en todos los organismos fotosintéticos (plantas, ciertos protistas, proclorobacterias y cianobacterias). Los pigmentos accesorios absorben energía que la clorofila es incapaz de absorber. Los pigmentos accesorios incluyen clorofila b (en algas y protistas las clorofilas c,d

y e), xantofila(amarilla) y caroteno, anaranjado (como el beta caroteno, un precursor de la vitamina A). La clorofila a absorbe las longitudes de ondas violeta, azul, anaranjado- rojizo, rojo y pocas radiaciones de las longitudes de onda intermedias (verde-amarillo-anaranjado).

Los pigmentos accesorios actúan como antena, conduciendo la energía que absorben hacia el centro de reacción. Una molécula de clorofila en el centro de reacción puede transferir su excitación como energía útil en reacciones de biosíntesis.

Los carotenoides absorben la longitud de onda azul y un poco en el verde, estos pigmentos tienden a ser rojos, amarillos o anaranjados. La clorofila b absorbe en el azul, y en el rojo y anaranjado del espectro (con longitudes de ondas largas y baja energía). La parte media del espectro compuesta por longitudes de onda amarilla y verde es reflejada y el ojo humano la percibe como verde. La distribución de los organismos fotosintéticos en el mar se debe a esto. La longitud de onda corta (más energética) no penetra más allá de 5 metros de profundidad. La habilidad de absorber parte de la energía de longitud de onda larga (menos penetrante) debe haber sido una ventaja para las algas fotosintéticas primitivas, que eran incapaces de encontrarse todo el tiempo en la zona superior (fótica) del mar. Las algas verdes y pardas se instalan en la zona litoral superior, en tanto que en la zona profunda predominan las algas rojas.

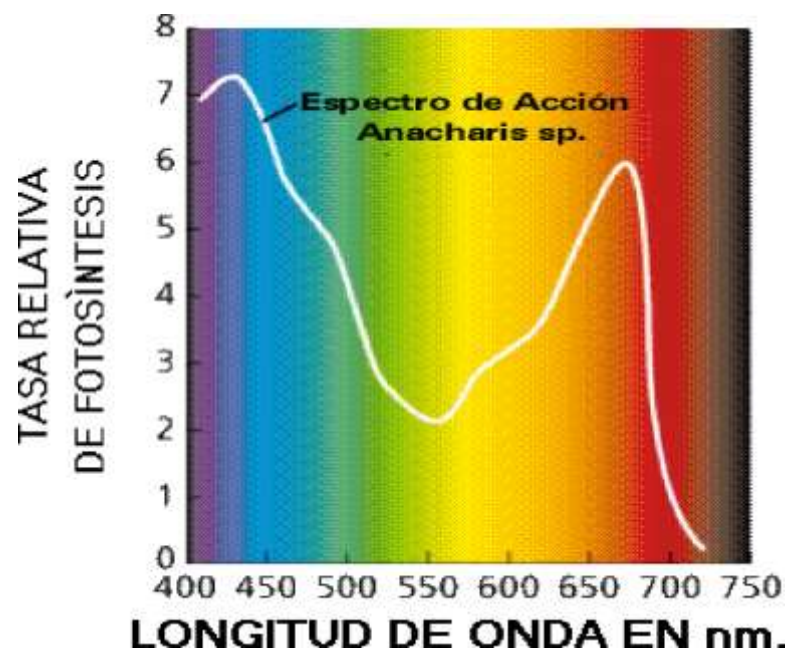


Figura 50. Tasa relativa de fotosíntesis según longitud de onda.

Podemos decir que, el espectro de acción de la fotosíntesis es la eficiencia relativa en la generación de una respuesta biológica en función de la longitud de onda, de los diferentes colores, como por ejemplo la liberación de oxígeno. Mediante el estudio de los espectros de acción se descubrió, la existencia de dos fotosistemas en organismos que liberan O₂ fotosintéticamente.

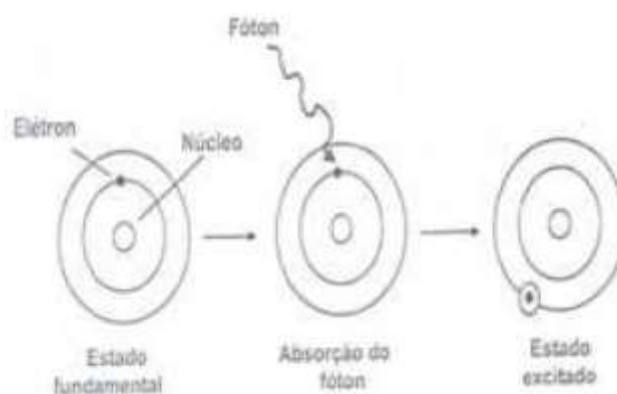


Figura 51. Diferentes estados de los electrones según la incidencia de la luz.

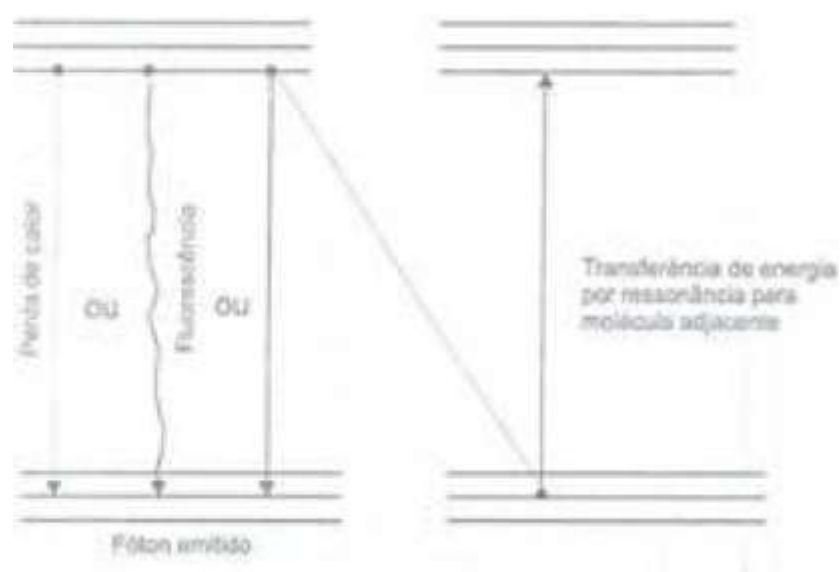


Figura 52. Pérdida de calor, fluorescencia y transferencia de energía por resonancia para molécula adyacente.

Cuando la clorofila absorbe energía luminosa pueden ocurrir tres cosas: 1) que la energía sea atrapada y convertida en energía química como en la fotosíntesis, 2) que se disipe como calor, 3) que sea emitida inmediatamente como una longitud de onda mayor con pérdida de energía como fluorescencia. La clorofila es capaz de disparar una reacción química cuando se encuentra asociada a proteínas inmersas o embebidas en la membrana de los tilacoides de los cloroplastos, o en las membranas plegadas que se encuentran en organismos procariotes fotosintéticos, como son las cianobacterias y las proclorobacterias.

ESTRUCTURA DEL CLOROPLASTO Y DE LAS MEMBRANAS FOTOSINTETICAS

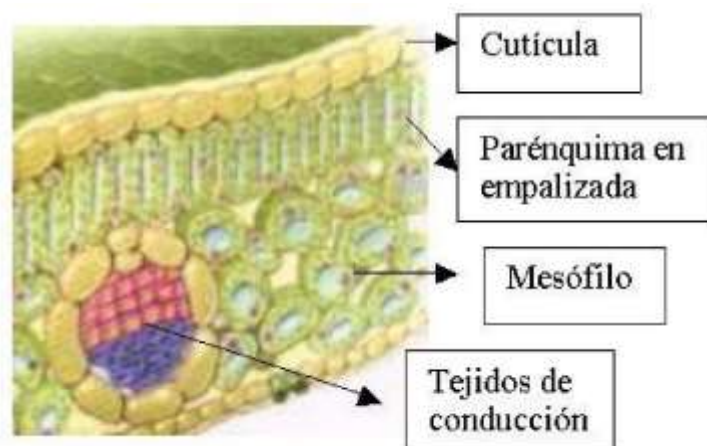


Figura 53. Corte transversal de una hoja y su estructura.

La unidad estructural de la fotosíntesis es el cloroplasto. Los organismos fotosintéticos procaríotes y eucariotes poseen sacos aplanados o vesículas llamadas tilacoides, que contienen los pigmentos fotosintéticos; pero solamente los cloroplastos de los eucariotes están rodeados por una doble membrana. Los tilacoides se disponen como una pila de panquecas, que recibe el nombre de grana. El interior del cloroplasto entre las granas es el estroma proteico, donde se encuentran las enzimas que catalizan la fijación del CO_2 . Las mitocondrias constituyen un sistema con dos membranas como los cloroplastos, pero los cloroplastos tienen tres compartimentos: el estroma, el espacio tilacoidal y el espacio entre las membranas. El cloroplasto en su interior tiene un ADN circular y ribosomas.

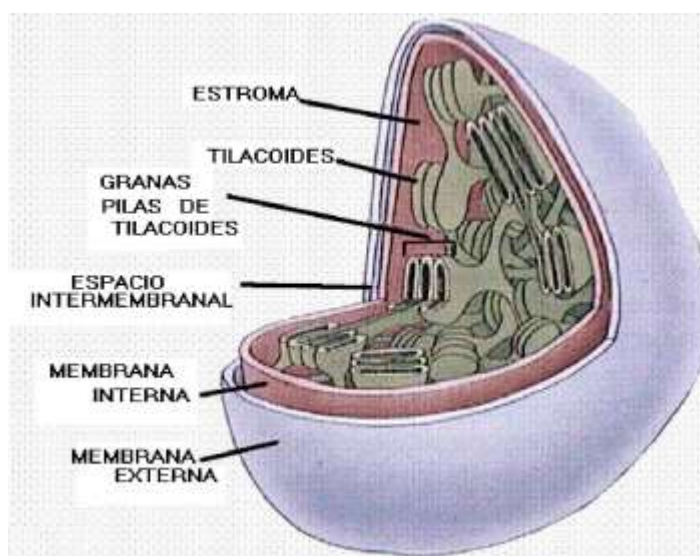


Figura 54. Sistemas de membranas del cloroplasto y estroma.

FASES DE LA FOTOSÍNTESIS

La fotosíntesis es un proceso que ocurre en dos fases. **La primera fase es un proceso que depende de la luz (reacciones luminosas)**, requiere la energía directa de la luz que genera los transportadores que son utilizados en la segunda fase. **La fase independiente de la luz (reacciones de oscuridad)**, se realiza cuando los productos de las reacciones de luz son utilizados para formar enlaces covalentes carbono-carbono (C-C), de los carbohidratos. Las reacciones oscuras pueden realizarse en la oscuridad, con la condición de que la fuente de energía (ATP) y el poder reductor (NADPH) formados en la luz se encuentren presentes. Investigaciones recientes sugieren que varias enzimas del ciclo de Calvin, son activadas por la luz mediante la formación de grupos -SH; de tal forma que el término reacción de oscuridad no es del todo correcto. Las reacciones de oscuridad se efectúan en el estroma; mientras que las de luz ocurren en los tilacoides.

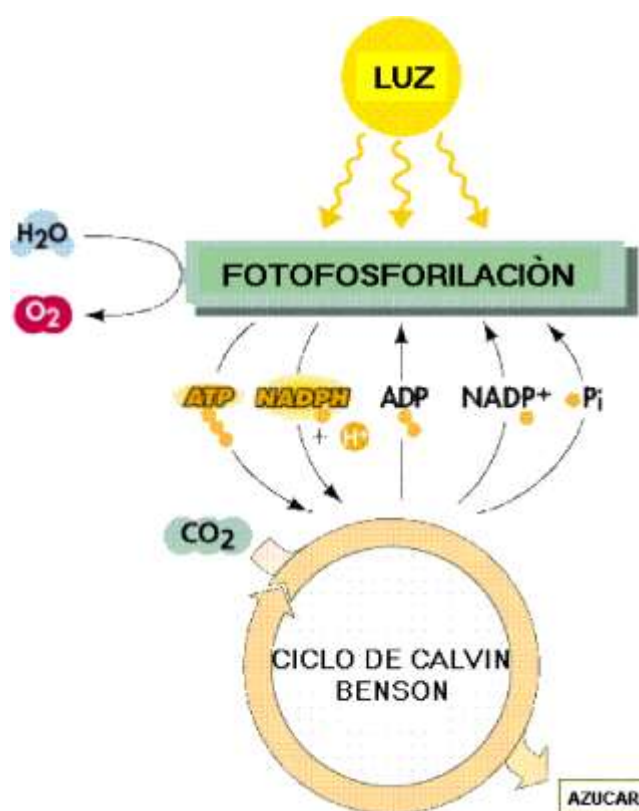
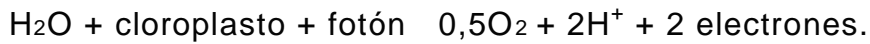


Figura 55. Fase luminosa (Hasta la formación de ATP y NADPH) y no luminosa (Ciclo de Calvin y Benson) de la fotosíntesis.

REACCIONES DE LUZ

En los procesos que dependen de la luz (reacciones de luz), cuando un fotón es capturado por un pigmento fotosintético, se produce la excitación de un electrón, el cual es elevado desde su estado basal respecto al núcleo a niveles

de energía superior, pasando a un estado excitado. Después de una serie de reacciones de oxido-reducción, la energía del electrón se convierte en ATP y NADPH. En el proceso ocurre la fotólisis del agua, la que se descompone según la ecuación:



En la reducción de un mol de CO_2 se utilizan 3ATP y 2 NADPH, que a través de una serie de reacciones enzimáticas producen los enlaces C-C de los carbohidratos, en un proceso que se efectúa en la oscuridad.

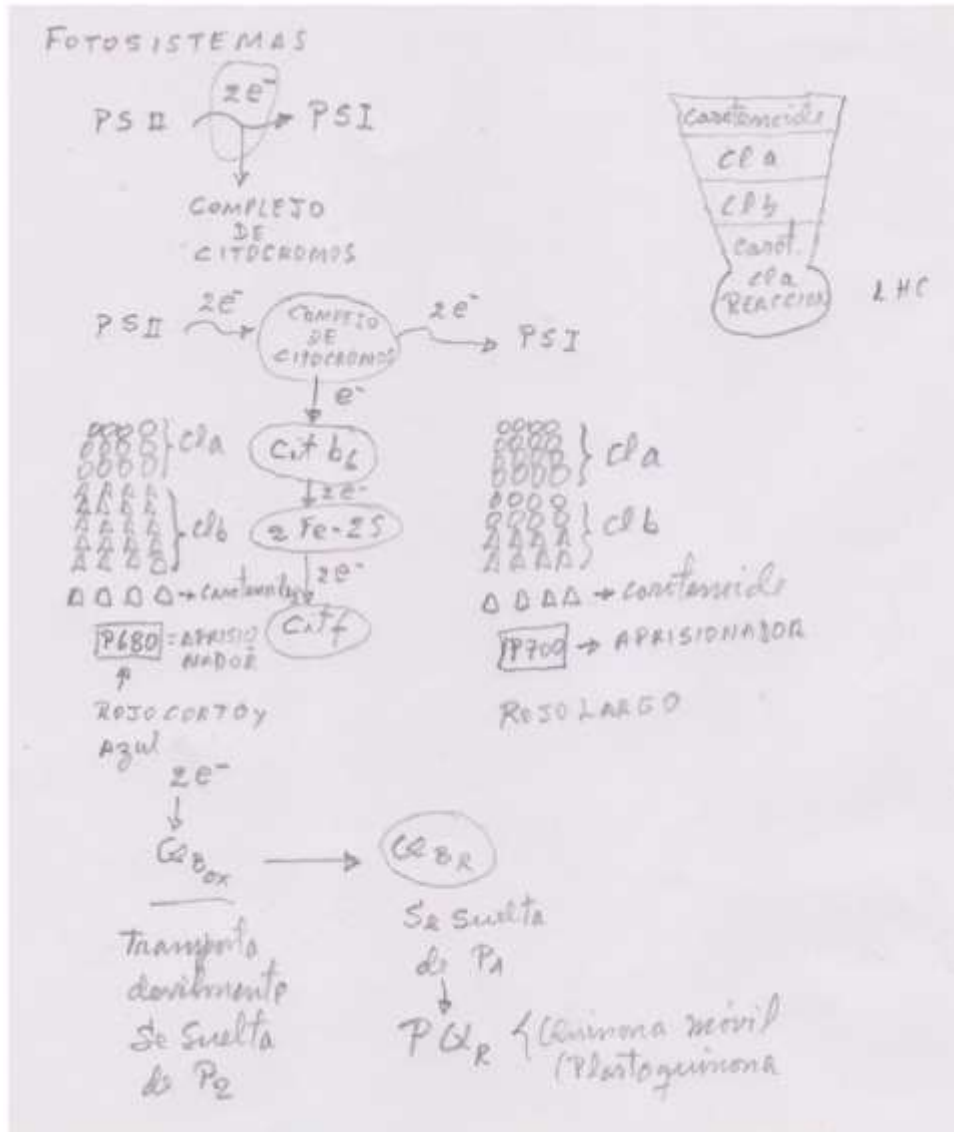


Figura 56. Fase luminosa de la fotosíntesis (PSI y PSII). Según Joao Domingo Rodrigues – UNESP Brasil. 2000. (apunte de clases).

FOTOSISTEMAS

En la fotosíntesis cooperan dos grupos separados de pigmentos o fotosistemas, que se encuentran localizados en los tilacoides. Muchos organismos procaríotes solamente tienen el fotosistema I (es el más primitivo desde el punto de vista evolutivo).

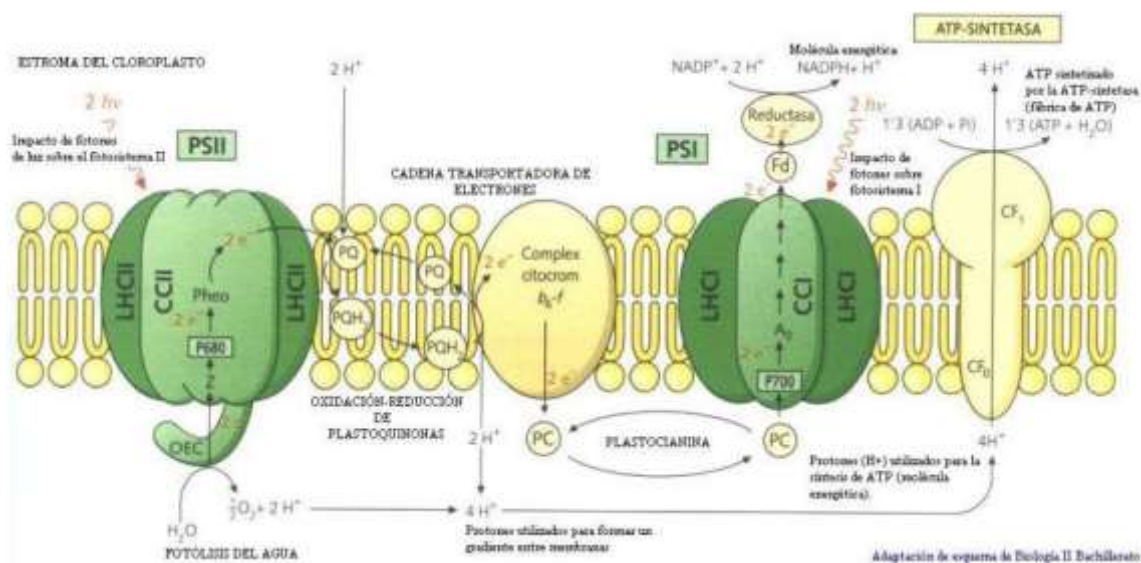


Figura 57. Funcionamiento del fotosistema II y fotosistema I hasta la obtención de NADPH y ATP.

Desde el PSII el transporte no cíclico de electrones genera:

2 NADPH₂

8 H⁺

Transporte cíclico de electrones genera: Puede ocurrir desde el PSI (1- 2 veces por cada molécula de agua).

2 NADPH

8 H⁺

10 H⁺

12 H⁺

Importancia: ↑ Formación NADPH₂; aumentar [] de H⁺ en el lúmen; ↑ calidad fotosintética, ATP es consecuencia del pase de H⁺ del lúmen al estroma. A > [] H⁺ lúmen > [] ATP formado en el estroma.

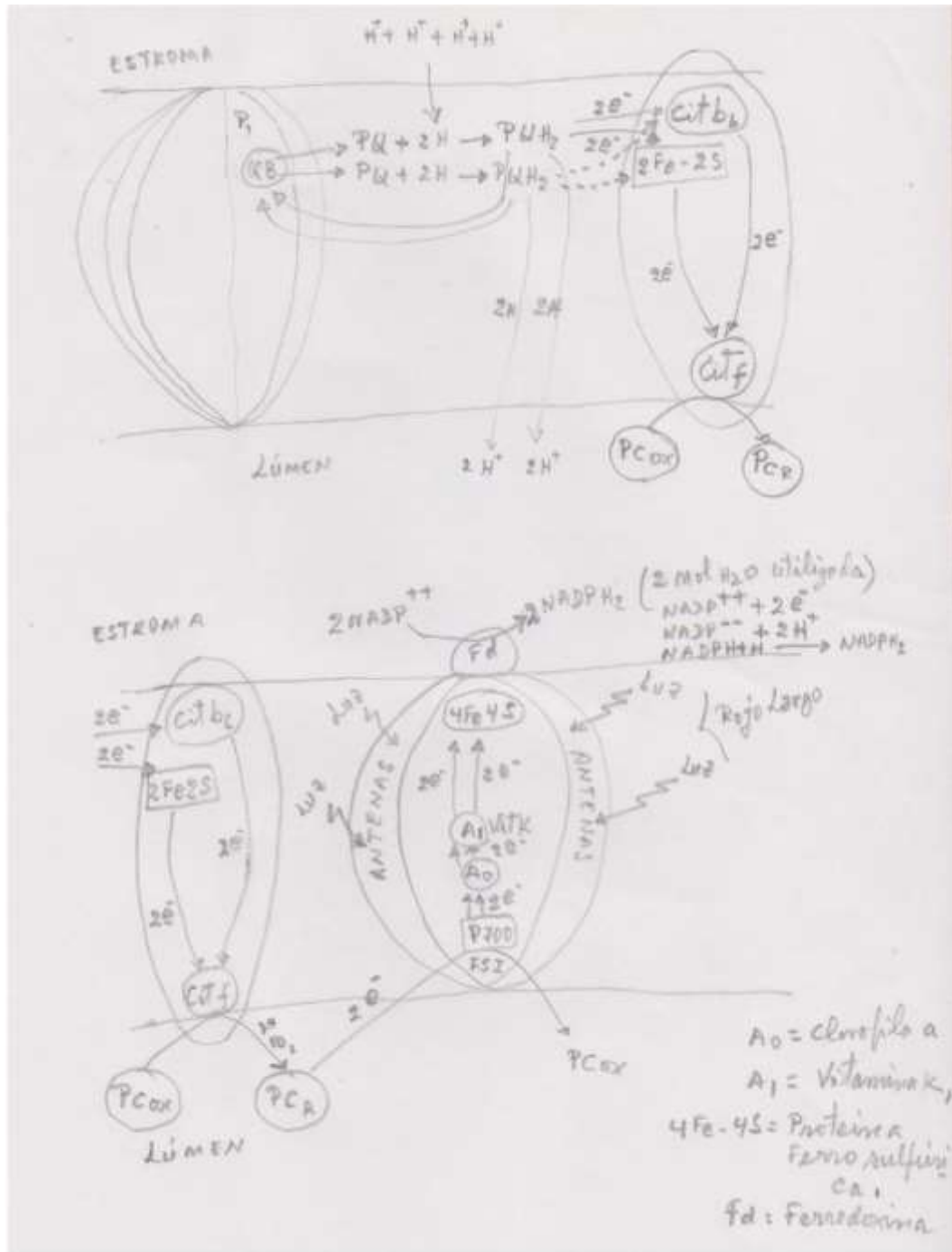


Figura 59. Flujo de electrones de la fase lumínica de Plasto Quinona (PQ) hasta NADPH₂, pasando por el Foto Sistema I. Según Joao Domingo Rodrigues – UNESP Brasil. 2000. (apunte de clases).

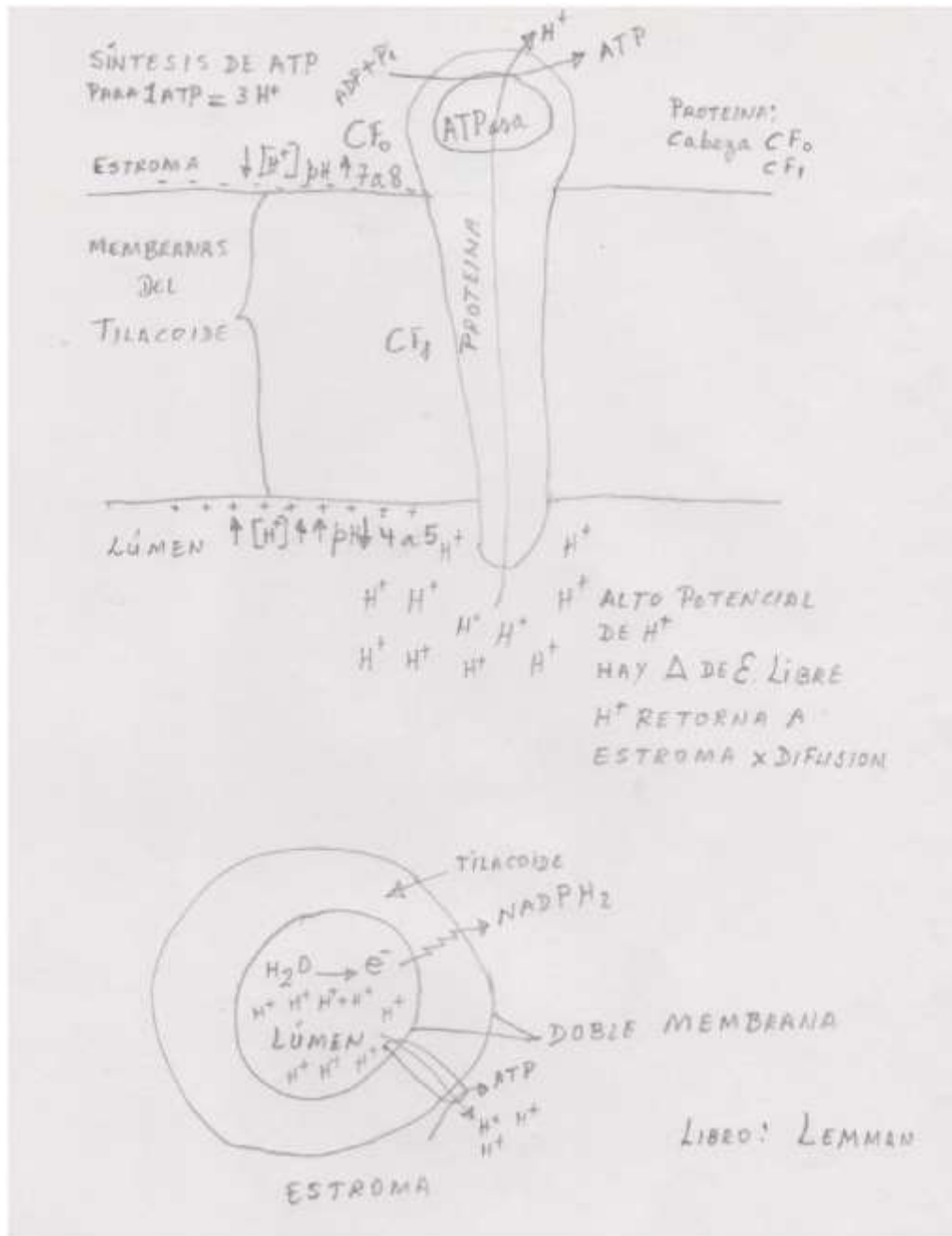


Figura 60. Flujo de Protones (H⁺) del lumen al estroma, y formación de de ATP en la fase lumina. Según Joao Domingo Rodrigues – UNESP Brasil. 2000. (apunte de clases).

Para 1 ATP = 3 H⁺ que pasan del lumen al estroma por difusión, por el canal de proteína CF₁ y CF₀ Cabeza de proteína. La diferencia de iones H⁺ en la parte del lumen es 10,000 mayor. La membrana del tilacoide tiene polaridad.

Para formar carbohidato (CHO) va ser necesario del ATP (energía de la luz) y NADPH₂ (electrones del H₂O, acarreados a través de los PSI y PSII).

A + ruptura de molécula de agua + moléculas orgánicas formadas.

Cambió mucho el esquema del proceso de transformación de energía. (Ver libro Lemman).

Los organismos eucariotes poseen los fotosistemas I y II. El fotosistema I está asociado a las formas de clorofila a, que absorbe a longitudes de onda de 700 nm (P_{700}), mientras que el fotosistema II tiene un centro de reacción que absorbe a una longitud de onda de 680 nm (P_{680}). Cada uno de estos fotosistemas se encuentra asociado a polipeptidos en la membrana tilacoidal y absorben energía luminosa independientemente. En el fotosistema II, se produce la fotólisis del agua y la liberación de oxígeno; sin embargo ambos fotosistemas operan en serie, transportando electrones, a través de una cadena transportadora de electrones. En el fotosistema I se transfieren dos electrones a la molécula de $NADP^+$ y se forma NADPH, en el lado de la membrana tilacoidal que mira hacia el estroma.

FOTOFOSFORILACIÓN

Es la síntesis de ATP que se produce cuando se exponen cloroplastos aislados a la acción de la luz, en presencia de ADP y fosfato. La formación de ATP a partir de la reacción de ADP y fosfato, es el resultado del acoplamiento energético de la fosforilación al proceso de transporte de electrones inducido por la luz, de la misma forma que la fosforilación oxidativa está acoplada al transporte de electrones y al consumo de oxígeno en las mitocondrias.

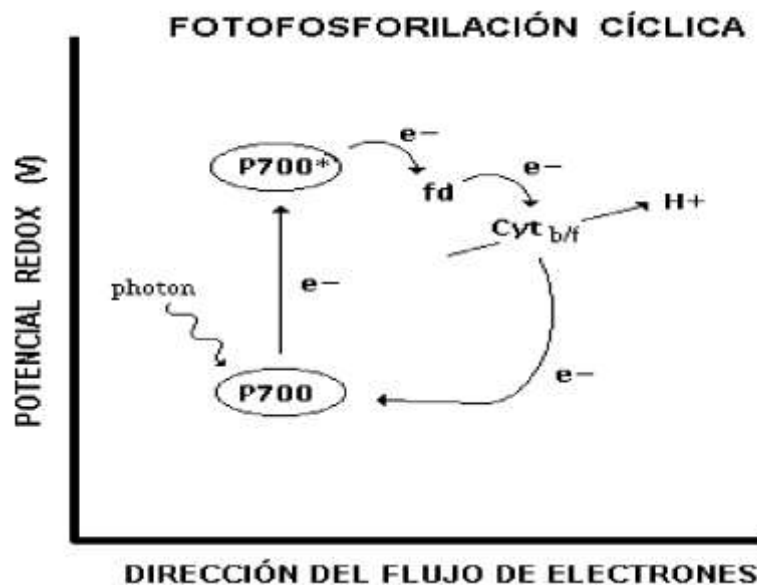
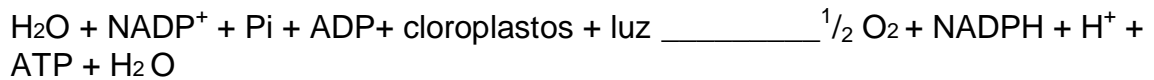


Figura 61. Fase cíclica del foto sistema I.

En el fotosistema I se realiza la síntesis cíclica de ATP, que es independiente de la fotólisis del agua y de la formación de NADPH; mientras que la fotofosforilación no cíclica, está acoplada al transporte de electrones desde el agua, en el fotosistema II a través de una cadena transportadora de electrones

hacia el fotosistema I, donde la ferredoxina cede dos electrones al NADP^+ para que se reduzca a NADPH.



La molécula de H_2O del lado izquierdo de la ecuación, cede los dos electrones necesarios para la reducción del NADP^+ y el átomo de oxígeno que se libera en forma de $\frac{1}{2} \text{O}_2$. La molécula de H_2O del lado derecho de la ecuación procede de la formación de ATP a partir de la reacción de $\text{ADP} + \text{P}_i$.

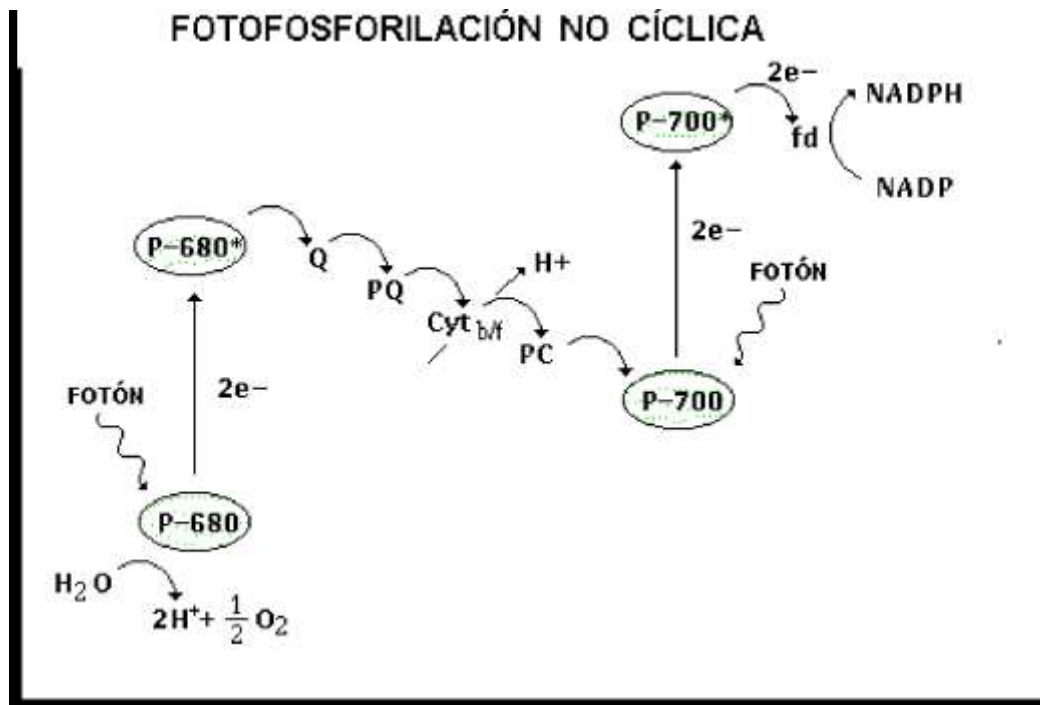


Figura 62. Fotofosforilación no cíclica.

En la membrana tilacoidal como resultado de la fotólisis del agua y de la oxidación de la plastoquinona (PQH_2) se generan protones (H^+); que originan un fuerte gradiente de concentración de protones (H^+) al ser transportados del lumen tilacoidal hacia el estroma. Este gradiente de pH a través de la membrana es responsable de la síntesis de ATP, catalizada por la ATPsintasa (o sintetasa) o conocida también como factor de acoplamiento; ya que acopla la síntesis de ATP al transporte de electrones y protones a través de la membrana tilacoidal. La ATPsintasa existe en los tilacoides del estroma y consta de dos partes principales: un tallo denominado CF_0 , que se extiende desde el lumen de la membrana tilacoidal hasta el estroma y una porción esférica (cabeza) que se conoce como CF_1 y que descansa en el estroma. Esta ATPasa es similar a la de las mitocondrias donde sintetiza ATP.

El flujo cíclico de electrones tiene lugar en algunos eucariotes y bacterias fotosintéticas primitivas. No se produce NADPH, sino ATP solamente. Esto

puede ocurrir cuando las células pueden requerir un suministro de ATP adicional, o cuando no se encuentre presente NADP^+ para ser reducido a NADPH . En el fotosistema II, el bombeo de iones H^+ dentro del tilacoide crea un gradiente electroquímico que culmina con la síntesis de ATP a partir de $\text{ADP} + \text{P}_i$.

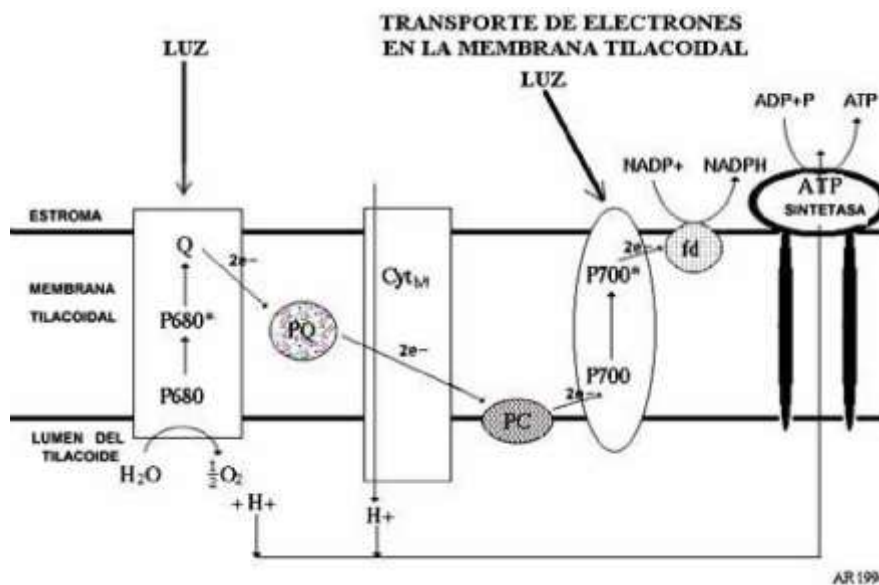


Figura 63. Transporte de electrones en la membrana tilacoidal.

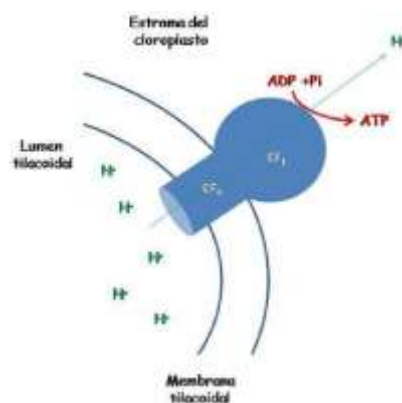


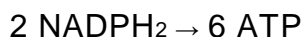
Figura 64. Flujo de H^+ del lumen tilacoidal al estroma generando ATP.

Las halobacterias, que crecen en agua extremadamente salada, son aerobias facultativas; ya que pueden crecer en ausencia de oxígeno. Los pigmentos púrpuras conocidos como retinal (pigmento encontrado en el ojo humano) funcionan como las clorofilas. La bacteriorodopsina es un complejo formado por retinal y proteínas de la membrana, la que genera electrones que establecen

un gradiente de protones que activa una bomba ADP-ATP, que produce ATP en presencia de la luz, pero en ausencia de clorofila. Este comportamiento ayuda a sustentar la universalidad de la teoría quimio-osmótica de Mitchell, en la función de sintetizar ATP.

Balance del Transporte de electrones en el cloroplasto

Por cada dos moléculas de agua que se rompen en el lúmen:



3 a 4 ATP; 3 ATP es normal; 1 ATP = 3 H⁺

3 o 4 ATP + 2 NADPH₂ por 2 Mol de H₂O.

EFFECTOS DE LOS HERBICIDAS EN EL TRANSPORTE FOTOSINTETICO DE LOS ELECTRONES

Algunos derivados de la urea, como el monurón o CMU (3-p-clorofenil-1,1 di metil urea) y el DCMU [3-(3,4 di cloro fenil) -1,1 dimetil urea], se aplican al suelo y se desplazan por el xilema hasta las hoja, donde bloquean el transporte de electrones entre las plastoquinonas Q_A y Q_B. Inhiben la reacción de Hill en el fotosistema II, por lo que no ocurre la fotólisis del agua ni la liberación de O₂.

Ciertos herbicidas a base de triazinas, como la simazina y atrazina bloquean el transporte de electrones entre Q_A y Q_B. El maíz y el sorgo son tolerantes a las triazinas, pero no así a los derivados de la urea; ya que contienen enzimas que detoxifican dichos compuestos. Los herbicidas como el diquat y paraquat (gramoxone), actúan inhibiendo el flujo de electrones entre la ferredoxina y el NADP, y reduce el oxígeno a un radical superóxido (O₂⁻), que produce la pérdida de la actividad de los cloroplastos.

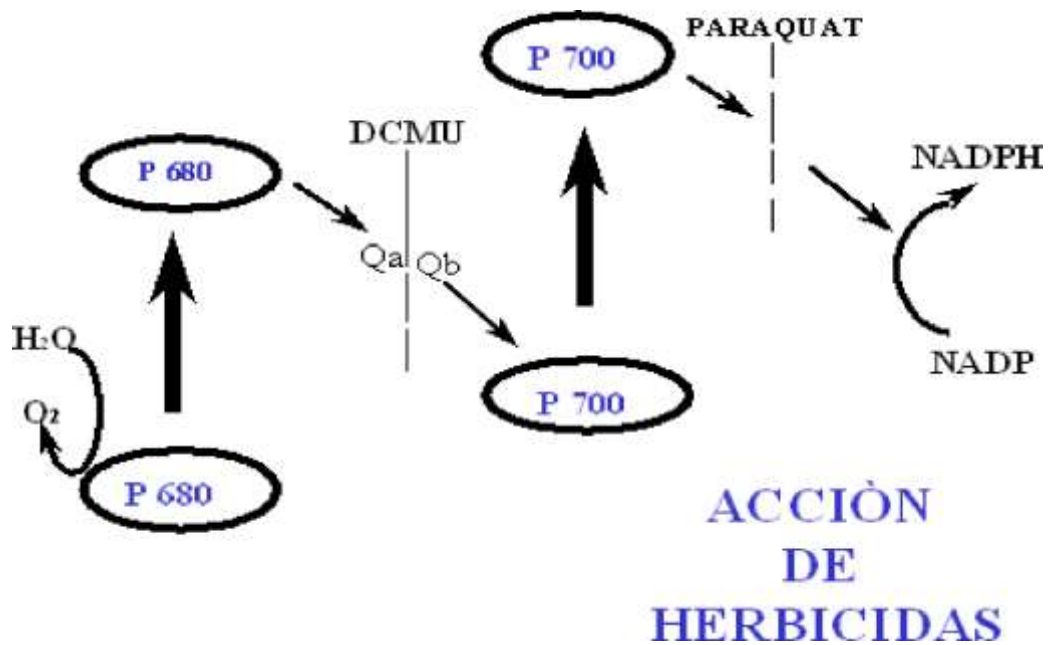


Figura 65. Interferencia del flujo de electrones por herbicida paraquat.

REACCIONES DE OSCURIDAD

En las reacciones de oscuridad, el CO_2 de la atmósfera (o del agua en organismos fotosintéticos acuáticos/marinos) se captura y reduce por la adición de hidrógeno (H^+) para la formación de carbohidratos $[(\text{CH}_2\text{O})]$. La incorporación del dióxido de carbono en compuestos orgánicos, se conoce como fijación o asimilación del carbono.

La energía usada en el proceso proviene de la primera fase de la fotosíntesis. Los seres vivos no pueden utilizar directamente la energía luminosa, sin embargo a través de una serie de reacciones fotoquímicas, la pueden almacenar en la energía de los enlaces C-C de carbohidratos, que se libera luego mediante los procesos respiratorios u otros procesos metabólicos.

Las reacciones de fijación o reducción del carbono, son conocidas también como reacciones de oscuridad (son independientes de la luz), sin embargo dos sustancias producidas en la luz, como son el NADPH y el ATP participan en la reducción del CO_2 .

El CO_2 pasa al interior de organismos unicelulares y de otros autótrofos acuáticos por difusión y no a través de estructuras especiales; mientras que las plantas terrestres deben protegerse de la desecación y en ese sentido han desarrollado estructuras llamadas estomas, que permiten el intercambio gaseoso.

En el estroma de los cloroplastos se encuentran presentes las enzimas que intervienen en el **Ciclo de Calvin**. El Ciclo de Calvin fue estudiado y descubierto en un alga verde unicelular, llamada Chlorella (1950 a 1955) en California.

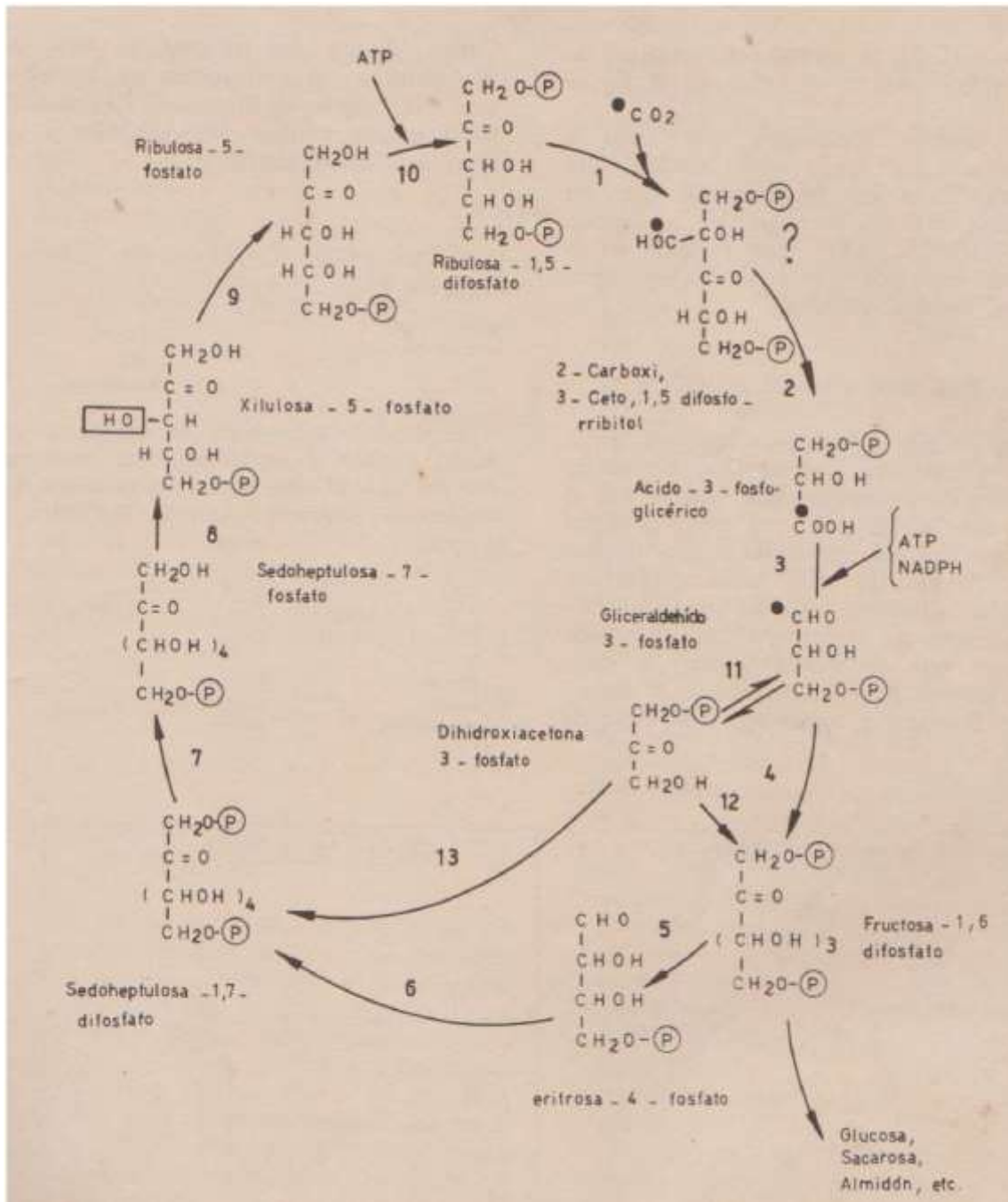


Figura 66. Ciclo de Calvin y Benson, y formación de glucosa en la fase oscura de la fotosíntesis.

El CO_2 se combina con la ribulosa 1,5 bifosfato (RUBP- es un azúcar de 5 carbonos), mediante la acción de la enzima ribulosa bifosfato carboxilasa oxigenasa o rubisco. La rubisco constituye aproximadamente el 50% de las proteínas del cloroplasto y se piensa que es la proteína más abundante en la tierra.

El primer producto estable de la fijación de CO_2 es el ácido-3-fosfoglicérico (PGA), un compuesto de 3 carbonos. En el ciclo se fijan 6 moles de CO_2 a 6 moles de ribulosa 1,5 bifosfato, y se forman 12 moles de PGA. La energía del ATP, producido en la luz es utilizada para fosforilar el PGA y se forman 12

moles de ácido 1,3 difosfoglicérico, el cual es reducido luego mediante la acción de 12 NADPH a gliceraldehido-3-fosfato (PGAL).

Dos moles de gliceraldehido-3-fosfato son removidas del ciclo para fabricar glucosa. El resto de los moles de PGAL se convierten en 6 moles de ribulosa-5-fosfato, que al reaccionar con 6 ATP, regenera 6 moles de ribulosa 1,5 bifosfato, que da comienzo al ciclo de nuevo.

El gliceraldehido-3-fosfato producido en los cloroplastos sirve de intermediario en la glucólisis. Una gran parte del PGAL que permanece en los cloroplastos se transforma en el estroma, en almidón, que es un carbohidrato de reserva. Otra parte del PGAL es exportado al citosol, donde se convierte en fructosa-6-fosfato y glucosa-1-fosfato. La glucosa-1-fosfato se transforma en el nucleótido UDP-glucosa, que al combinarse con la fructosa-6-fosfato forma la sacarosa fosfato, que es el precursor inmediato de la sacarosa. El disácarido sacarosa es la principal forma en que los azúcares se transportan a través del floema, desde las hojas hasta los sitios de la planta donde son requeridos. Es bueno hacer notar que todas las reacciones del Ciclo de Calvin, son catalizadas por enzimas específicas.

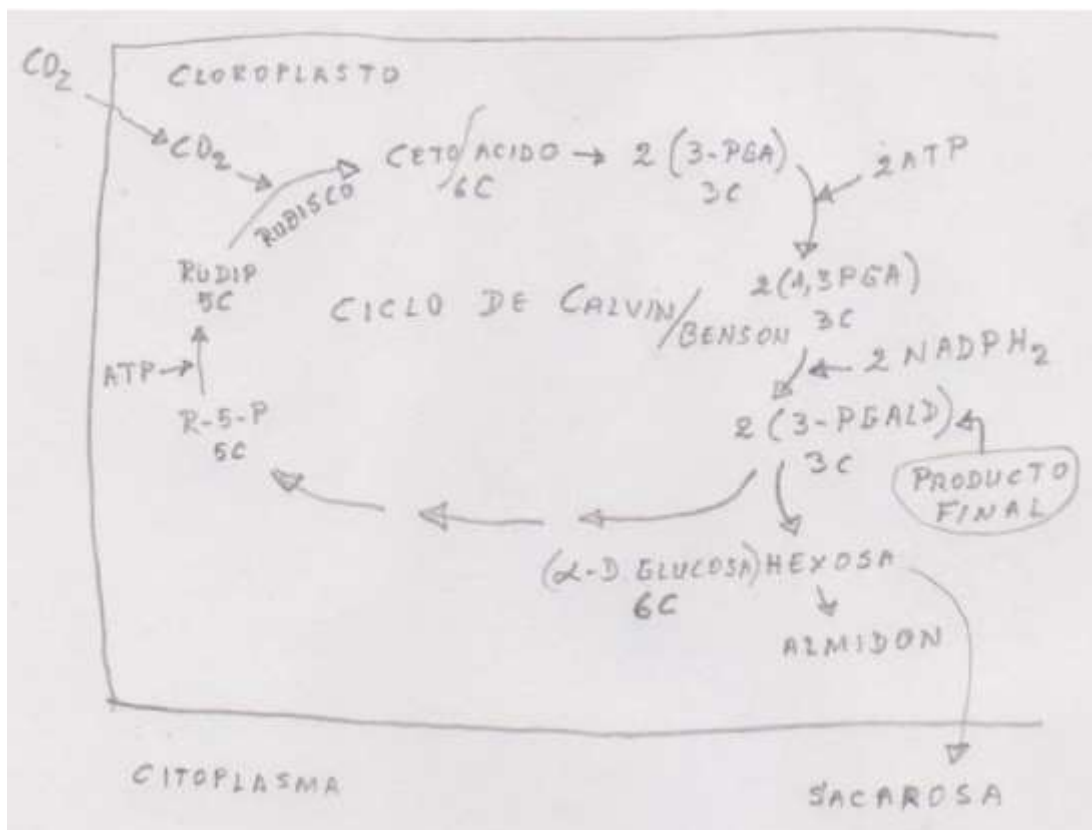


Figura 67. Ciclo de Calvin y Benson en el cloroplasto, y formación de sacarosa en citoplasma, Planta C₃ = Calvin y Benson utilización 3 ATP; Planta C₄ = Hach Slack utilización de 5 ATP. 2000. (apunte de clases).

PLANTAS CON EL CICLO DICARBOXÍLICO (Plantas C4)

Las plantas cuyo primer producto de la fijación de CO_2 tiene tres átomos de carbono (C-3), como el ácido-3-fosfoglicérico, poseen el Ciclo de Calvin. Sin embargo, existen otras especies en los que la fijación del CO_2 tiene cuatro átomos de carbono (C-4) descubiertos por Hatch y Slack (1970 a 1974), concretamente ácidos oxalacético, málico y aspártico. Entre las plantas con fotosíntesis C-4, se encuentran la caña de azúcar, el maíz, el sorgo y el amaranto (bledo o alegría).

Las plantas C-3 muestran en general, una anatomía foliar con mesófilo esponjoso en el envés y mesófilo en empalizada en la haz, con tejidos epidérmicos en ambas caras y con poros estomáticos para el intercambio gaseoso. Las plantas C-4 se caracterizan por presentar una anatomía en corona o con vaina amilífera, que rodea los conductos o haces vasculares. Los cloroplastos de las células de la vaina son más grandes que los del mesófilo, acumulan mucho almidón y poseen pocas granas o son agranales.

La captura del CO_2 en las plantas C-4, comienza con la reacción del CO_2 con el ácido fosfoenol pirúvico (PEP), catalizada por la enzima PEP-carboxilasa, con la formación de ácido oxalacético (OAA). El OAA se convierte a ácidos málico o aspártico (C-4), que luego son transportados desde las células del mesófilo, hacia las células de la vaina amilífera. En las células de la vaina el ácido málico (C-4) es descarboxilado, produciéndose CO_2 y ácido pirúvico (C-3). Luego el CO_2 entra al Ciclo de Calvin y el ácido pirúvico después se convierte en PEP que retorna a las células del mesófilo. Los azúcares formados durante este proceso, se transportan por las nervaduras en los conductos del floema a toda la planta.

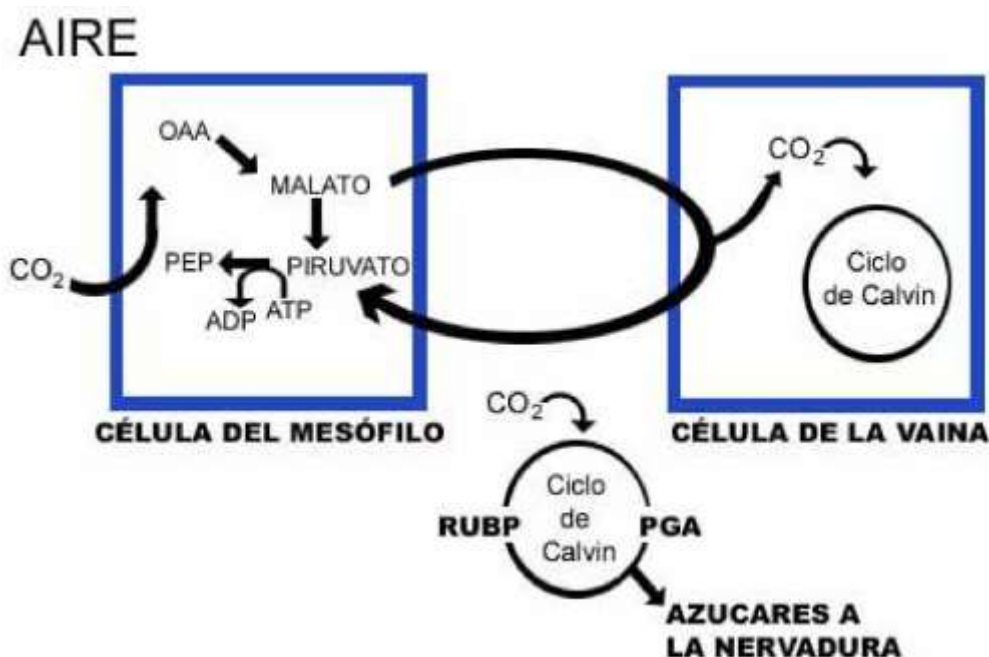


Figura 68. Transporte de CO_2 del mesófilo a la célula de la vaina via malato.

Algunas plantas han establecido su propio sistema para abordar el problema. Cabría prever que lo hubieran hecho mediante una modificación de la enzima ribulosa bifsosfato carboxilasa/oxigenasa para suprimir la función oxigenasa. Sorprendentemente no ha sido así. La enzima, a pesar (o tal vez a causa) de su importancia vital, ha cambiado poco a lo largo del tiempo. Continúa siendo un catalizador relativamente ineficaz (con una $K_{cat}=2/s$) y no ha perdido nunca su función oxigenasa. En vez de modificar la enzima, algunas plantas, denominadas plantas C₄, han establecido a lo largo de la evolución una ruta fotosintética adicional que ayuda a conservar el CO₂ liberado por la fotorrespiración. Esta ruta se denomina ciclo C₄, porque conlleva la incorporación de CO₂ a un intermediario C₄ (oxalacetato). Este ciclo se diferencia del ciclo de Calvin porque este utiliza un producto intermedio de tres carbonos, y al que se denomina por tanto, en algunos casos, ciclo C₃.

El ciclo C₄ se encuentra en varias especies cultivadas (maíz y caña de azúcar, por ejemplo) y es importante en las plantas tropicales que están expuestas a una luz solar intensa y a temperaturas elevadas. Aunque la fotorrespiración se produce en cierto grado y en todo momento en la totalidad de las plantas, es más activa en condiciones de gran iluminación, temperatura alta y agotamiento de CO₂. Las plantas C₄ concentran su fotosíntesis del ciclo de Calvin (C₃) en células de la vaina especializadas, que están situadas debajo de una capa de células mesófilas. En cambio, estas últimas, están expuestas más directamente al CO₂ externo y contienen las enzimas del ciclo C₄. Esta ruta, que actúa en la mayor parte de las plantas C₄ es básicamente un mecanismo para atrapar CO₂ en el compuesto de cuatro carbonos oxalacetato, y transmitirlo a las células de la vaina para su uso en el ciclo de Calvin (C₃). La clave de la eficacia de las plantas C₄ está en que la enzima de fijación de CO₂ utilizada en esta ruta, la fosfoenolpiruvato carboxilasa, carece de la actividad oxigenasa que presenta la ribulosa bifsosfato carboxilasa, y tiene una K_m mucho más baja para el CO₂. Así pues, incluso en condiciones de concentración de O₂ elevada y concentración de CO₂ baja, las células mesófilas continúan bombeando CO₂ hacia las células de la vaina que realizan la fotosíntesis. Este proceso ayuda a mantener unas concentraciones de CO₂ suficientemente elevadas en las células de la vaina, de tal manera que favorece la fijación y no la fotorrespiración. Además, si se produce la fotorrespiración, el CO₂ que se libera en el proceso puede recuperarse en gran parte en las células mesófilas circundantes y devolverse al ciclo de Calvin. Como se indica en la Fig.2, el ciclo C₄ representa para la planta un coste de energía en forma de ATP. De hecho, puesto que el ATP se hidroliza a AMP y fosfato inorgánico en la regeneración del fosfoenolpiruvato, el coste es equivalente a dos ATP adicionales por cada molécula de CO₂ fijada. De todos modos, parece que vale la pena pagar este precio en circunstancias en las que dominaría la fotorrespiración. La eficacia de las plantas como productoras de alimento está reducida en gran medida por la ineficacia como enzima de la Rubisco y su participación voluntaria en la fotorrespiración, ya que no sólo se desperdicia energía, sino también las grandes cantidades de Rubisco que deben sintetizarse generan demandas aparentemente innecesarias al metabolismo vegetal.

Si pudiera formarse una enzima más eficaz, los rendimientos de las cosechas aumentarían mucho y se reducirían las demandas de nitrógeno. Por lo tanto, se

están realizando grandes esfuerzos para formar una Rubisco más eficaz en las plantas de cultivo. Por otro lado, se han realizado intentos para modificar la Rubisco de las plantas superiores pero el proceso se complica por la complejidad de la proteína (16 subunidades) y nuestro conocimiento incompleto de su enzimología. Una vía distinta de investigación se basa en la observación de que la enzima Rubisco en algunas algas rojas es considerablemente más eficaz. Se han realizado varios intentos para incorporar esta enzima en las plantas de cultivo.

Las plantas C4 tienen + eficiencia fotosintética

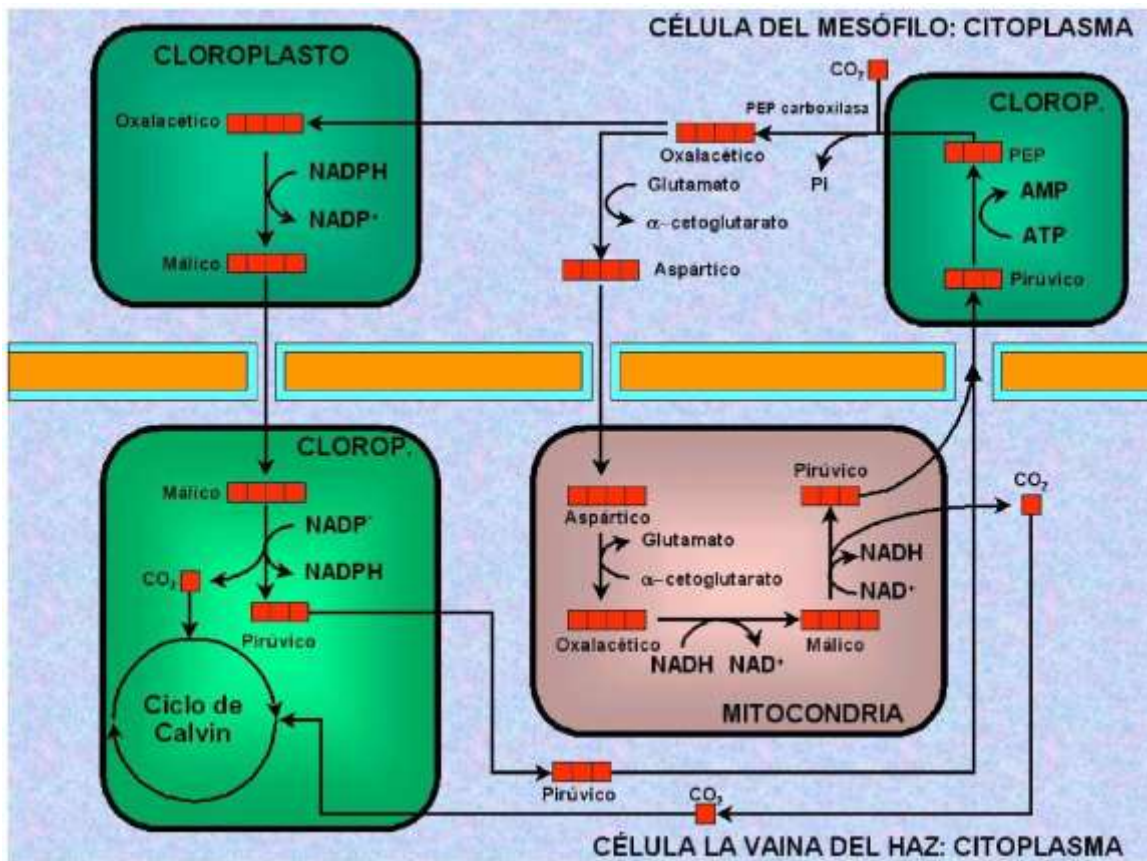


Figura 69. Detalle del transporte de CO₂ via ácido málico y ácido Aspártico desde el Mesófilo a las Células de la vaina.

Luego de formado el ácido oxalacético, sigue el camino Malato, Aspartato 1 ó Aspartato 2. Hay plantas que tienen hasta dos vías. Hay gasto de energía, el traslado es contra gradiente, el CO₂ consume 2ATP. Una planta C4 no soporta mucho la sombra como la C3.

Planta C3 = hay enzima RUBISCO en el cloroplasto del Mesófilo.

Planta C4 = tienen enzima PEPASA en el citoplasma del Mesófilo y Rubisco en el cloroplasto de la Vaina. Anatomía tiene la configuración Kranz

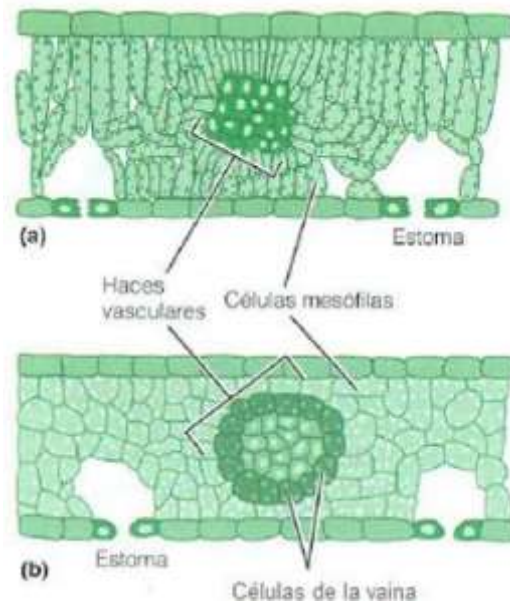


Figura 70. Anatomía foliar de plantas C3 y C4.

Como adaptación a ambientes más cálidos y secos, surgen nuevos metabolismos. El CO_2 llega a las células mesófilas, y se fija por la enzima fosfoenolpiruvato (PEP) que tiene más afinidad por el CO_2 que la Rubisco. Este CO_2 se convierte en malato y aspartato que pasarán a las células de la vaina, donde se transformarán en CO_2 que sigue el ciclo de Calvin. La fotorrespiración es inexistente o muy pequeña en estas plantas porque la alta concentración de CO_2 en las células de la vaina impide la fotorrespiración. Esta variante del proceso de fijación confiere una eficiencia en el uso del agua (EUA) mayor, puesto que se fija más carbono por molécula de agua.

Las plantas C4 tienen un mayor gasto energético porque requieren la producción de una enzima extra, PEP. Pero lo compensan con una mayor EUA, mayor crecimiento y eficacia en la fotosíntesis a temperaturas altas.

La anatomía en corona (Kranz) característica de estas plantas incluye dos tipos de células clorofílicas: Células del mesófilo y rodeando a los conductos vasculares foliares, las células de la vaina.

Hay plantas que producen $< \text{CHO}$ de lo que deberían, por anatomía de la hoja + que fisiología. Las plantas que tienen carbohidratos en cloroplastos del mesófilo como almidón es C3

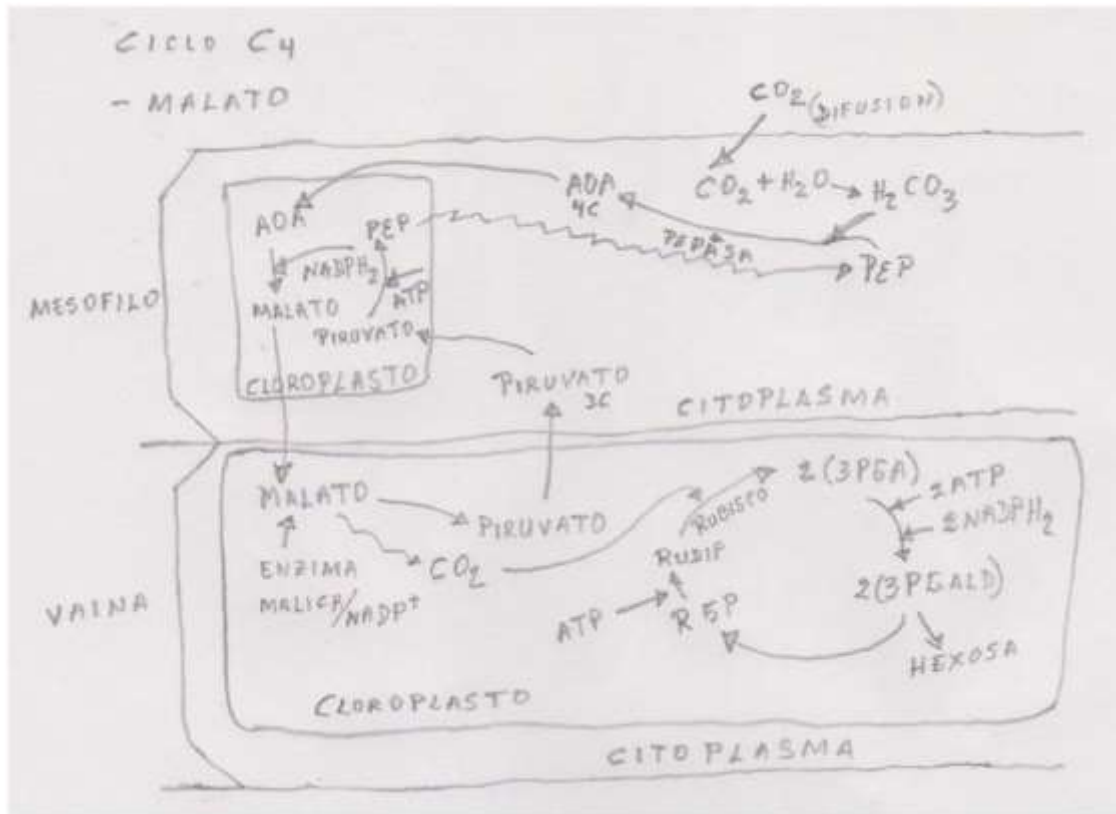


Figura 71. Detalle del transporte de CO_2 via ácido málico desde el mesófilo a las Células de la vaina. Según Joao Domingo Rodrigues – UNESP Brasil. 2000. (apunte de clases).

La Sacarosa se forma en el citoplasma y el almidón en el cloroplasto de la vaina.

R5P = Ribulosa 1,5 difosfato

RUDIP = Ribulosa 1,5 difosfato

RUBISCO = Ribulosa 1,5 difosfato carboxilasa/oxigenasa. Em C4 solo hay en el cloroplasto de la Vaina.

3-PGA = Ácido 3-fosfoglicérico

1,3-PGA = Ácido 1,3-fosfoglicérico

3-PGALD = 3-fosfogliceraldehido

PEPASA = Fosfo Enol Piruvato Carboxilasa = PEPcarboxilasa. Se encuentra disperso en el citoplasma del mesófilo.

Para formar una molécula de hexosa en el cloroplasto es necesario 6 vueltas; 1 ciclo = 1C y 1 hexosa = 6C. Atmósfera $[\text{CO}_2] \cong 0,035\% = 350\text{ppm}$. $[\text{O}_2] = 21\%$.

Enzimas de descarboxilación en C4

1. Vía Malato: enzima málica/NADP⁺, en el cloroplasto de la Vaina

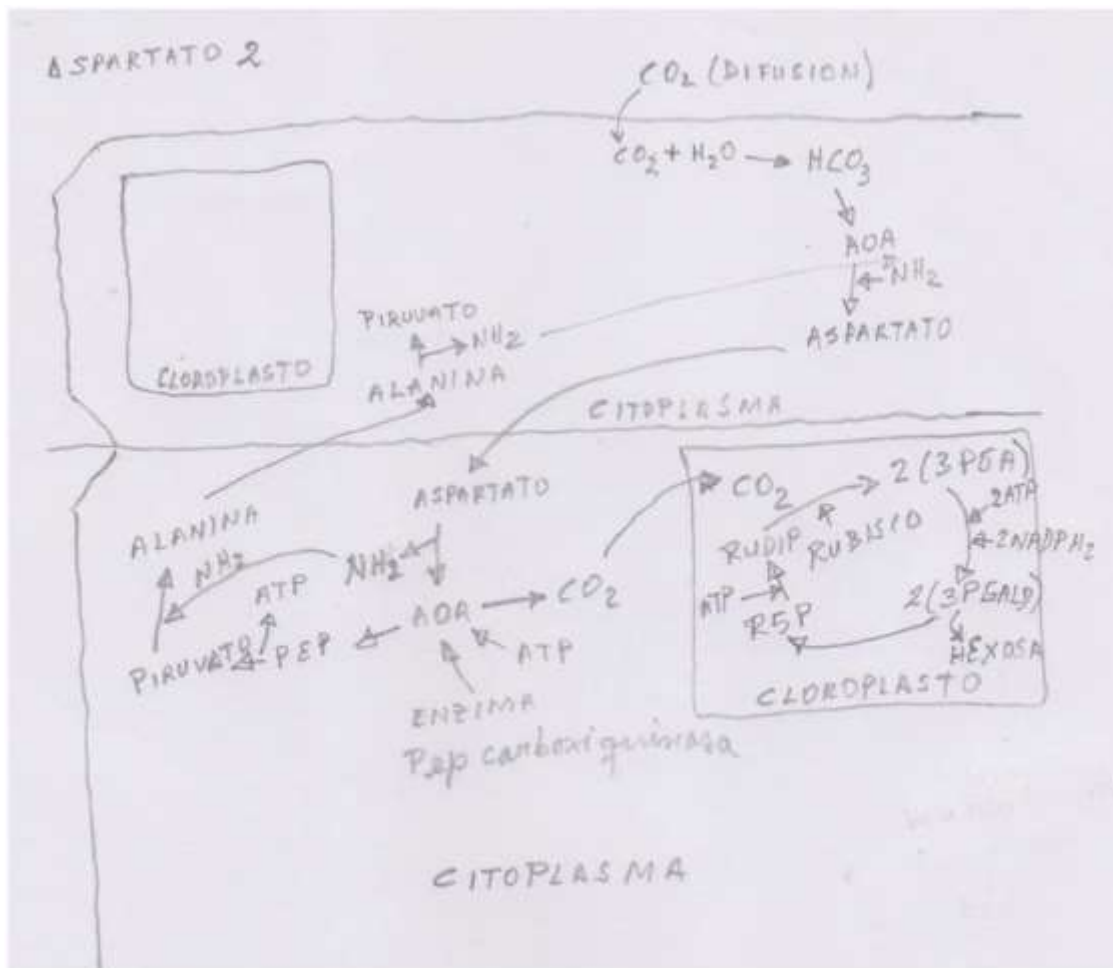


Figura 73. Detalle del transporte de CO_2 via Aspartato 2, desde el mesófilo a las Células de la vaina. Según Joao Domingo Rodrigues – UNESP Brasil. 2000. (apunte de clases).

FOTORESPIRACIÓN

Una de las propiedades más interesantes de la rubisco es que además de catalizar la carboxilación de la ribulosa 1,5 bifosfato, también produce su oxigenación; proceso conocido como fotorrespiración.

$\text{RUBP} + \text{O}_2 + \text{rubisco} \longrightarrow \text{Ácido fosfoglicérico} + \text{Glicolato}$

La fotorrespiración da como resultado la liberación de CO_2 , después de una serie de reacciones enzimáticas. ¡Es admirable que la rubisco de bacterias anaeróbicas autótrofas, cataliza la reacción de la oxigenasa! La reacción de la carboxilación es favorecida a la oxigenación en una proporción de 3:1; lo que indica un 33% de ineficiencia en la carboxilación. El metabolismo del glicolato requiere la participación de las mitocondrias y de los peroxisomas. Sin embargo, es en las mitocondrias donde el aminoácido glicina, producido en los peroxisomas es descarboxilado liberando CO_2 .

El ritmo de la fotorrespiración de las plantas C-3 es bastante elevado, siendo 5 veces superior al de la respiración en la oscuridad; lo cual es perjudicial para estas plantas. Las plantas C-4, que muestran muy poca o ninguna fotorrespiración, son considerablemente más eficientes; ya que realizan la fotosíntesis a concentraciones más bajas de CO₂ y a más elevadas tensiones de oxígeno.

Las plantas C-4 son de origen principalmente tropical, habitan en condiciones de alta luminosidad y altas temperaturas. Esto les permite competir más eficientemente con las plantas C-3, al tener que cerrar los estomas para economizar agua y evitar la desecación; sin embargo pueden realizar la fotosíntesis a bajas tensiones de CO₂, debido a que la enzima PEP-carboxilasa muestra una mayor afinidad por el CO₂ que la rubisco.

Objetivos

Conocer las diferencias con la respiración mitocondrial, estudiar la actividad de la enzima rubisco (su actividad oxidasa y la competencia CO₂/O₂), el mecanismo y la compartimentalización, su función de protección y su influencia sobre la productividad (balance energético).

La ribulosa bifosfato carboxilasa es un enzima peculiar. En determinadas condiciones puede comportarse como oxigenasa y existir competencia con la actividad carboxilasa. Esto se produce fundamentalmente en condiciones de concentración de O₂ elevada y concentración de CO₂ baja, puesto que la Km para el O₂ es aproximadamente 10 veces superior a la del CO₂. Cuando la actividad oxigenasa se hace significativa, inicia una ruta de reacción denominada fotorrespiración, con la producción en el cloroplasto de 3-fosfoglicerato y fosfoglicolato (esto ocurre debido a que la ribulosa-1,5-bifosfato puede desviarse del ciclo de Calvin, en especial cuando la concentración de CO₂ es baja. La ribulosa bifosfato carboxilasa/oxigenasa cataliza la oxidación de la ribulosa-1,5-bifosfato para formar fosfoglicolato). Como se indica en la Fig.1, el fosfoglicolato se desfosforila a continuación y pasa a los peroxisomas. Allí, se oxida de nuevo y da lugar a peróxido de hidrógeno y glioxilato. El H₂O₂ tóxico se degrada por la catalasa y el glioxilato se amida, produciendo glicina. La glicina entra en las mitocondrias, en donde dos moléculas se convierten en una molécula de serina y una molécula de CO₂ y otra de NH₃. Los gases CO₂ y amoníaco se liberan. La serina vuelve al peroxisoma, en donde una serie de reacciones la convierten en glicerato. Al volver al cloroplasto, el glicerato se refosforila (con el uso de ATP) para producir 3-fosfoglicerato. Sea cual sea la perspectiva desde la que se analice, la fotorrespiración parece ser un proceso con pérdidas.

IMPORTANTE DESTACAR:

1. Se pierde ribulosa-1,5-bifosfato en el ciclo de Calvin.
2. La fijación de CO₂ se invierte: se consume O₂ y se libera CO₂.
3. Sólo una parte del carbono vuelve al cloroplasto.
4. Se gasta ATP de forma innecesaria.

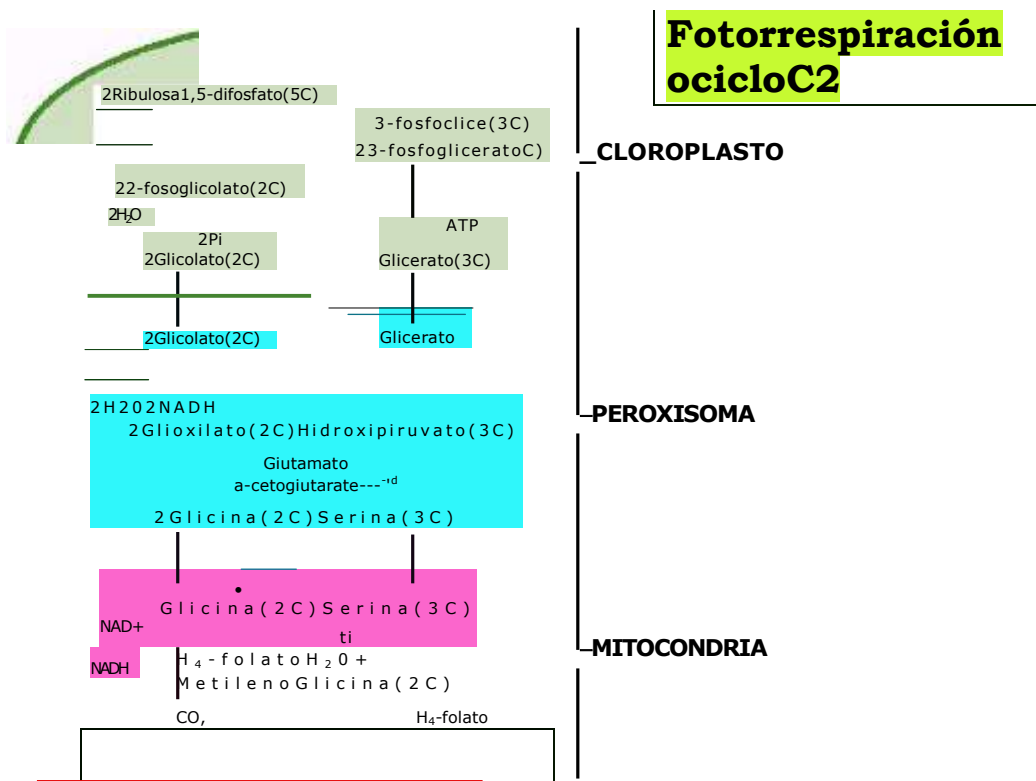
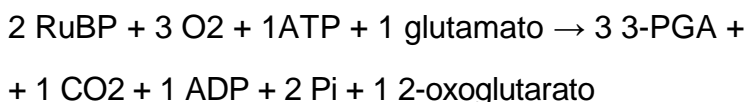


Figura 74. Fotorrespiración o Ciclo C₂.

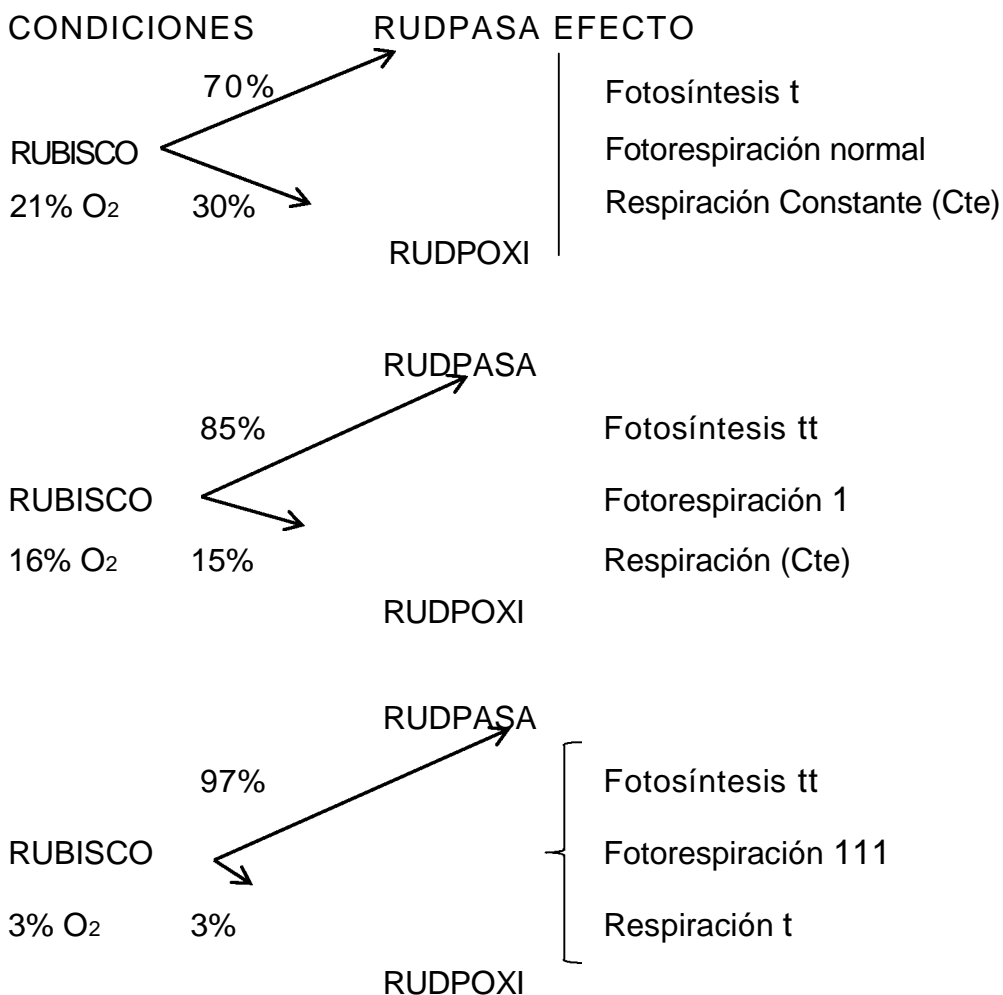
una fotorrespiración eficaz) toleraban la intensidad luminosa elevada con menos daño para las hojas que el tipo silvestre, mientras que las que eran deficitarias de la fotorrespiración eran más sensibles. A pesar de estas desventajas potenciales, en circunstancias adversas permanece el hecho de que en condiciones normales, la existencia de la fotorrespiración disminuye la eficacia de la mayoría de las plantas. En consecuencia, en los últimos años, muchas investigaciones se han dedicado a intentar reducir los niveles de fotorrespiración en las plantas de cultivo. Hasta la fecha, los éxitos han sido muy limitados.

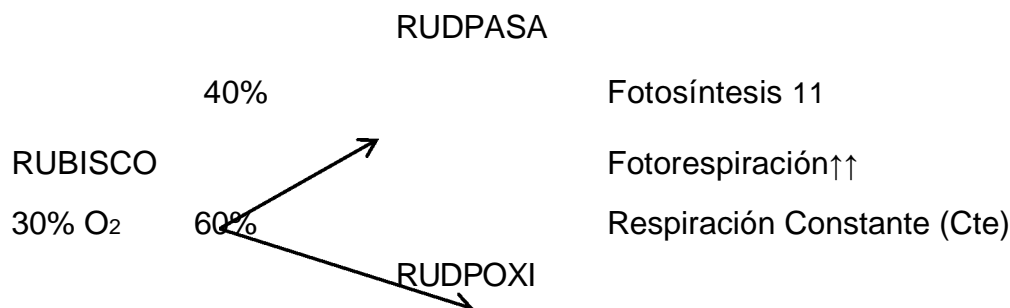
Balance energético de la fotorrespiración



Fotorrespiración en distintos tipos de plantas:

- En condiciones normales, osea a 21% de O₂ y 0,035% de CO₂





Según Joao Domingo Rodrigues – UNESP Brasil. 2000. (apunte de clases).

Plantas C3 = tiene fotorrespiración aparente.

Plantas C4 = No tiene fotorrespiración aparente.

La fotorrespiración es un proceso que disminuye la productividad de una planta.

PLANTAS CON EL METABOLISMO ÁCIDO DE CRASULACEAS

(MAC O CAM), son plantas que transpiran menos como los Kactus.

La fotosíntesis es el principal proceso en que el CO_2 es fijado por las plantas verdes; sin embargo hay ciertas plantas suculentas y semisuculentas, que fijan el CO_2 de noche o en la oscuridad, con un incremento de la acidez vacuolar, como resultado de la acumulación de ácido málico. Estas plantas pueden fijar el CO_2 en la oscuridad, a velocidades superiores de la que lo expulsan mediante la respiración, resultando en una acumulación neta de CO_2 . Si estas plantas se someten a la luz la acidez disminuye. La variación diurna en la acidez fue descubierta en *Bryophyllum calycinum*, especie perteneciente a la familia Crassulaceae y en consecuencia se denominó "Metabolismo ácido de crasuláceas (MAC o CAM)".

El MAC se encuentra presente en algunos géneros de las Bromeliaceae (piña, barba de palo), Agavaceae (sisal), Orchidaceae, Cactaceae, Compositae, Amaryllidaceae, Euphorbiaceae y por supuesto en la familia Crassulaceae. Hasta ahora se conocen más de 28 familias con plantas MAC, entre las monocotiledóneas y dicotiledóneas.

Las plantas con MAC habitan en regiones áridas y secas, donde el factor limitante es el agua, por lo que han desarrollado un mecanismo adaptativo, que les ofrece una ventaja ecológica, como es el cierre de los estomas de día y su apertura nocturna. Estas plantas presentan un ritmo circadiano (dura aproximadamente 24 horas), que consta de dos fases: 1) una oscura que produce una acidificación de la vacuola, por acumulación de ácido málico (C-4), con los estomas abiertos, 2) una luminosa en la que ocurre una desacidificación, producida por la descarboxilación del ácido málico (C-4), su conversión en ácido pirúvico (C-3) y CO_2 , con los estomas cerrados.

El CO_2 producido a partir del ácido málico, se fija en el ciclo de Calvin en la luz con los estomas cerrados. El CO_2 se fija en la oscuridad a través de una reacción con PEP(C-3), catalizada por la PEP-carboxilasa. El producto de esta reacción es el ácido oxalacético (OAA, C-4), el cual se reduce a malato(C-4). El

PEP viene de la glucólisis, de tal forma que a medida que se forma malato, el almidón disminuye de noche.

El "truco" que emplean las plantas MAC, es que incorporan CO_2 de noche, con los estomas abiertos y con el mínimo peligro de desecarse por evapotranspiración; ya que la humedad relativa es más alta y las temperaturas son más bajas. Durante el día, por el contrario, cuando la transpiración es mayor, las plantas MAC cierran los estomas, impidiendo la pérdida de agua.

Reacciones del Metabolismo Acido de Crassuláceas

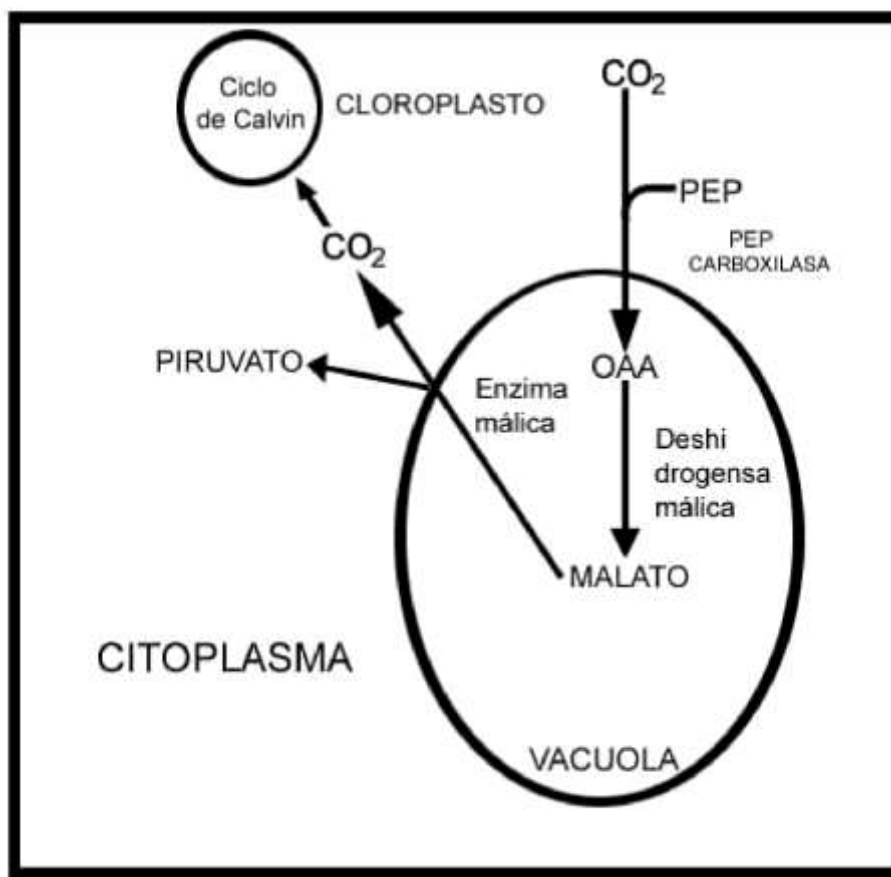


Figura 76. Traslado de CO_2 via malato (noche) se acumula en las vacuolas en Plantas CAM y de día se convierte en CO_2 en el ciclo de Calvin y Benson.

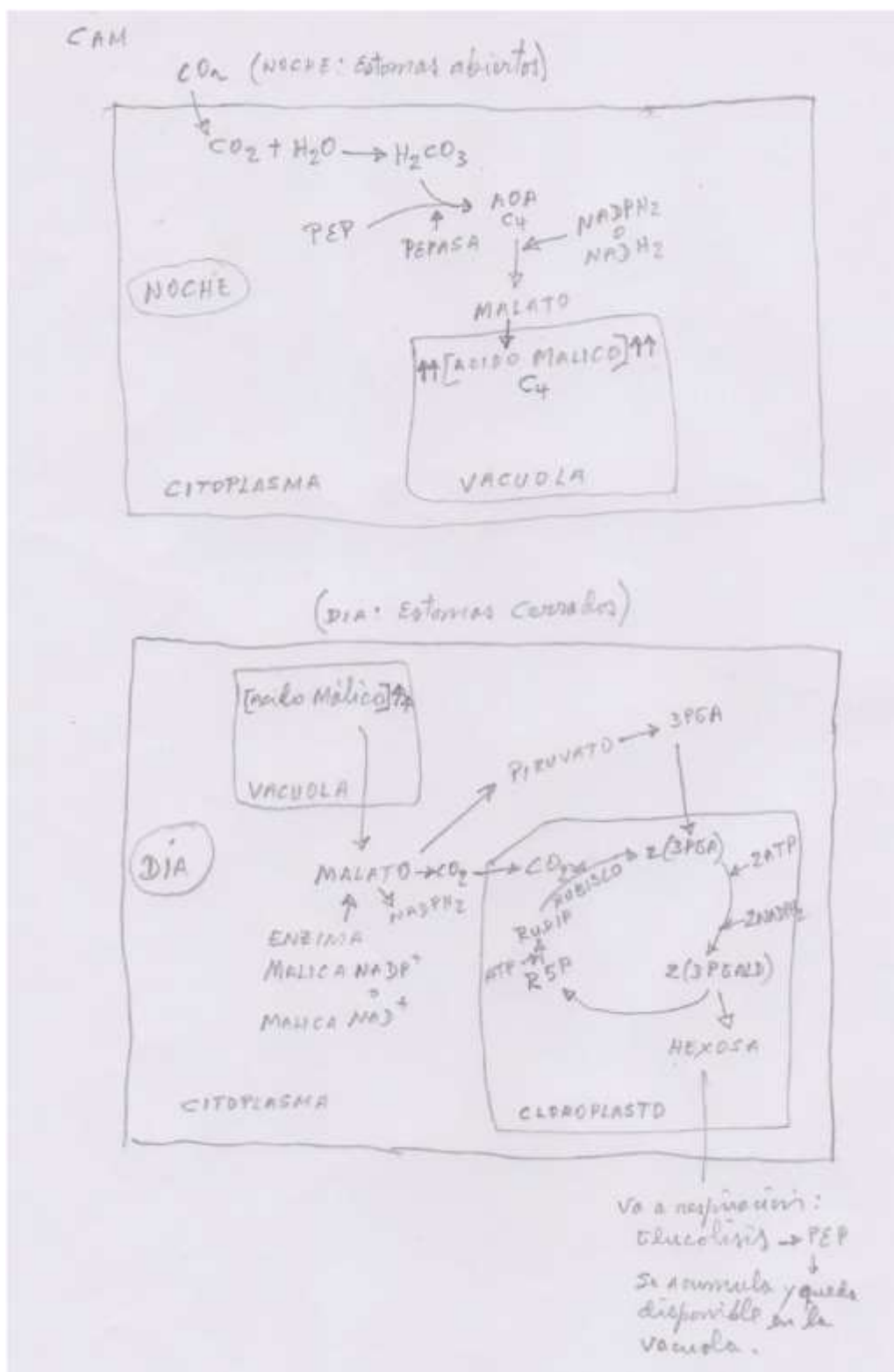


Figura 77. Esquema que detalla de la fijación de CO_2 en plantas CAM. Según Joao Domingo Rodrigues – UNESP Brasil. Según Joao Domingo Rodrigues – UNESP Brasil. 2000. (apunte de clases).

La sigla *CAM* significa, en inglés, —*metabolismo ácido de las Crasuláceas*ll, debido a que esta variante fotosintética se describió inicialmente en plantas de esta familia. Actualmente, se conoce un buen número de especies *CAM*, pertenecientes a diversas familias de plantas crasas o suculentas: *Crassulaceae*, *Cactaceae*, *Euphorbiaceae*, *Aizoaceae*, etc. La piña (*Ananas comosus*), perteneciente a la familia *Bromeliaceae*, presenta este tipo de metabolismo.

Se trata en general de plantas originarias desérticas o subdesérticas, sometidas a intensa iluminación, altas temperaturas y pronunciados déficit hídricos, adaptadas a condiciones de aridez bastante extremas. En estas plantas el tejido fotosintético es homogéneo, sin vaina diferenciada, ni clorénquima en empalizada. Pero sus estomas muestran un peculiar comportamiento ya que, al contrario de los de las demás plantas, se abren de noche y se cierran de día.

El metabolismo de las plantas *CAM* presenta también unas reacciones previas al ciclo de Calvin, similares a las de las plantas *C₄*, y se verifica asimismo una compartimentalización, pero no espacial (ya que el clorénquima es uniforme) sino temporal: las reacciones del ciclo de Calvin ocurren de día, con los estomas cerrados, mientras que las reacciones previas tienen lugar de noche, con los estomas abiertos. *Durante la noche*, los estomas abiertos permiten la fijación del CO_2 atmosférico por el PEP carboxilasa en el citosol; el PEP sobre el que actúa esta enzima procede de la degradación del almidón, acumulado en los cloroplastos durante el día. De la carboxilación del PEP se obtiene ácido oxalacético, que luego es reducido a málico.

El ácido málico no se transporta a otras células sino que se acumula en la vacuola de la misma célula. *Durante el día*, con los estomas cerrados, el málico sale de la vacuola y se descarboxila a pirúvico; en esta reacción se libera CO_2 , que entra a los cloroplastos para iniciar allí en ciclo de Calvin. El ácido pirúvico es transformado a PEP, que luego pasa a fosfato de triosa; las triosas en los cloroplastos dan lugar a la síntesis y acumulación de almidón, a partir del cual se regenerará el PEP durante la noche. Como la incorporación del CO_2 al ciclo de Calvin tiene lugar con los estomas cerrados, su concentración dentro de la hoja es lo suficientemente alta como para impedir que la enzima RuBisCO actúe como oxigenasa. De esta manera se anula la fotorrespiración en estas plantas.

El cierre diurno de estomas impide las intensas pérdidas de agua por transpiración que sufrirían estas plantas con la elevada temperatura y bajísima humedad relativa características de las regiones áridas y desérticas de las que son originarias. La apertura estomática y la entrada del CO_2 a la hoja, tienen lugar de noche, cuando la temperatura es menor, la humedad es mayor y las pérdidas de agua por transpiración son bajas.

La fijación y reducción del carbono en las plantas *CAM* presenta unos requerimientos energéticos, en términos de ATP, mayores que en las plantas *C₃* y *C₄*; su rendimiento fotosintético por unidad de tiempo es menor y su crecimiento es más lento. Como consecuencia de la adaptación de estas plantas a sus hábitats extremos, los mecanismos que regulan el equilibrio entre

transpiración y fotosíntesis están encaminados fuertemente hacia la minimización de las pérdidas de agua, asegurando así la supervivencia en el medio desértico, aunque a costa de una menor productividad.

METABOLISMOS EN PLANTAS C₃, C₄, CAM

DOS METABOLISMOS FOTOSINTETICOS CON UN MISMO DESTINO

La abertura de los estomas para la fijación del CO₂ en la fotosíntesis implica también una pérdida de agua, lo que puede ser un problema en ambientes áridos. Para solventarlo las plantas han desarrollado adaptaciones metabólicas y anatómicas que han permitido mejorar su eficiencia del uso del agua (EUA).

La EUA mide el carbono fijado por unidad de agua transpirada. Los metabolismos que abordaremos emplean distintas vías para mantener un uso eficiente del agua que determinará su eficacia biológica.

Plantas de metabolismo fotosintético C₃

Es el metabolismo más común entre las plantas. Anatómicamente, el mesófilo está diferenciado en esponjoso y en empalizada (Figura 1.a)

Este tipo de planta fijan el CO₂ realizando el ciclo de Calvin, catalizado por la enzima Rubisco. Existe un proceso respiratorio no mitocondrial que consume O₂ y produce CO₂ estimulado por la luz, conocido como fotorrespiración. Cobra importancia en las plantas C₃ porque disminuye la capacidad fotosintética: la velocidad de la fotosíntesis neta decae al fijarse menos carbono con el mismo gasto de agua. Además para compensar la pérdida de CO₂ se tiende a una apertura estomática. Todo esto conlleva a una menor EUA.

Plantas de metabolismo fotosintético C₄

Como adaptación a ambientes más cálido y secos, surgen nuevos metabolismos. El CO₂ llega a las células mesófilas, y se fija por la enzima fosfoenolpiruvato (PEP) que tiene más afinidad por el CO₂ que la Rubisco. Este CO₂ se convierte en malato y aspartato que pasarán a las células de la vaina, donde se transformarán en CO₂ que sigue el ciclo de Calvin. La fotorrespiración es inexistente o muy pequeña en estas plantas porque la alta concentración de CO₂ en las células de la vaina impide la fotorrespiración. Esta variante del proceso de fijación confiere una EUA mayor, puesto que se fija más carbono por molécula de agua.

Las plantas C₄ tienen un mayor gasto energético porque requieren la producción de una enzima extra, PEP. Pero lo compensan con una mayor EUA, mayor crecimiento y eficacia en la fotosíntesis a temperaturas altas. La anatomía en corona (Kranz) característica de estas plantas incluye dos tipos de células clorofílicas: Células del mesófilo, presentan anatomía en corona (Kranz) y rodeando a los conductos vasculares foliares, las células de la vaina (Figura 71.b). Estas plantas carecen de una capa de células de empalizada bien definida.

El metabolismo CAM

Difiere del C₄ en que los procesos fotosintéticos muestran una separación temporal en vez de física.

Constan de una fase en la que los estomas se abren durante la noche entrando CO₂ y saliendo agua.

El CO₂ será transformado en malato por la PEP. En la fase diurna, encontramos los estomas cerrados y la reserva de malato producida por la noche se transforma en CO₂ que permite el inicio del ciclo de Calvin.

Las CAM al dividir el metabolismo en noche y día reducen la pérdida de agua. El flujo de salida de agua es en función de la humedad exterior.

Por el día, cuando más seco está el aire, hay menor humedad relativa, mayor será la difusión de agua por transpiración.

Por este motivo los estomas se mantienen cerrados y solo se abren por la noche, cuando la humedad es significativamente mayor.

Esta es también otra variante del proceso de fijación de CO₂, en el que se mantiene una EUA mayor por la conservación del agua, pero conlleva una menor productividad que afecta al crecimiento.

Cuadro 7. Comparativa entre plantas C₃, C₄ y CAM.

| C A R A C T E R Í S T I C A S | C ₃ | C ₄ | C A M |
|--|-----------------------------|---------------------------|--------------------|
| EUA (g CO ₂ por kg H ₂ O) | 1-3 | 2-5 | 1-8 |
| Frecuencia estomática (estomas mm ⁻²) | 40-300 | <160 | 10-40 |
| Tasa transpiración (g/g ⁻¹ s ⁻¹) | 450-900 | 250-350 | 45-55 |
| Tasa crecimiento relativo (g g ⁻¹ d ⁻¹) | 5-20 | 30-50 | 0-0,5 |
| Temperatura óptima (°C) | 15-25 | 25 | Más de 30 |
| Fotorrespiración | Hasta 40% fotosíntesis neta | Muy pequeña o inexistente | Difícil de estimar |

Las plantas C₃ son muy competitivas en climas templados y húmedos mientras que las plantas C₄ son más competitivas en climas secos con largos periodos de aridez y con baja humedad relativa. Tienen condicionada su existencia a lugares con alta intensidad lumínica y temperatura, es el precio a pagar para ser más competitivas. Las plantas CAM son muy frecuentes en

climas desérticos en los que se producen condiciones extremas de altas temperaturas durante el día y de bajas temperaturas durante la noche.

No podemos hablar de un metabolismo mejor que otro, sino más adaptado a un determinado ambiente. La EUA de las plantas C4 se basa en la fijación de CO₂ por molécula de agua transpirada frente a las CAM que se basa en una menor pérdida de agua para la fijación del carbono.

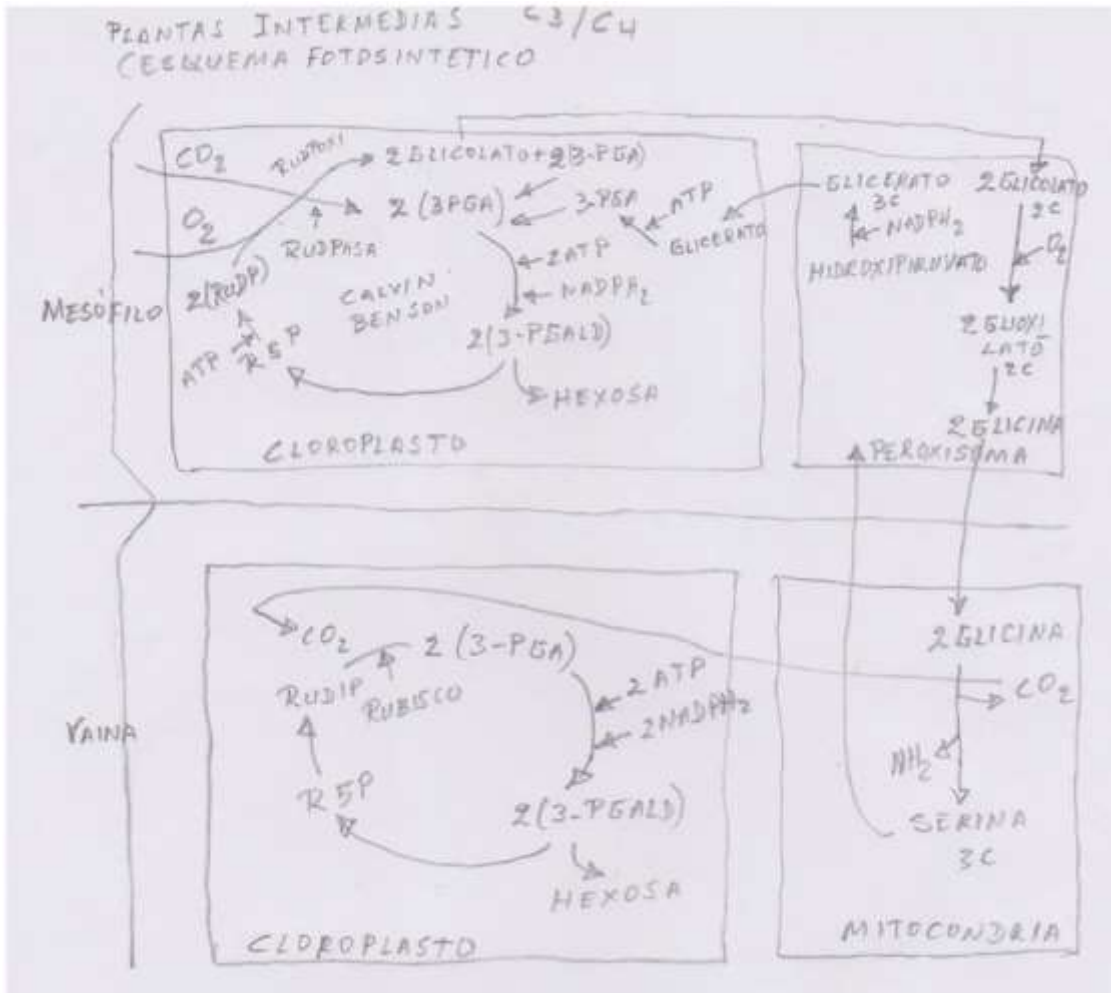


Figura 78. Detalle de la fijación de CO₂ en plantas intermedias. Según Joao Domingo Rodrigues – UNESP Brasil. 2000. (apunte de clases).

Hoja C4 en la vaina se produce carbohidrato cerca del Sistema Vasculare (tubos cribosos) y consume menos energía en el traslado activo. El azúcar producido está a 3 células de los tubos cribosos en el floema y se traslada vía plasmodesmos Célula de la Vaina, Parénquima del floema, célula acompañante, y tubo criboso. En Hoja C3 el traslado es desde el mesófilo foliar al tubo criboso y gasta más energía.

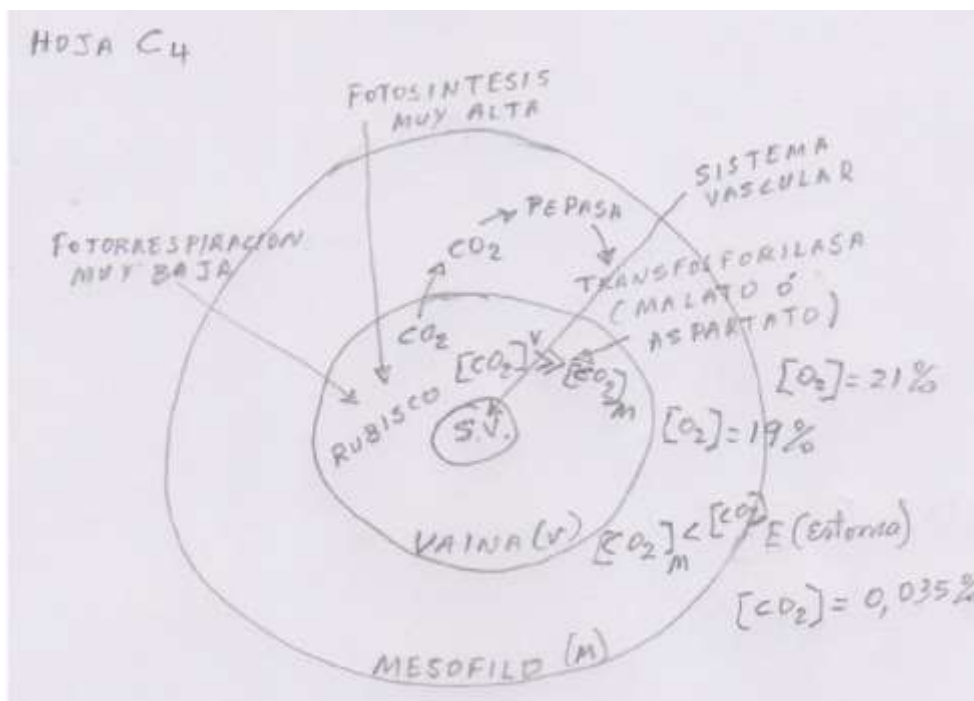


Figura 79. Detalle de una hoja C4 y la localización del sistema vascular. Según Joao Domingo Rodrigues – UNESP Brasil. Según Joao Domingo Rodrigues – UNESP Brasil. 2000. (apunte de clases).

Cuadro 8. Diferentes características anatómicas, bioquímicas, fisiológicas y ecofisiológicas entre plantas C₃, C₄ y CAM.

| N° | Caractrísticas | Clases de plantas | | |
|----|-----------------|---|---|---|
| | | C ₃ | C ₄ | CAM |
| 01 | Anatomía foliar | Mesófilo foliar (MF), ausencia de Vaina Vascular, con cloroplasto parenquimático. | Mesófil o Foliar, Presencia de Vaina vascular (VV), con cloroplasto (Anatomía Kranz). | Mesófilo foliar, ausencia de vaina vascular, células con grandes vacuolas |
| 02 | Cloroplastos | Granal | Mesófilo granal y vaina vascular granal o agranal | Granal |
| 03 | Clorofila a/b | Cerca de 3 : 1 | Cerca de 4:1 | ≤ 3 : 1 |

| | | | | |
|----|---|--|---|---|
| 04 | Relaciones CO₂: ATP: NADPH⁺ (para cada mol de CO₂ absorbido) Exosa = 6CO₂ 1 NADPH₂=3ATP | 1 : 3: 2 3ATP y 2NADPH ₂ para la síntesis de Carbohidrato (por cada CO ₂) 6CO ₂ = 18ATP y 12NADPH ₂ = 18ATP+36ATP = Uso de 54ATP | 1 : 5 : 2 3ATP para la síntesis de Carbohidrato 2ATP para el transporte de CO ₂ (procedente de la luz) 6CO ₂ = 30ATP + 36NADPH ₂ = 66ATP Usa 12 ATP + | En la Luz 1 : 3 : 2 En el oscuro 1 : 5 : 2 |
| 05 | Saturación de luz a la fotosíntesis | Se satura con 1/3 de la radiación sola máxima de un día de verano (50—150 Wm ⁻²) (500-100 μmol m ²) S ⁻¹ (600 a 800 mmol quanta m ⁻² s ⁻¹). Radiació de 300 cal/cm ² | No satura a altas intensidades (500 Wm ⁻²) (2000mmol quanta m ⁻² s ⁻¹). En verano 900 cal/cm ² ± 90000 lux | En las intensidade s intermediari as y altas, inferior a las plantas C ₄ |
| 06 | Eficiencia quántica (mol quanta/mol CO₂) | 30°C : 18,9 20°C : 15,4 | 20 o 30°C Gramíneas = 15,9; dicotiledóneas = 17,5 | Asimilación de CO ₂ nocturna |
| 07 | Aceptor primario de CO₂ atm. | Ribulosa 1,5 difosfato (RuDP) | Fosfoenolpiruvato (PEP) | En la luz: RuDP. En el oscuro: PEP |
| 08 | Primer producto estable de la fotosíntesis | Ácidos C ₃ Ácido 3- fosfoglicérico (PGA) | Ácidos C ₄ (AOA) (Malato o Aspartato) | PGA a luz Malato en el oscuro |
| 09 | Enzima primária de carboxilación | RuDP Carboxilasa/ oxigenasa Rubisco carboxidismutasa | PEP carboxilasa (PEPcasa) | Rubisco em la luz. PEPcasa en el oscuro |
| 10 | Km de la enzima de carboxilación | Rubisco (a5μMCO ₂) 20mM HCO ₃ ⁻ | PEPcasa (a20μMCO ₂) 100 a 160mM HCO ₃ ⁻ | Rubisco: luz PEPcasa: oscuro |
| 11 | Localización de la enzima de carboxilación | Rubisco — cloroplasto (MF) | PEPcasa — citoplasma (MF) Rubisco — cloroplasto (VV) PEPcasa es enzima 60 veces + eficiente que | Rubisco/ cloroplasto PEPcasa/ citoplasma (MF) |

| | | | | |
|--------|--|---|---|--|
| | | | Rubisco en la carboxilación. | |
| 1 2 | Sustrato de la carboxilación | CO ₂ | HCO ₃ ⁻ | CO ₂ : luz HCO ₃ ⁻ : oscuro |
| 1 3 | Temperatura óptima/enzima | Rubisco: 20 - 25°C | PEPcase: 30-35°C | Sin referencia |
| 1 4 | Temperatura óptima para fotosíntesis | 20 - 35°C Planta de clima templado μ 25°C | 30 - 45°C Planta de clima tropical μ 35°C | 30 - 45°C Planta de los desiertos μ 40°C |
| 1 5 | Abertura estomática en presencia de luz | Grande (fotoactivas) | Pequeña a media (fotoactivas) | Pequeña o nula (no fotoactivas) |
| 1 6 | Efecto depresivo del oxígeno (21%) en la fotosíntesis | Fuerte inhibición en presencia de luz | Sin efecto | Fuerte inhibición en presencia de luz |
| 1 7 | Efecto de altas temperaturas | Aumento de proceso fotorrespiratorio | No hay aumento | No hay aumento |
| 1 8 | Velocidad relativa de la fotorrespiración | 3 a 5 veces más que la respiración en el oscuro | 10 veces menor que la respiración en el oscuro | Difícil de determinar |
| 1 9 | Liberación de CO ₂ en la luz (fotorrespiración aparente) | Si, presente en torno de 25 a 30% del valor de fotosíntesis | No, medible | No medible, difícil de determinar |
| 2 0 | Punto de compensación (PC) de CO ₂ . $CO_2 \text{ liberado} = 20 \frac{\mu mol CO_2}{mol \cdot h}$ $Aire [CO_2] = 0,035\% = 350 \text{ mg/l} = 350 \text{ ppm}$ | 50 - 150ppm (Alto); 30-70 $\mu mol CO_2 \text{ mol}^{-1} L^{-1}$ Fotosíntesis = respiración. Fotosíntesis líquida = Fotosíntesis bruta - (Respiración + Fotorrespiración). 350 - 150 = 200ppm | 0 - 10ppm (bajo); 0-10 $\mu mol CO_2 \text{ mol}^{-1}$ 0-10 $\mu L CO_2 L^{-1}$ Fotosíntesis = respiración + fotorrespiración. Fotosíntesis líquida = Fotosíntesis bruta - Respiración. 350 - 10 = | En la luz: 0 - 200 $\mu mol CO_2 \text{ mol}^{-1}$ el oscuro: < 5 $\mu mol CO_2 \text{ mol}^{-1}$ |
| 2 1 | Punto de compensación lumínica (RFA) | 6-10 $\mu mol \text{ m}^{-2} \text{ S}^{-1}$ | 4-8 $\mu mol \text{ m}^{-2} \text{ S}^{-1}$ | Sin referencia |

| | | | | |
|--------|--|---|--|---|
| | 20°C 340ppmCO ₂ | | | |
| 2 2 | Consumo de H ₂ O para producción de materia seca | 450-1000 moles de H ₂ O transpirada/mol de CO ₂ asimilado. O 450-100ml de agua transirada/por gramo de MS | 200-350 moles de H ₂ O transpirada/mol de CO ₂ asimilado. (250 a 350 ml de agua transpirada por g de masa seca). | 18-125 moles de H ₂ O transpirada/mol de CO ₂ asimilado |
| 2 3 | Eficiencia en el uso de agua (EUA) | 1 a 3g CO ₂ Kg H ₂ O ⁻¹ | 2 a 5g CO ₂ Kg H ₂ O ⁻¹ | 10 a 40g CO ₂ Kg H ₂ O ⁻¹ |
| 2 4 | Nitrógeno en la hoja para alcanzar fotosíntesis máxima | 6,5-7,5% peso seco | 2,0-4,5% peso seco | Sin referencia |
| 2 5 | Requerimiento de Na ⁺ como micronutriente | No | Sí | Sí |
| 2 6 | Eficiencia em el uso del nitrógeno (EUN) | Rubisco > 50% | Rubisco: 27% PEPcasa: 10% | Rubisco: 25% PEPcasa: 10% |
| 2 7 | Velocidad máxima de crecimiento gms dm ⁻² día ⁻¹ | 0,5 – 2,0 | 4,0 – 5,0 | 0,015 – 0,02 |
| 2 8 | Capacidad líquida FL= [FB-(FR+R)] | Leve fotossintética h-1 | alta Alta dm-2 60-100 2 15-25µmolCO2m-2 S-1 25-40µmolCO2m-2 S-1 | leve oscuro 2,5- h-1µmolCO2m-2 |
| 29 | de los produtos de asimilación | Redistribución | | |

| | | | | |
|--|--|---|-------------------------|-----------|
| | | Producción materia seca día-1 | 0,2 a 0,4 ton ha-10,5 t | menor que |
|--|--|---|-------------------------|-----------|

| | | (leguminosas) | (Cereales) | (baja) |
|----------|---|---|---|--------|
| 3 | | Sistemas de Entrada por difusión, Por difusión hasta Por difusión entrada de CO ₂ diurna, cuando se abren los estomas atmosférico. | y entra el CO ₂ mesófilo, a partir transporte es metabólico con gasto de energía de la luz solar (gasto de 2ATP/mol de soluto de CO ₂ llevando el CO ₂ hasta el cloroplasto de la vaina. | |
| 3 | Rubisco | Contenido ± 50% del N ₂ que absorbe la planta de Rubisco | va para la síntesis va para la síntesis | |
| 3 | NADPH ₂ , citocromos, ATP, Enzimas la reducción del CO ₂ | Competencias Reducción del N y Reducción del N del CO ₂ en el ferredoxina, competición reductivas. Preferencias | CO ₂ en la vaina => | |

Las plantas C₄ son más productivas que las plantas C₃, de 40° de latitud hacia el Ecuador; de 40 a 50 ° de latitud C₄ = C₃ (C₄ por <T° y < luz disminuyen su eficiencia); mayor de 50 ° de latitud C₃ > C₄. En áreas accidentadas hay variación de eficiencia.

Las plantas C₄ cuanto más bajas más productivas

Ciclo del carbono

La atmósfera que rodea el globo terráqueo suministra el CO₂ a las plantas y el oxígeno a todos los organismos vivos. La atmósfera primitiva contenía grandes

cantidades de dióxido de carbono, amonio, y metano, en otras palabras era fuertemente anóxica (carente de O₂). Actualmente, los componentes principales de la tropósfera son: 78 vol % nitrógeno, 21 vol % oxígeno, 0,95 vol % gases raros y 0,035 vol % anhídrido carbónico.

Las plantas capturan el dióxido de carbono de la atmósfera y de los océanos, fijándolo en compuestos orgánicos (son consumidoras de CO₂). Las plantas producen también CO₂ mediante la respiración, el cual es rápidamente usado por la fotosíntesis. Las plantas convierten la energía del sol en energía química, almacenada en los enlaces C-C, de los compuestos orgánicos.

Los animales liberan CO₂, como producto final de la respiración, en la que se degradan carbohidratos sintetizados en la fotosíntesis. El balance entre el CO₂ fijado y el CO₂ producido es mantenido por la formación de carbonatos en los océanos. Lo que remueve el exceso de CO₂ del aire y del agua (que están en equilibrio en relación al CO₂). Desde mediados del siglo XVIII, el contenido del CO₂ atmosférico ha ido aumentando, primero lentamente, pero desde mediados del siglo XX el incremento ha sido rápido (en promedio de 1,3 $\mu\text{l} \times \text{L}^{-1}$ por año). Durante ese lapso de tiempo se han destruido extensas regiones boscosas tanto en norteamérica, como en las regiones tropicales de la tierra, dando paso a grandes urbes humanas. Así mismo, se han quemado cantidades apreciables de madera, de combustibles fósiles, como el carbón y el petróleo.

Las actividades industriales, así como las guerras han destruido enormes cantidades de materia orgánica. Todos estos acontecimientos han reducido las reservas de carbono en la biomasa y el suelo; y han incorporado cantidades excesivas de CO₂ a la atmósfera. El dióxido de carbono en la atmósfera, al lado del vapor de agua, metano, ozono y óxido de nitrógeno (N₂O) ejercen una influencia negativa en el clima, produciendo un calentamiento global de la atmósfera, que se conoce como efecto invernadero. Así mismo, como resultado de la actividad humana se han agregado a la atmósfera, hidrocarburos halogenados (cloro-fluoro-carbonos) y otros gases en pequeñas cantidades, que destruyen la capa de ozono, que protege a los seres vivos de los efectos dañinos de la radiación ultravioleta.

Como resultado de la combustión de los vehículos automotores, se liberan a la atmósfera dióxido de azufre, óxidos de nitrógeno y CO₂, que al combinarse con el vapor de agua de la atmósfera, generan ácidos, que al ser lavados por las aguas de lluvia, nieve o niebla producen las lluvias ácidas o precipitaciones ácidas, con valores de pH que están entre 3 y 4. Esta lluvia es causante de grandes daños a los bosques cercanos a áreas industrializadas y de enfermedades crónicas de la vegetación. Los daños antropogénicos a los bosques son el resultado de la actividad contaminante de los seres humanos. La lluvia ácida produce alteraciones en los suelos y en las aguas, afectando la microflora, la macro y microfauna; así como los procesos de nitrificación y disponibilidad de cationes básicos. Al lado del efecto tóxico de sus componentes químicos, el depósito de lluvia ácida, puede causar efectos directos a los órganos fotosintéticos, tales como necrosis de los bordes foliares, destrucción de la cutícula, y de las ceras cuticulares de las acículas de las coníferas.

Una alternativa que reduciría la cantidad de anhídrido carbónico atmosférico sería capturando el CO₂ al plantar bosques que actúen como sumideros de CO₂ reduciendo las concentraciones de éste gas mediante su fijación en la fotosíntesis y su conversión en materia orgánica.

El problema del calentamiento global de la atmósfera puede producir que se derritan los casquetes polares de Groenlandia y del polo sur, elevando el nivel del mar a una altura hasta de 120 metros. Los cambios en temperatura y en el nivel de los mares, podrá afectar el clima, alterando la producción de cultivos alimenticios, así como los regímenes de lluvias, ocasionando inundaciones, pérdida de vidas humanas, de cultivos agrícolas y dejando grandes masas de población desamparadas y sin hogares.

Métodos para medir la fotosíntesis

Se estará estudiando acerca de la fotosíntesis y la respiración, tomando en cuenta de que la vida sobre la tierra existe gracias a dos procesos vitales los cuáles son precisamente la fotosíntesis y la respiración.

La fotosíntesis tiene que ver con la forma cómo las plantas transforman la energía solar en energía química liberando al mismo tiempo oxígeno y agua y almacenando la energía bajo la forma de carbohidratos. La respiración se refiere al proceso mediante el cual las plantas toman oxígeno y desprenden dióxido de carbono. Ambos procesos son inversos.

- Observar con la ayuda de sensores electrónicos, los cambios en las Concentraciones de O₂ y CO₂ cuando las plantas reciben la luz del día.
 - Analizar los procesos metabólicos de respiración y fotosíntesis a través de la Cuantificación de los productos metabólicos: O₂ y CO₂ respectivamente, usando sensores electrónicos.
 - Analizar el impacto que pueda tener el dormir en una habitación con varias Plantas.
 - Entender algunos de los eventos que se presentan durante los procesos Metabólicos de respiración y fotosíntesis.
 - Entender la relación entre el metabolismo de plantas y humanos; en Habitaciones donde estos últimos duermen.

Todos los métodos para medir fotosíntesis se basan en la medición del intercambio gaseoso (CO₂ – O₂) que ocurre durante el proceso. La medición se realiza sobre uno de los dos gases y los resultados siempre se expresan en tres dimensiones: mg (gas). Área (foliar cm² o dm²). Tiempo (minutos, segundos, horas). En el caso que se mida fotosíntesis en algas en vez de Área foliar se emplea la unidad de volumen (cm³ de agua). Existen equipos más modernos y muy costosos, que pueden medir la fotosíntesis en plantas basados en los principios de la porometría. Consisten en hacer pasar una corriente de aire, a través de una sección de hoja (1 cm²), y medir que equipamiento adecuado las características del aire de entrada y salida. El

balance se expresa como ganancia neta de fotosíntesis (CO_2) por área y por tiempo (generalmente 1 minuto). Este equipamiento permite realizar medidas instantáneas de la fotosíntesis en plantas.

Clasificación de los métodos

1) POR PRODUCCIÓN DE OXIGENO

1.1. Método manométrico (microrespirómetro de Warburg)

1.2. Método de las botellas (determinación de Oxígeno por Winckler)

1.1. El micro respirómetro de Warburg.- se puede utilizar para medir respiración o bien fotosíntesis. En la medición se debe eliminar o capturar con un reactivo químico uno de los gases, para poder medir el otro. La técnica si bien es precisa en sus resultados es complicada en cuanto al equipamiento y calibración de volúmenes de cada equipo. Requiere mucha pericia de laboratorio y controles estrictos de tiempo, temperatura y mediciones de las alturas de desplazamiento de los líquidos (Solución de brodie) en las columnas con microcapilares. Un detalle del equipo y de su funcionamiento puede consultarse en el libro de Sivori, Montaldi y Caso, 1980 pág. 85 y en el de Ritcher, 1972, pág. 46-47.

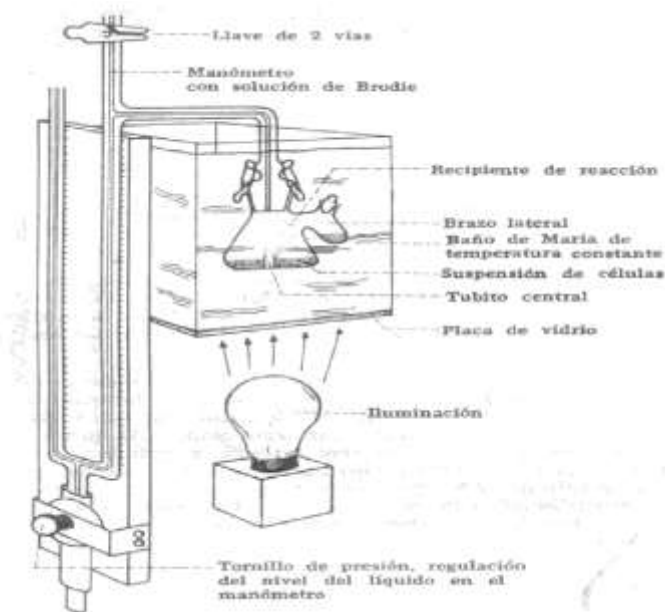


Figura 80. Respirómetro de Warburg

1.2. El método de las botellas.- se utiliza ampliamente para medir fotosíntesis en ambientes acuáticos (ríos, lagunas, lagos, mares, océanos). Es decir permite estimar la productividad primaria de los ambientes acuáticos. El método se basa en medir la producción de oxígeno (Ver determinación de oxígeno disuelto) en tres botellas especiales, de 300 cc de capacidad, con tapón esmerilado y debidamente rotuladas.

En el sitio de muestreo se llenan con agua del lugar las tres botellas, a una se le agrega cloruro de manganeso y reactivo de Winkler (Ver determinación oxígeno disuelto), se la tapa con cuidado y se la coloca en el medio acuático, colgada o suspendida con un dispositivo de flotación. Otra botella, con agua del lugar, se tapa con cuidado y se coloca en el medio acuático a la misma profundidad que la anterior.

La tercer botella, con agua del lugar, se tapa con cuidado y la envuelve en una bolsa de polietileno negra (para evitar la entrada de la luz solar), luego se cuelga del dispositivo de flotación a la misma profundidad de las anteriores. Este dispositivo (las tres botellas a la misma profundidad) se deja por un tiempo de 2 o 3 horas, y luego se retiran.

. En laboratorio se sigue el procedimiento (Ver determinación oxígeno disuelto) para todas las botellas y se estiman los mg de O₂ que existen en cada una

Botella 1: Medimos el oxígeno inicial (O_i)

Botella 2: Medimos el oxígeno producido (O_p) por fotosíntesis de las algas menos el oxígeno respirado por las algas (O_r).

Botella 3: Medimos el oxígeno respirado (O_r)

Cuadro 9. Oxígeno disuelto. Método de las botellas.

| Botella 1 | Botella 2 | Botella 3 |
|----------------|--|---------------------------------|
| O _i | O _i + O _p - O _r | O _i - O _r |

Fotosíntesis Neta (FN) = Fotosíntesis Bruta (FB) - Respiración (R) FN = O_i + O_p - O_r - (O_i - O_r) = O_i + O_p - O_r - O_i + O_r = O_p

R = O_i - (O_i - O_r) = O_i - O_i + O_r = O_r FB = FN + R = O_p + O_r

Determinación del oxígeno disuelto por el Método de Winkler

Inmediatamente después de que se haya tomado la muestra de agua, se añade 2 cm³ de cloruro de manganeso al 50 por 100 en solución y 2 cm³ de reactivo Winkler (100 g de hidróxido potásico y 60 g de yoduro potásico en 200 cm³ de agua) usando pipetas que lleguen bastante debajo de la superficie. Esto puede hacer que se derrame algo de agua de la parte de arriba. Volver a colocar la tapa, quitando el aire, y mezclar completamente invirtiendo y girando la botella con fuerza. Se forma un precipitado de hidróxido manganeso, pero el oxígeno del agua puede transformar parte de éste en una cantidad equivalente de hidróxido mangánico.

Al volver al laboratorio, dejar reposar el precipitado. A continuación introducir* cuidadosamente 2 cm³ de ácido sulfúrico concentrado, reponiendo el tapón rápidamente y evitando la introducción de aire o la pérdida de precipitado.

Mezclar completamente por rotación hasta que se disuelva el precipitado; el hidróxido mangánico oxida el yoduro potásico en una cantidad equivalente a la de yodo libre. Puede hacerse una estimación aproximada a partir del color del yodo. La comparación con cristales standard en un comparador B.D.H o la titulación darán una determinación más precisa.

TITULACIÓN: girar para mezclar; a continuación, usando una pipeta, llevar 100 cm³ de la botella de muestra a un recipiente cónico. Titular inmediatamente con solución N/80 normalizada de tiosulfato sódico hasta que solamente quede un débil color amarillo; agregar unas pocas gotas de solución de almidón recién preparadas, y a continuación añadir más tiosulfato gota a gota justamente hasta que desaparezca el color azul. Cada cm³ de tiosulfato utilizado es

equivalente a 1 mg de oxígeno por litro; así, **x cm³ de tiosulfato** implican una concentración de **oxígeno de x mg por litro**.

2) P or medición del CO₂ absorbido

2.1. Método de la campana por

titulación 2.2. Absorción infrarroja de

CO₂ 2.3. Absorción de CO₂ radioactivo

2.1. El método de la campana por titulación. consiste en hacer circular aire de concentración conocida de CO₂ por un circuito cerrado (Ver esquema del dispositivo), dentro del cual se coloca una planta. Se hacen dos corridas, una en blanco para conocer la concentración de CO₂ del aire y otra con planta, durante un tiempo (minutos u horas), y luego se titulan los recipientes que contienen el Ba(OH)₂. El Ba(OH)₂ reacciona con el CO₂ y forma CO₃Ba₂. Este se titula con una solución ácida.

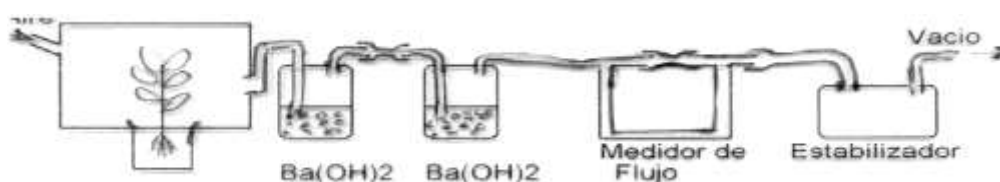


Figura 81. Esquema del dispositivo entrada Aire.

Para medir la fotosíntesis por este método se emplea la siguiente fórmula:

$$F = \frac{T.N. PM CO_2}{H} \cdot A$$

Donde:

A: es el área foliar de la planta; H. tiempo en horas, T, es la diferencia entre las titulaciones de los dos circuitos (Blanco y con planta); N la normalidad de la solución y PM el peso molecular del CO₂. El resultado final se expresa en mg

CO₂ dm⁻² h⁻¹

Absorción infrarroja del CO₂. El CO₂ tiene la propiedad de absorber longitudes de onda del rojo - rojo lejano.

Un dispositivo apropiado (Ver figura 82) con dos tubos de vidrios en sistema cerrado (uno con aire y el otro con la planta a investigar o medir la fotosíntesis), permite evaluar en el tubo de la derecha la disminución de la concentración del CO₂ por efecto de la fotosíntesis de la planta.

Esa disminución, implica menor número de moléculas de CO₂ en el dispositivo de la derecha, y por lo tanto la luz (infrarroja) colocada encima de cada tubo de vidrio, pasará en mayor cantidad hacia el dispositivo inferior.

En este dispositivo –caja cerrada con un diafragma sensible a las variaciones de presión- el compartimento de la derecha se calentará más que el de la izquierda y ello provocará un desplazamiento del diafragma.

Esta señal se amplifica y grafica adecuadamente por un dispositivo externo. De manera que se pueden comparar las concentraciones de gas conocidas (al inicio del experimento, con un blanco sin planta) y las finales (con plantas, al cabo de un tiempo).

El método es sensible a la cuarta cifra decimal 0,0001, por lo cual es muy preciso. Los resultados se expresan en las tres dimensiones: mg CO₂ cm⁻² h⁻¹.

Dispositivo experimental para medición de fotosíntesis por absorción infrarroja del CO₂.

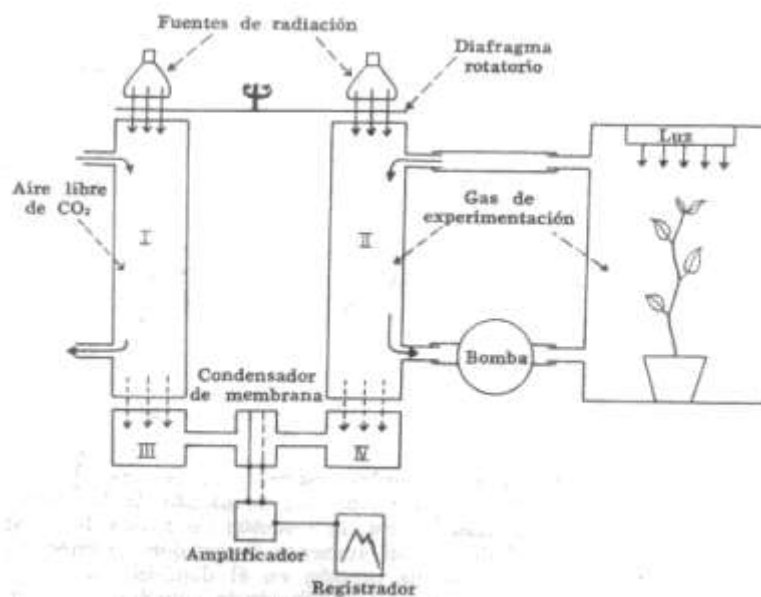


Figura 82. Dispositivo para medir la fotosíntesis.

3) Por porometria

son los más modernos y rápidos para medir fotosíntesis y transpiración a campo, con control de temperatura, CO₂, H₂O y radiación PAR. Todos estos equipos son portátiles y cuentan con DataLog, lo cual permite el almacenamiento de información y posterior descarga a una PC. En la página siguiente se pueden apreciar dos modelos de equipos disponibles en el mercado, y de uno un detalle del censor (cubette) que apreta un disco de un cm de hoja donde realiza la medición. En el mismo se pueden visualizar las flechas de circulación del aire que atraviesa la hoja.

Cuadro 10. Las medidas directas que arrojan estos equipos y sus unidades son las siguientes:

| Medidas Directas | Unidades | Margen de error |
|--------------------------|-------------------------------------|-----------------|
| Resistencia estomática | sec cm ⁻¹ | 10 % |
| Transpiración | µg cm ⁻² s ⁻¹ | 6 % |
| Humedad relativa | % | 3 % |
| Temperatura de la hoja | °C | 0,35 °C |
| Temperatura de la cámara | °C | 0,25 °C |
| Flujo de aire | cm ⁻³ sec ⁻¹ | 5 % |
| PAR | µE s ⁻¹ m ⁻² | 5 % |

4) Recuento de burbujas (Demostrativo)

BIBLIOGRAFÍA

<http://fotosintesisyrespiracin.blogspot.com/>

<http://www.md.ucl.ac.be/celil/vanhelmont.html> <http://jquarter.members.beeb.net/morelunar.htm>

<http://www.rena.edu.ve/TerceraEtapa/Biologia/fotosintesisyrespiracion.html>

http://html.rincondelvago.com/fotosintesis-y-respiracion_2.html

http://ve.kalipedia.com/ecologia/tema/respiracion-fotosintesis.html?x1=20070418klpcnaecl_1.Kes

<http://fotosntesisyrespiracin.blogspot.com/>

http://www.euita.upv.es/varios/biologia/Temas/tema_11.htm#El%20problema%20de%20la%20fotorrespiración.

Roberto Navais Barranco.

Enlace Recomendado:

Hernández Gil, Rubén, 2001. Enzimas:

<http://www.arrakis.es/~lluengo/biologia.html>;

<http://WWW.foret.ula.ve/~rubenhg> Libro botánica On Line.

Universidad de Los Andes - Mérida – Venezuela. Unidad de Desarrollo Virtual. **Versión 2.**

- ✓ Fisiología vegetal. J.Barceló Coll, G.Nicolás Rodrigo, B.Sabater García, R.Sánchez Tamés.215-226.
- ✓ Introduction to Plant Physiology. W.G.Hopkins, N.Hüner. 3rd edition. John Wiley & Sons Inc. 104-122
- ✓ Plant physiology. M. Schopfer. Editorial Springer 245-257
- ✓ Ecología. T.Smith, R.Smith. 6ª ed. Pearson.24-27

RESPIRACIÓN

Introducción, cociente respiratorio, formación de glucosa a partir de carbohidratos de reserva, glucólisis, balance de ATP en la glucólisis, respiración aeróbica. descarboxilación oxidativa del ácido pirúvico (C-3), cadena transportadora de electrones, gradiente de protones y fosforilación oxidativa, balance energético de la respiración aeróbica.

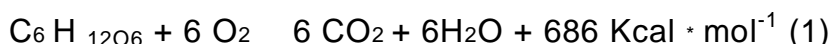
INTRODUCCIÓN

Antes de comenzar el tema, definamos primero el metabolismo como el conjunto de todos los cambios químicos que ocurren en una célula o en un organismo. Los procesos de síntesis como la fotosíntesis o formación de sustancias orgánicas por organismos fotosintéticos, en presencia de luz, a partir del CO₂ y H₂O pertenece al anabolismo; mientras que la respiración, en la que se forman sustancias simples como el CO₂ y H₂O, a partir de compuestos orgánicos complejos como la glucosa, pertenece al catabolismo. Cuando el anabolismo y el catabolismo ocurren a la misma velocidad, la planta se encuentra en un estado estacionario, se dice que está latente o en reposo. En esta situación no se reflejan cambios de masa. Pero cuando el anabolismo predomina sobre el catabolismo, la planta crece. En caso de que las reacciones catabólicas excedan las anabólicas, la planta pierde masa y se está muriendo.

La respiración es un proceso catabólico en el que se oxida una molécula combustible, la glucosa, cuya energía es atrapada en forma de ATP (fuente universal de energía).

La respiración puede ser anaeróbica en ausencia del oxígeno (glucólisis) o aeróbica en presencia de oxígeno molecular.

La reacción general de oxidación de la glucosa es:

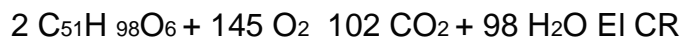


Esto significa que 180 g (1 mol) de glucosa es oxidada por 192 g (6 moles) de oxígeno, con la formación de 264 g (6 moles) de CO₂, 108 g (6 moles) de agua y la liberación de 686 Kcal · mol⁻¹ (2872 KJ · mol⁻¹), ésta es una reacción fuertemente exergónica, con una energía libre (**DG°**) negativa, y representa la respiración aeróbica. Esto significa que por cada mol de oxígeno absorbido (32g), se producen 114 Kcal de energía. De la ecuación (1) se deduce que la

respiración se puede medir por la cantidad de oxígeno absorbido o de anhídrido carbónico liberado.

Cociente respiratorio (CR)

Sí como sustratos respiratorios se oxidan por completo, sacarosa, fructosa, glucosa o almidón, el volúmen de O₂ absorbido es igual al volúmen de CO₂ liberado, el cociente respiratorio es uno. Las semillas de cereales y de muchas legumbres tienen valores cercanos a uno, cuando se oxidan grasas y aceites durante la respiración, a menudo el cociente respiratorio es 0.70. Por ejemplo cuando se oxida el tripalmitato de glicerol:



$$\text{es: } 102/145 = 0,70$$

Si se oxida un sustrato más rico en oxígeno, el CR es mayor de 1, por ejemplo: la oxidación de ácido málico:

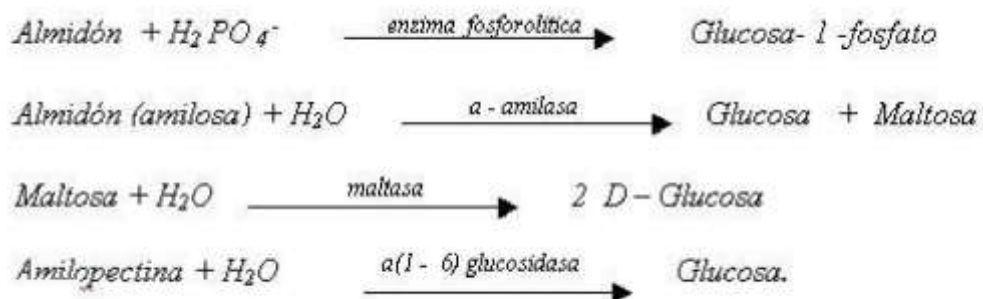


$$\text{es: } 4/3 = 1,33$$

El cociente respiratorio de proteínas es cercano a 1,0. Conociendo los valores del cociente respiratorio, se puede obtener información del tipo de sustrato que es usado en la respiración.

FORMACIÓN DE GLUCOSA APARTIR DE CARBOHIDRATOS DE RESERVA

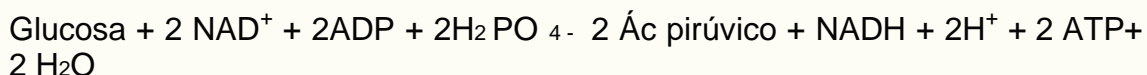
Aunque la glucosa es el carbohidrato más comúnmente usado como sustrato respiratorio, se deriva del almidón que se almacena en forma de gránulos insolubles en agua, mediante las siguientes reacciones:



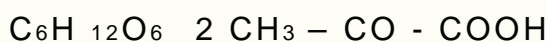
GLUCOLISIS

La glucólisis se localiza en el citosol y consiste en la degradación de glucosa, glucosa – 1 - fosfato o fructosa para formar ácido pirúvico. La glucólisis se puede considerar biológicamente como un proceso primitivo, ya que surgió antes de la aparición de los organelos celulares.

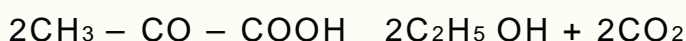
La glucólisis consiste de dos fases. En la primera fase se transforma la glucosa (C₆) originando dos moléculas de tres carbonos (C₃); en la segunda se oxidan las moléculas C₃ transformándose en dos moléculas de ácido pirúvico, ATP y NADH + H⁺



Bajo condiciones anaeróbicas, sin participación del oxígeno molecular, el ácido pirúvico se transforma en alcohol etílico, mediante la fermentación alcohólica:

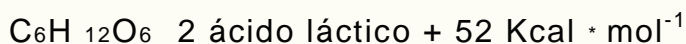


glucosa ácido pirúvico.



ácido pirúvico alcohol etílico.

Cuando la glucosa es oxidada a alcohol etílico y anhídrido carbónico, se liberan 52 Kcal · mol⁻¹ (217,71 KJ · mol⁻¹). Muchos organismos pueden fermentar el ácido pirúvico en ácido láctico (fermentación láctica).



En ciertas condiciones los tejidos vegetales pueden estar sujetos a bajas concentraciones de oxígeno (hipoxia) o ausencia total de oxígeno (anoxia). Condiciones que se dan bajo suelos inundados, en los que la concentración de oxígeno es muy baja, dificultando su difusión a las raíces, que entonces operan formando ácido láctico o alcohol etílico.

Podemos resumir la transformación de ácido pirúvico en el proceso glucolítico de la manera siguiente:



La fermentación alcohólica consiste de 11 reacciones enzimáticas, mostradas a continuación y pasos de la formación de Etanol y ácido láctico, a partir de glucosa

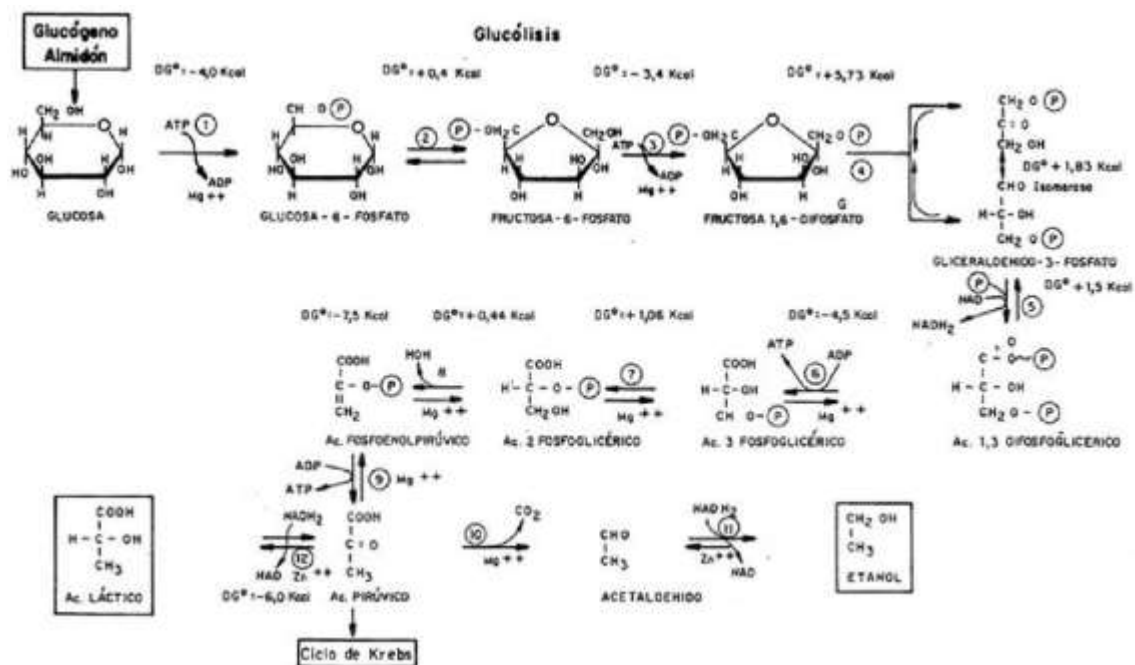
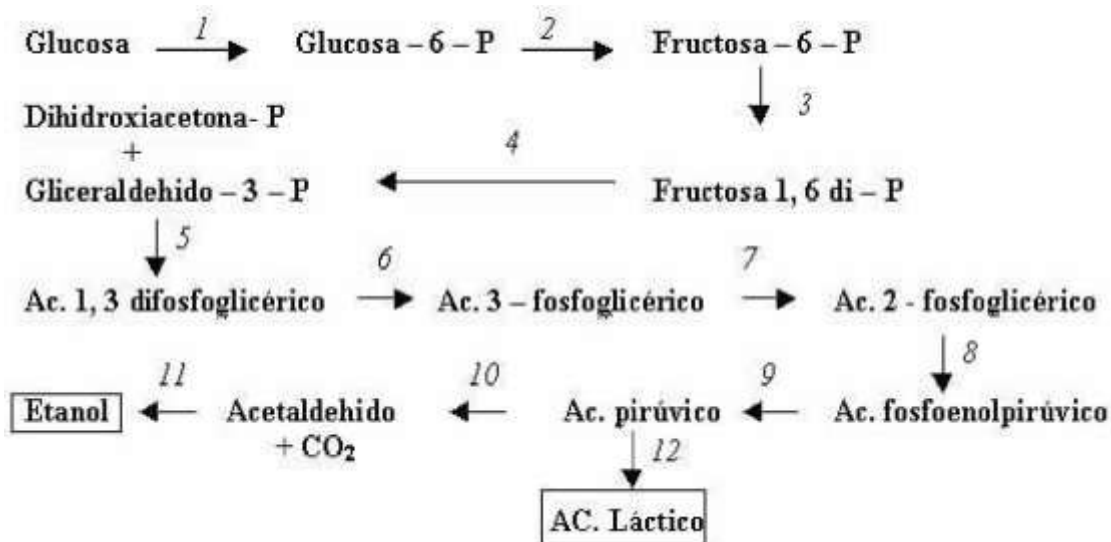


Figura 83. Pasos de la Glucólisis. Principales enzimas: 1. Glucocinasa; 2. Fosfohexosa isomerasa; 3. Fosfofructocinasa; 4. Aldolasa; 5. Glicer aldehído - 3 - fosfato Deshidrogenasa; 6. Fosfoglicerocinasa; 7. Fosfogliceromutasa; 8. Enolasa; 9. Kinasa Pirúvica; 10. Descarboxilasa Pirúvica; 11. Deshidrogenasa alcohólica; 12. Deshidrogenasa Láctica.

Balance de ATP en la glucólisis

En la reacción de fosforilación de la glucosa mediante la acción de la glucokinasa, con la formación de la glucosa 6 — P se consume una molécula de ATP; así mismo en la conversión de la fructosa - 6 — P a fructosa 1, 6 di — P, se consume otra molécula de ATP.

En la reacción No. 6 catalizada por la enzima fosfoglicerokinasa, en la que el ácido 1, 3 difosfoglicérico se convierte en Ác. 3 — fosfoglicérico se producen dos moléculas de ATP, así mismo se forman otras dos moléculas de ATP en la reacción 9, en la que el ácido fosfoenolpirúvico se transforma en ácido pirúvico, catalizada por la enzima kinasa pirúvica.

El balance neto es: 4ATP producidos menos 2ATP consumidos = 2ATP, si la energía de hidrólisis del ATP varía entre 7 — 8 Kcal * mol⁻¹ (29,3 — 33,5 KJ * mol⁻¹), entonces el balance energético de la glucólisis es de 16 Kcal * mol⁻¹ (71 KJ * mol⁻¹).

La eficiencia de la glucólisis se puede calcular entonces de la siguiente forma: (16/686) *100=2,3%.

La energía almacenada en la glucosa es de 686 Kcal * mol⁻¹, en la glucólisis, se conserva solamente 2,3% de esta energía en forma de ATP, como se calculó anteriormente.

RESPIRACIÓN AERÓBICA

En presencia de oxígeno, el ácido pirúvico proveniente de la glucólisis, se oxida totalmente en la mitocondria, este proceso se divide en dos fases. En la primera, el ácido pirúvico ingresa a la mitocondria donde es fraccionado y oxidado completamente hasta liberar CO₂. Como oxidantes actúan coenzimas, que a su vez son reducidas. El hidrógeno unido a las coenzimas es transferido en la segunda fase al oxígeno molecular, con formación de agua.

La degradación del ácido pirúvico se lleva a cabo en la matriz mitocondrial, donde se encuentran las enzimas del ciclo de Krebs (Hans Krebs postuló esta vía metabólica en 1937 y posteriormente recibió el premio Nobel por su trabajo) o de los ácidos tricarboxílicos, conocido también como ciclo del ácido cítrico. Los sistemas Red-Ox del transporte de electrones se encuentran adosados a las crestas mitocondriales, terminando con la fosforilación oxidativa, la que ocurre tanto en bacterias aeróbicas como en las mitocondrias de células eucarióticas. Una versión resumida de las dos fases la vemos en la figura siguiente:

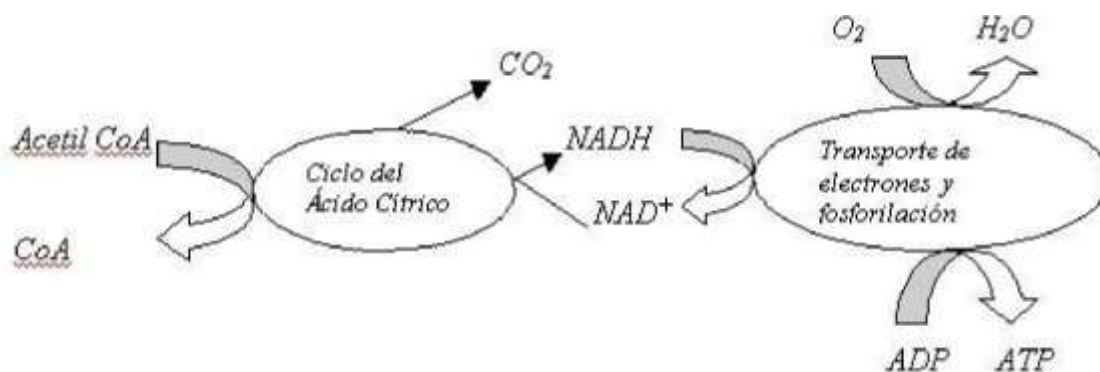


Figura 84. Principales pasos de la respiración desde Acetil CoA.

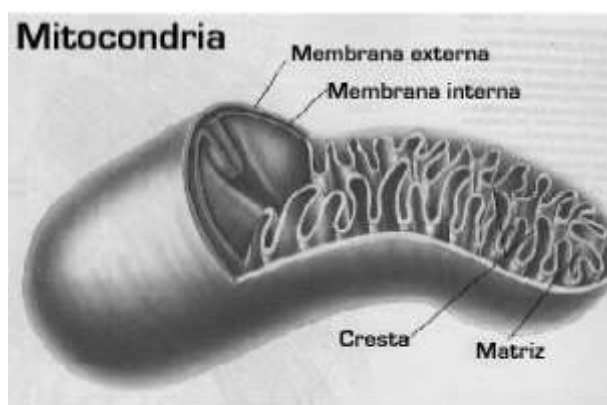


Figura 85. Partes de una mitocondria

Descarboxilación oxidativa del ácido pirúvico (C-3)

Mediante la descarboxilación oxidativa del piruvato se forma acetil coenzima A (Acetil CoA) o "ácido acético activado", como se muestra en la reacción N^o 1 del ciclo del ácido cítrico, catalizada por el complejo enzimático de la deshidrogenasa pirúvica:



La función primaria del ciclo del ácido cítrico es oxidar los grupos acetilo de la Acetil CoA, después que reaccionan con el ácido oxalacético, con la formación de ácido cítrico (C-6) (reacción N^o 2). Después de una serie de reacciones enzimáticas, dos de los seis carbonos del ácido cítrico se oxidan a CO₂, regenerando por último una molécula de ácido oxalacético (C-4) para repetir de nuevo el ciclo. En cada vuelta del ciclo del ácido cítrico se producen tres moléculas de CO₂; por lo que la oxidación de las dos moles de ácido pirúvico formadas en la fase glucolítica de la respiración aeróbica, requiere dos vueltas completas para formar 6 moles de CO₂. El CO₂ producido se difunde fuera de la mitocondria o de la bacteria dejando la célula.

Por cada vuelta del ciclo se convierten 2 moléculas de NAD⁺ en 2 de NADH₂, una de FAD se transforma en FADH₂, una molécula de NADP se convierte en

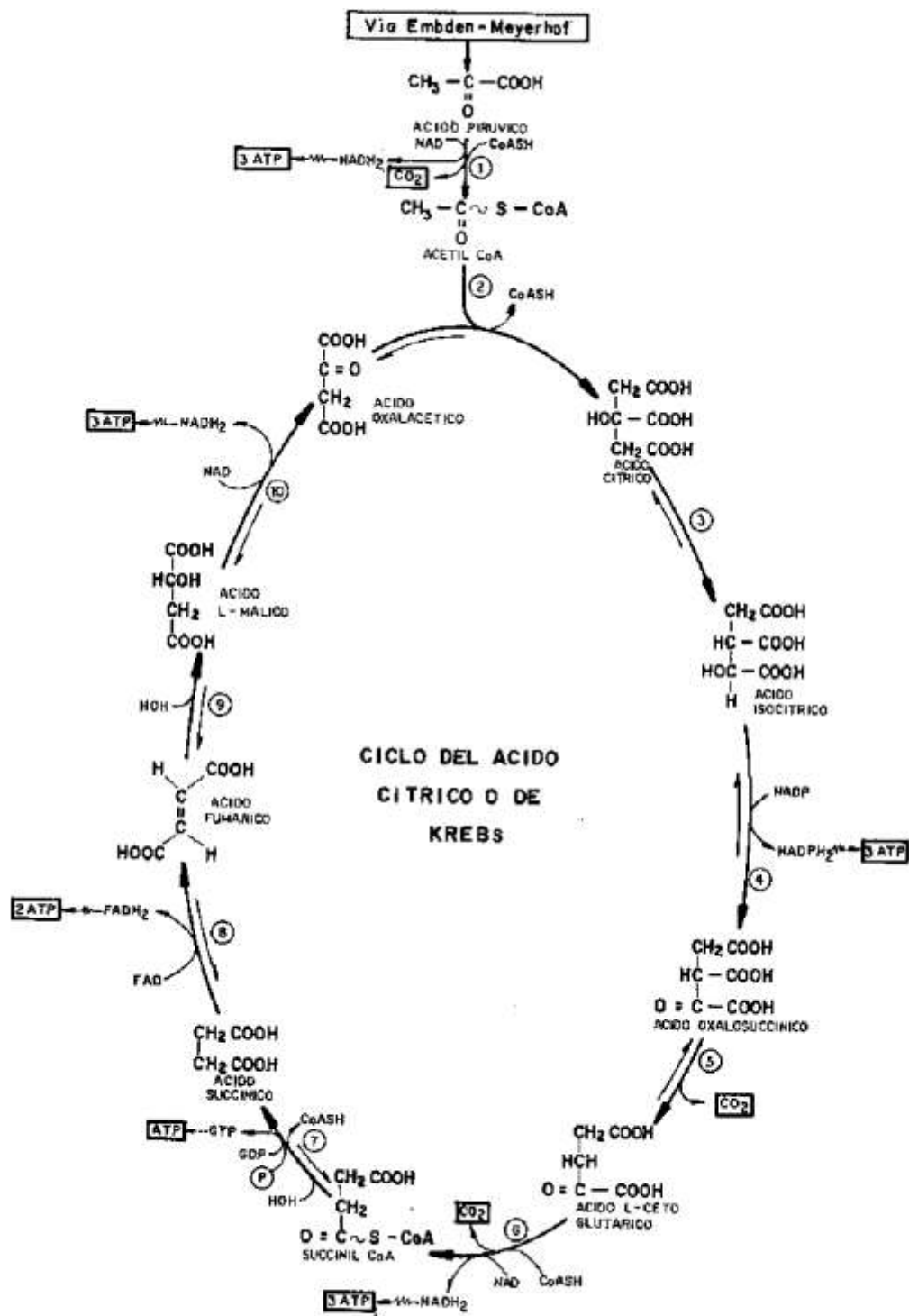


Figura 86. Ciclo de Krebs.

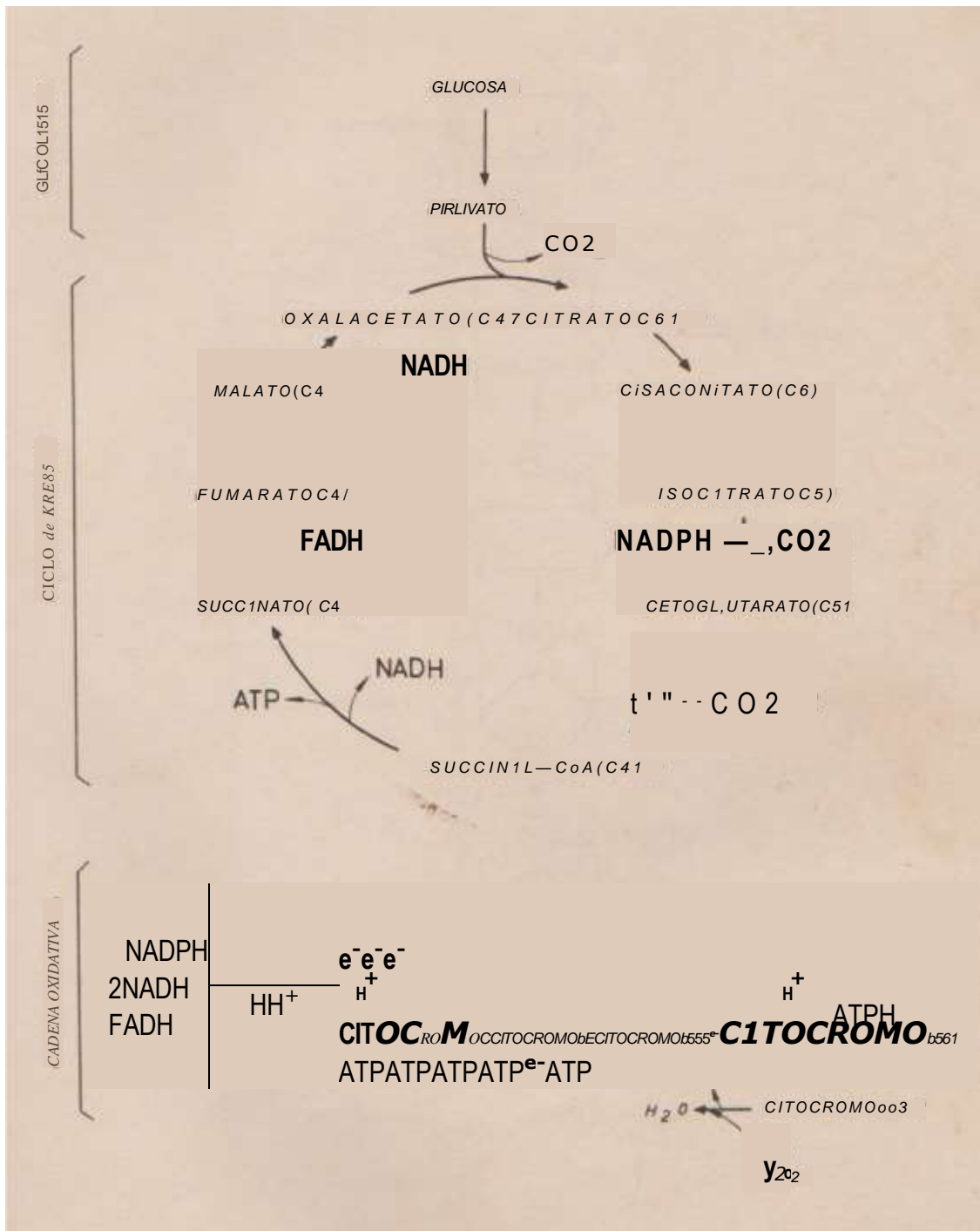


Figura 87. Esquema que representa los tres procesos fundamentales de la respiración aerobia.

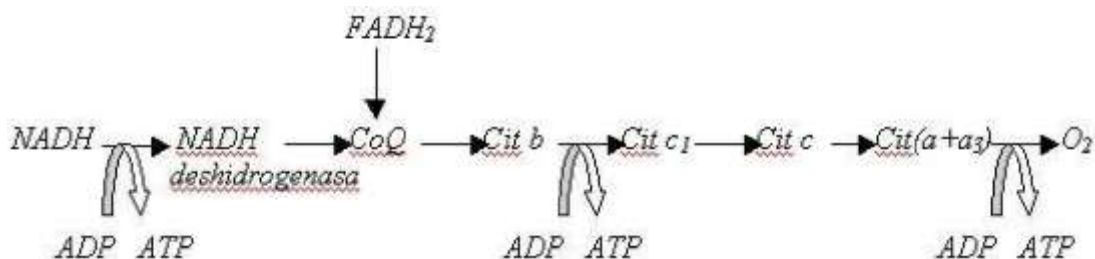
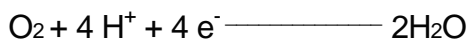


Figura 88. Los electrones se transfieren desde el NADH al O_2 a través de una serie de transportadores de electrones como se ilustra arriba. El complejo de citocromo (a+a₃) se conoce como citocromo oxidasa; al final se transfieren 4 electrones, que con 4 H^+ y una molécula de O_2 forman 2 moléculas de H_2O .



El flujo de electrones de la citocromo oxidasa al oxígeno, se puede inhibir con monóxido de carbono (CO), ión cianuro (CN^-) y azida (N_3^-). La rotenona inhibe el transporte de electrones del NADH a la coenzima Q.

Durante el transporte de electrones a través de la cadena respiratoria (transportadora de electrones) se forma ATP, mediante la fosforilación oxidativa en tres sitios:

- 1) cuando se transfieren dos electrones del NADH a la NADH deshidrogenasa,
- 2) cuando se transfiere un electrón del Cit b al Cit c₁,
- 3) cuando se transfiere un electrón de la citocromo oxidasa al O_2 .

Gradiente de protones y fosforilación oxidativa

La hipótesis quimio- osmótica de Peter Mitchell (1961), puede explicar la síntesis de ATP tanto en cloroplastos como en mitocondrias. La cual es un mecanismo de conservación de energía a través de las membranas biológicas, que se basa en la orientación asimétrica de los transportadores de electrones en el interior de la membrana interna de la mitocondria, lo que permite una transferencia de protones (H^+) desde la matriz mitocondrial hacia el espacio intermembranal. Como la membrana interna de la mitocondria es impermeable a los protones (H^+), se establece un gradiente electroquímico, en el que el espacio intermembranal puede tener un pH de 5,5; mientras que el pH de la matriz, justo en la cara interna de la membrana puede llegar a 8,5, la diferencia ($8,5 - 5,5 = 3$) es de 3 unidades de pH, lo que significa que el espacio intermembranal es 1000 veces más ácido que la matriz, el gradiente de protones, fuerza protonmotriz, representa energía potencial. La única forma de que los protones entren a la matriz, es a través del complejo proteico de la ATP sintetasa o ATPasa mitocondrial, sintetizando ATP según la reacción:



Este proceso se conoce como fosforilación quimiosmótica o fosforilación oxidativa.

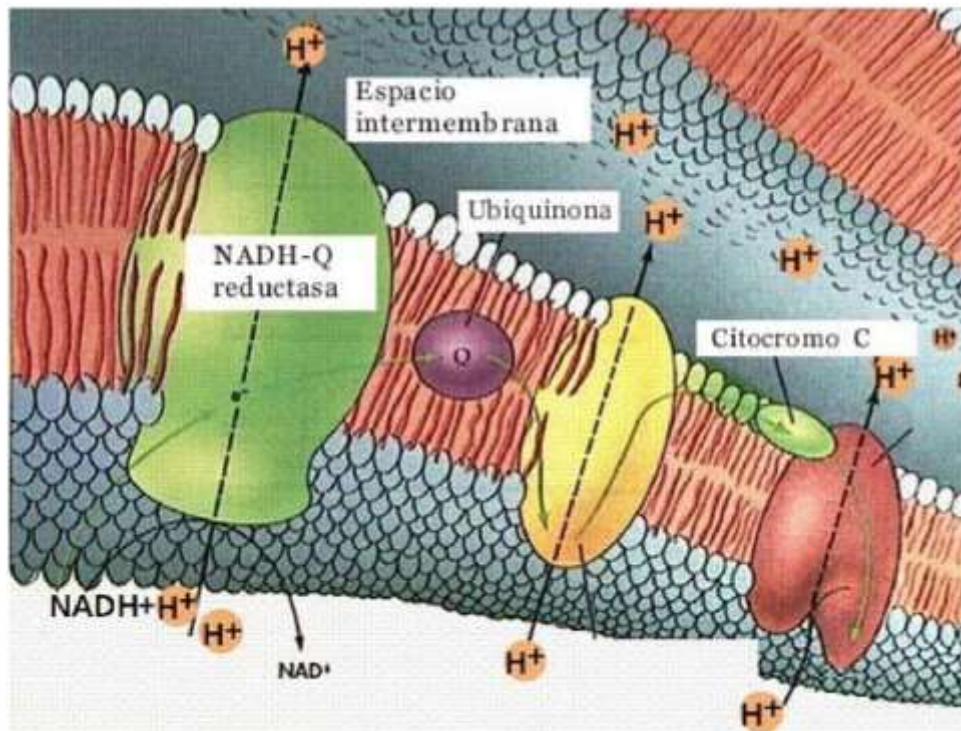


Figura 89. Circuito de electrones, liberación de H del $NADH + H$ e ingreso de hidrógeno al espacio intermembranoso de la cresta mitocondrial.

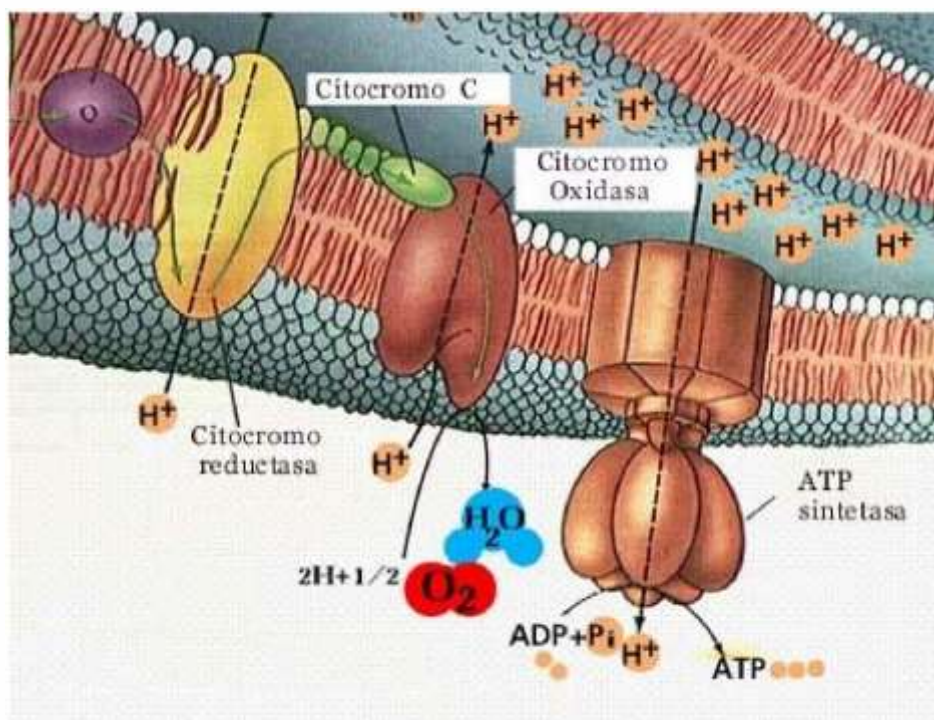


Figura 90. Circuito de electrones en la membrana y formación de agua a partir de oxígeno O_2 y ATP con el hidrógeno, el $ADP + P_i$.

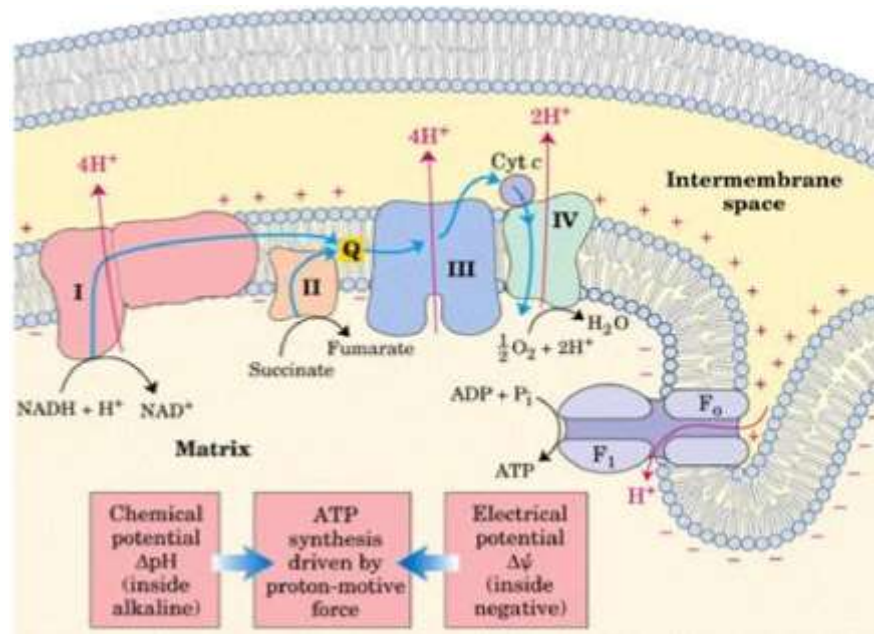


Figura 91. Membrana de mitocondria con los componentes básicos de la respiración para la cadena oxidativa.

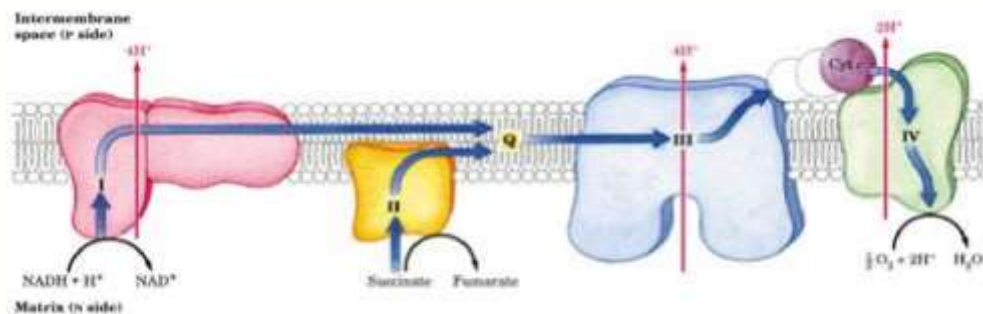


Figura 92. Complejos de la cadena respiratoria.

Balance energético de la respiración aeróbica

A estas alturas estamos preparados para calcular que cantidad de energía, de la presente originalmente en la molécula de glucosa se recupera en forma de ATP. En la vía glucolítica en presencia de oxígeno, se forman directamente 2 ATP, más dos moléculas de NADH₂ (de donde se forman 6 moléculas adicionales de ATP), la ganancia total no son 8 ATP como se podría calcular, sino 6; ya que el transporte de los dos electrones que aportan las 2 moléculas de NADH₂ a través de la membrana mitocondrial implican un costo de 2 ATP.

La conversión del ácido pirúvico en acetil CoA origina 2 moléculas de NADH₂ en el interior de la mitocondria, de tal forma que se originan 6 moléculas de ATP. En el ciclo de Krebs, por cada molécula de glucosa se forman 2 GTP que generan 2 ATP, 6 moléculas de NADH₂ (originan 18 moléculas de ATP) y 2 moléculas de FADH₂ (originan 4 moléculas de ATP), para un total de 24 ATP.

Resumiendo por molécula de glucosa oxidada, el número de moléculas de ATP formados es de 36 . Si la energía de hidrólisis del ATP varía entre 7-8 Kcal * mol⁻¹ (29,3- 33,5 KJ* mol⁻¹), entonces el balance energético de la respiración aeróbica es de 288 Kcal * mol⁻¹ (1205 KJ* mol⁻¹) . La eficiencia de la respiración aeróbica se puede calcular de la siguiente forma: 288/ 686 x 100= 42 %. En la respiración aeróbica se conserva aproximadamente el 42 % de la energía de la glucosa en forma de ATP.

| | | | |
|--|----------------------------|--------|--------------|
| A nivel del sustrato | Glucólisis | 2NADH | 2ATP |
| | (Citoplasma) | | |
| A nivel de la cadena oxidativa (Restas y matriz mitocondrial) | Ciclo de Krebs | 6NADH | 2ATP |
| | (Mitocondria) | 2FADH | |
| | | 2NADPH | |
| | Por la oxidación de 8NADH | | 24ATP |
| | Por la oxidación de 2NADPH | | 6ATP |
| | Por la oxidación de 2FADH | | <u>4ATP</u> |
| | | | Total: 38ATP |

Cociente Respiratorio

Se denomina cociente respiratorio (**CR**) a la relación _____ y su valor depende del sustrato respirado. Si es un Hirato de carbono, el CR = 1; un lípido 0,7; una proteína 0,8; y un ácido orgánico, mayor de 1. Estas cifras están dadas fundamentalmente por la relación C/O de los sustratos.

CICLO DE LAS PENTOSAS

Es una vía metabólica alternativa del metabolismo de los carbohidratos presente en tejidos vegetales. Las enzimas del ciclo de las pentosas se encuentran en el citoplasma soluble o citosol. Una de las funciones principales de este ciclo es actuar como una fuente de pentosas. Se conoce también como la vía catabólica de oxidación directa de la glucosa, formada por una serie de reacciones que transforman la glucosa en triosa fosfato y CO₂. Por cada molécula de glucosa se produce solamente una molécula de CO₂ . Algunas de las reacciones y enzimas de éste ciclo son comunes a la glucólisis. La reacción inicial es la conversión oxidativa de la glucosa-6-fosfato en 6-fosfogluconato, con la formación de NADPH₂. La reacción siguiente es la oxidación del 6-fosfogluconato mediante una enzima que requiere NADP con la producción de

ribulosa-5-fosfato y CO_2 . Las reacciones siguientes del ciclo llevan a cabo la conversión de la ribulosa-5-fosfato a otros metabolitos de la glucólisis como son el gliceraldehido-3-fosfato y la fructosa-6-fosfato. En estudios realizados en que se midió la liberación de $^{14}\text{CO}_2$ a partir de glucosa marcada con ^{14}C , se encontró que la vía metabólica dominante del flujo de carbono en muchos tejidos vegetales es la glucólisis representando de 80 a 95%. Sin embargo la vía de los fosfatos de pentosas realizan su contribución, y ésta es más importante en la medida en que las plantas pasan de un estado meristemático a otro más diferenciado. Los tejidos vegetales enfermos generalmente oxidan la glucosa mediante el ciclo de las pentosas.

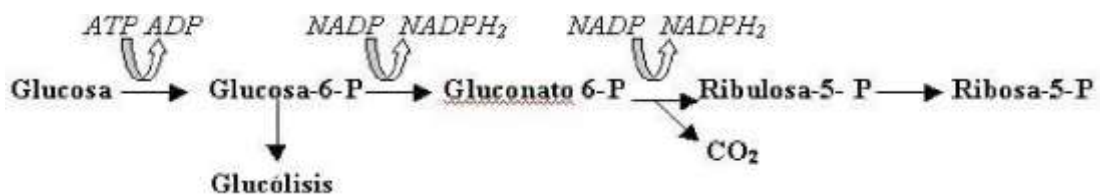


Figura 93. Principales componentes del ciclo de las pentosas, proveedor de ATP y NADPH_2 al metabolismo vegetal.

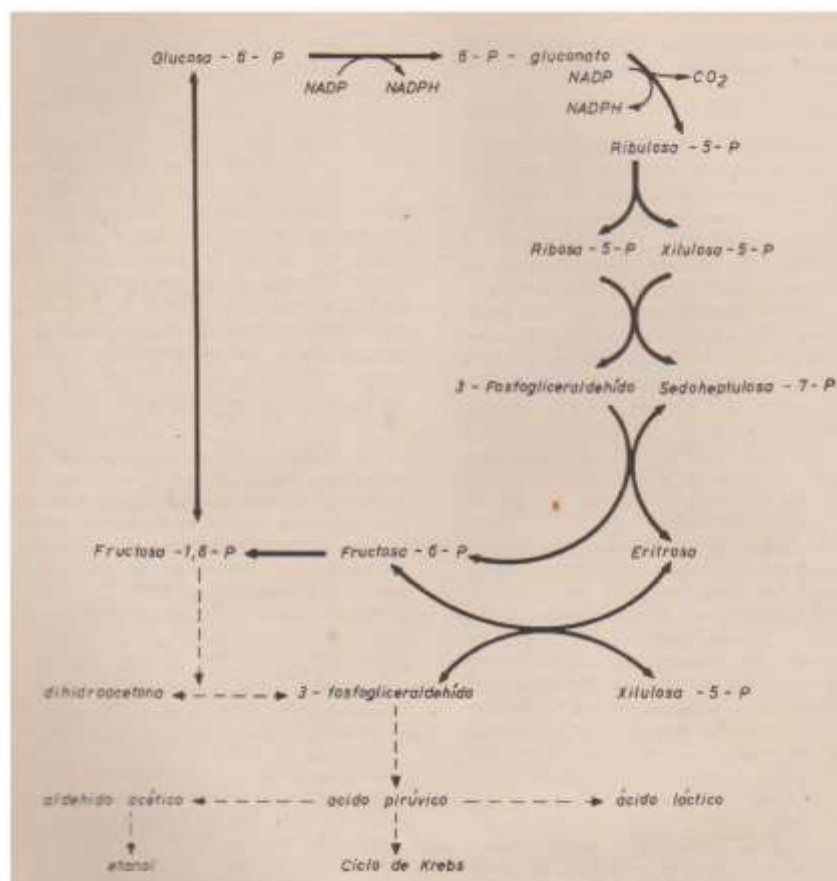


Figura 94. Esquema que representa el ciclo e las pentosas (esquema de Warburg – Dicquens-Horecker).

EL CICLO DEL GLIOXILATO Y LOS GLIOXISOMAS

Un gran número de semillas poseen como sustancias de reserva grasas o aceites (Tabla 11-1), las que existen principalmente como triglicéridos, en los que los ácidos grasos se encuentran enlazados mediante enlaces ésteres a los tres grupos hidroxilos del glicerol.

Los aceites son líquidos a temperatura ambiente, debido a la presencia de enlaces insaturados en los ácidos grasos; mientras que las grasas son sólidas, por tener una alta proporción de ácidos grasos saturados.

Cuadro 11. Contenido de grasas de algunas semillas

| Especie | Nombre común | % grasa en base al peso seco |
|---------------------|------------------|------------------------------|
| Cocos nucifera | Coco | 65 |
| Ricinus communis | Ricino o tartago | 60 |
| Helianthus annuus | Girasol | 50 |
| Linum usitatissimum | Lino | 35 |
| Glycine max | Soya | 20 |
| Zea mays | Maíz | 5 |
| Triticum vulgare | Trigo | 2 |

Cuando las semillas de estas plantas germinan, las grasas no se convierten en anhídrido carbónico y agua como sería de esperar, sino que en los tejidos de reserva como son los cotiledones y el endosperma se transforman en sacarosa, que es transportada al eje embrional. En el eje embrional se quema parcialmente y se incorpora parcialmente a los componentes orgánicos de los tejidos recientemente formados.

En el ciclo del glioxilato el combustible es la Acetil CoA, que se condensa con el oxalacetato para formar isocitrato. En este punto el ácido isocítrico se rompe en una reacción catalizada por la enzima isocitritasa, formando ácido succínico y ácido glioxílico.

El glioxilato formado se condensa con otra molécula de Acetil CoA, para formar malato, reacción esta catalizada por la enzima malato sintetasa. El malato así formado se oxida formando oxalacetato, el cual se puede condensar con otra molécula de Acetil CoA, reiniciando el ciclo.

Por cada vuelta del ciclo del glioxilato entran dos moléculas de Acetil CoA, y se

forma una molécula de succinato que se usa en otros procesos de biosíntesis.

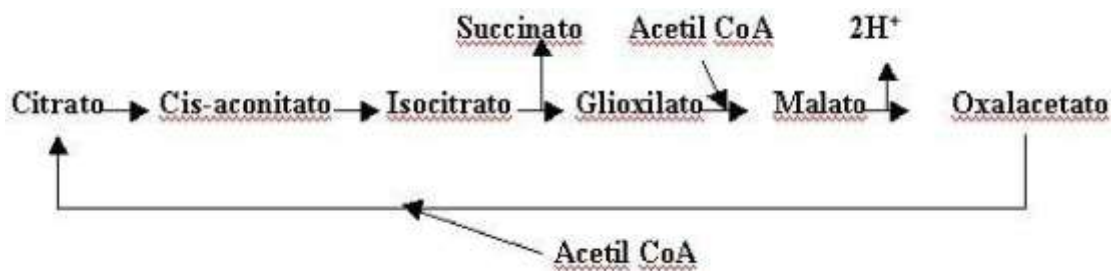


Figura 95. Ciclo del glioxilato

Las enzimas del ciclo del glioxilato, principalmente la isocitritasa y la malato sintetasa se encuentran localizadas en unos organelos especiales llamados glioxisomas, que se encuentran rodeados por una membrana. Estos organelos están presentes solamente en células de plantas capaces de convertir grasas en azúcares.

Enlace Recomendado:

Hernández Gil, Rubén, 2001. Enzimas:
<http://www.arrakis.es/~lluengo/biologia.html>;
<http://WWW.foret.ula.ve/~rubenhg> Libro botánica On Line.
 Universidad de Los Andes - Mérida – Venezuela. Unidad de Desarrollo Virtual. Versión 2.

CARBOHIDRATOS

Los carbohidratos este nombre viene de la fórmula empírica de estos compuestos $(CH_2O)_n$ son aldehídos y cetonas de polialcoholes.

Se clasifican en función del tipo y número de productos que se forman al hidrolizarse en medio ácido:

Monosacáridos: carbohidratos que no pueden hidrolizarse.

Disacáridos: al hidrolizarse producen dos monosacáridos (iguales o diferentes).

Oligosacáridos: al hidrolizarse dan de tres a diez moléculas de monosacáridos.

Polisacáridos: al hidrolizarse producen más de diez moléculas de monosacáridos.

En forma sólida son de color blanco, cristalino, muy soluble en agua e insoluble en disolventes no polares. La mayoría tienen sabor dulce. Como hemos visto, no pueden ser hidrolizados en moléculas más sencillas. Son los azúcares más sencillos, son aldehídos (aldosas) o cetonas (cetosas) con dos o más grupos hidroxilo.

Los monosacáridos **pueden subdividirse** en grupos según el número de átomos de carbono que poseen:

Triosas $(CH_2O)_3$

Tetrasas $(CH_2O)_4$ Pentosas

$(CH_2O)_5$ Hexosas $(CH_2O)_6$

Heptosas $(CH_2O)_7$ Octosas

$(CH_2O)_8$ **además**, en aldosas

y cetosas según tengan un

grupo aldehído o ceto:

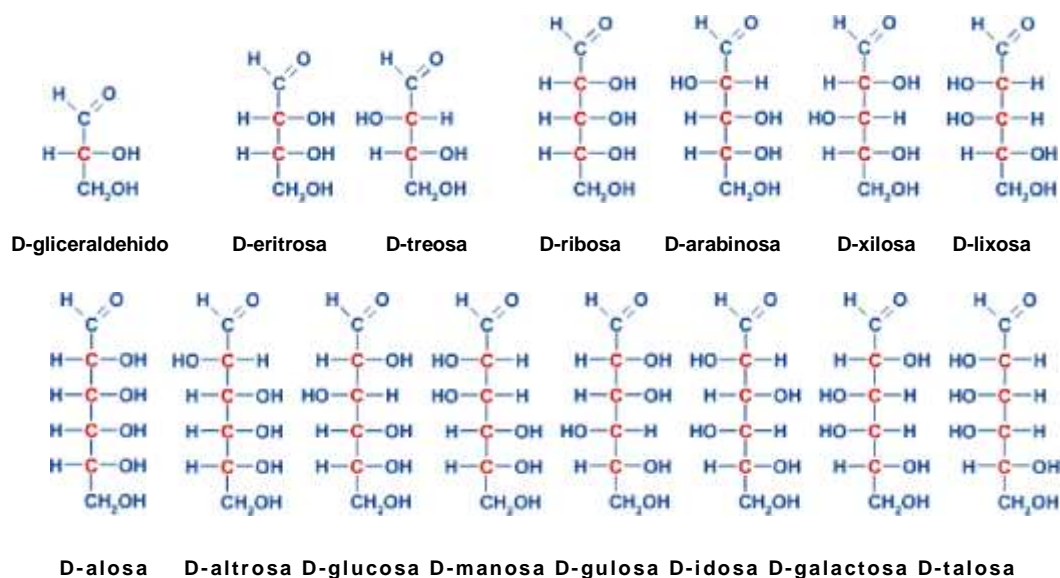


Figura 96. Principales aldosas.

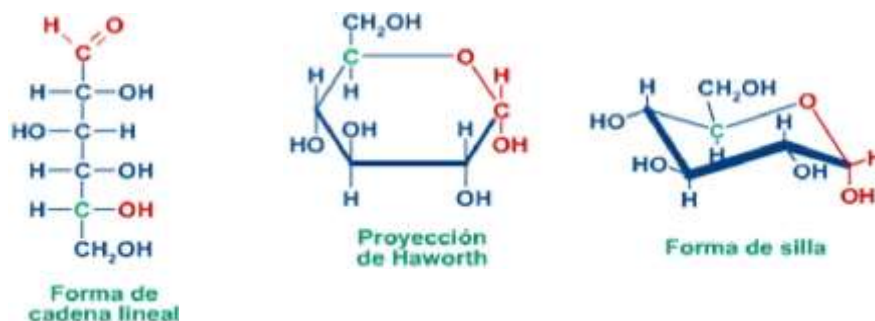


Figura 97. Principales formas de aldosas

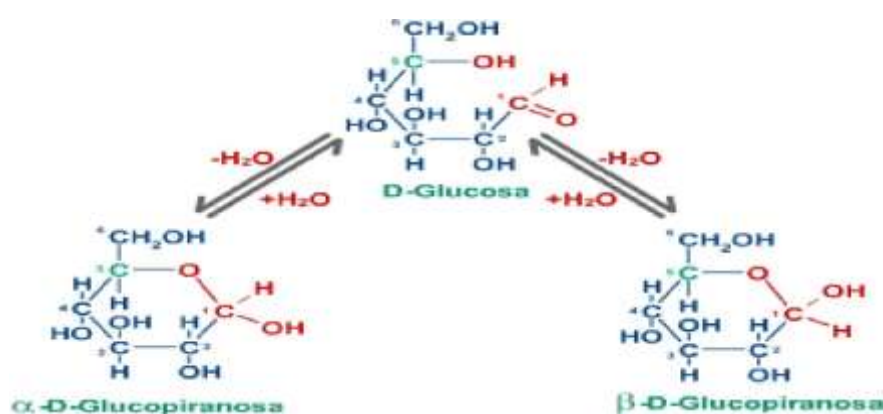


Figura 98. Representación de la D-glucosa, el monosacárido más común, se puede representar de tres maneras: α -D-glucosa, D-Glucosa, β -D-glucosa.

Los azúcares presentan estructura cíclica. El grupo carbonilo es un grupo muy reactivo y forma hemiacetales al reaccionar con un grupo -OH propio o de otra molécula. En el caso de que la cadena del azúcar sea lo suficientemente larga (4-6 átomos de carbono), uno de los grupos hidroxilo de la misma molécula puede reaccionar con el grupo carbonilo para formar un hemiacetal cíclico, que se halla en equilibrio con la forma de aldehído o de cetona libre. Los éteres de hidroxilo hemiacetalítico reciben el nombre de glucósidos.

Interconversiones de azúcares

Como resultado del metabolismo, los hidratos de carbono sufren una serie de transformaciones que reciben el nombre de interconversiones. Las enzimas que actúan en la interconversión de azúcares, agrupadas según su función general, son las siguientes: Quinasas, isomerasas, mutasas, aldolasas, transaldolasas, transcetolasas, nucleótidos-azúcares.

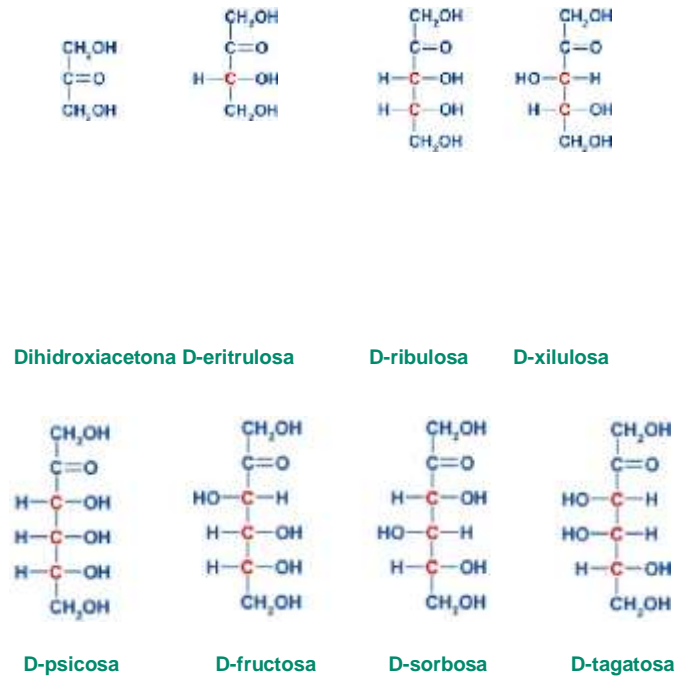


Figura 99. Principales formas de cetosas

Los disacáridos se nombran indicando el lugar de formación del enlace glucosídico, el tipo de configuración cíclica y el nombre -D-glucopiranososa: -D-galactopiranosil-4- de los azúcares que intervienen. Por ejemplo, la lactosa es la β -D-galactopiranosil[1 \rightarrow 4] D-glucopiranososa.

Lactosa

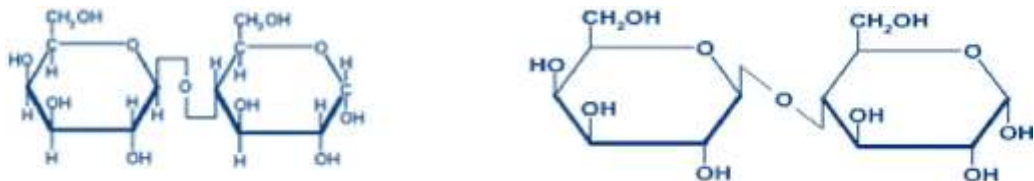


Figura 100. Dos formas de presentación del enlace de unión de los monosacáridos de la lactosa.

Los disacáridos más importantes son los que se detallan a continuación:

Celobiososa

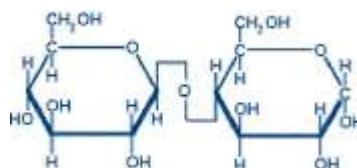


Figura 101. β -D-glucopiranosil[1 \rightarrow 4] D-glucopiranososa

Melobiosa

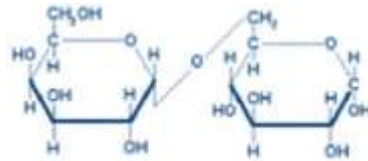


Figura 102. α -D- galactopiranosil [1 \rightarrow 6] D-glucopiranososa

Sacarosa

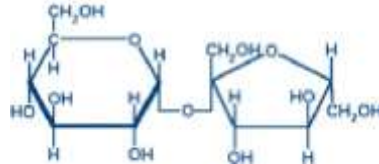


Figura 103. α -D- glucopiranosil [1 \rightarrow 2] B -D-fructofuranosa

Trehalosa

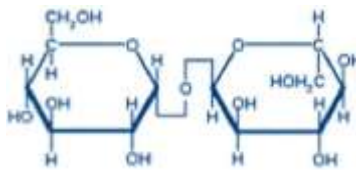


Figura 104. α -D- glucopiranosil [1 \rightarrow 1] α -D-glucopiranososa

Gentibiosa

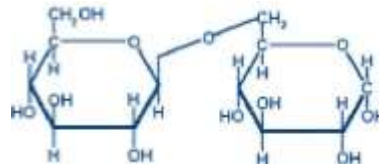


Figura 105. B-D-glucopiranosil[1 \rightarrow 6] D-glucopiranososa

Maltosa

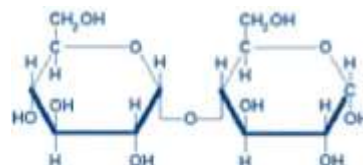


Figura 106. α -D-glucopiranosil[1 \rightarrow 4] D-glucopiranososa

Los oligosacáridos al hidrolizarse dan de tres a seis moléculas de monosacáridos. Así los trisacáridos están formados por la condensación de tres moléculas de monosacáridos. Por ejemplo la **rafinosa** que -D-galactopiranosil [1es: -D-glucopiranosil [1-6] α -D-glucopiranosil [1 \rightarrow 2] B-D-

fructofuranosido es el-2°]. azúcar de la remolacha.

Rafinosa

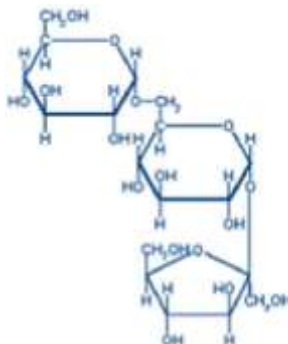


Figura 107. α -D- glucopiranosil [1→6] α -D-glucopiranosil [1→2] R -D-fructofuranosido.

Los polisacáridos, también llamados poliósidos o glucanos, están formados por más de 10 residuos de monosacáridos. A continuación, se resumen las características más importantes de los principales tipos de polisacáridos.

Materiales y Reactivos para Identificación

1. 6 tubos de ensayo.
2. Una gradilla.
3. Reactivo de molish.
4. Reactivo de fheling. (a, b)
5. Reactivo de tollens .
6. Reactivo de lugol.
7. Muestra del problema.
8. Reactivo de barfoed.
9. Equipo de baño maría.
- 10.Cronometro.
- 11.Ácido sulfúrico.
- 12.Yodo acuoso.
- 13.Yoduro de potasio.

NOTA: en la mayoría de los casos se usará como monosacárido base la glucosa, sea en su forma piranosica o en su estructura de Fisher para su mejor comprensión y su ya conocida y estudiada propiedades que esta posee.

PARTE EXPERIMENTAL

Al tubo de ensayo se coloca en primer lugar la muestra del problema que desconocemos su nombre de 1 a 2 mililitros luego adicionamos el reactivo de molish que es el alfa-naftol la misma cantidad seguidamente el ácido sulfúrico pero con cuidado por las paredes del recipiente por estar este ácido concentrado 2 gotas esperamos la reacción.



Figura 108. Identificación de monosacáridos

Observamos que la reacción tomó una coloración violeta rojiza demostrando que es positivo para monosacáridos además se nota que la reacción fue exotérmica pues liberó calor después de reaccionar.

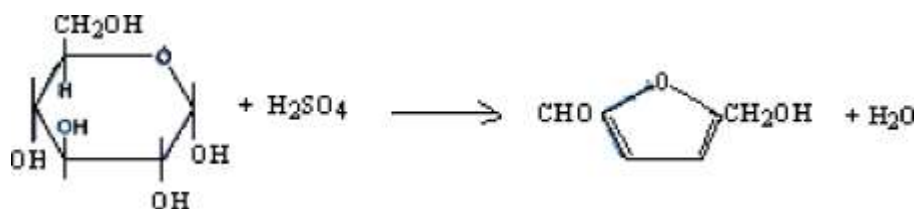


Figura 109. Reacción química que se produce cuando hay monosacárido.

Al haberse depositado en el fondo del recipiente el ácido sulfúrico este actúa sobre la glucosa arrancándole una molécula de agua y volviendo la molécula de glucosa un derivado del furfural en este caso el hidroximetilfurfural.

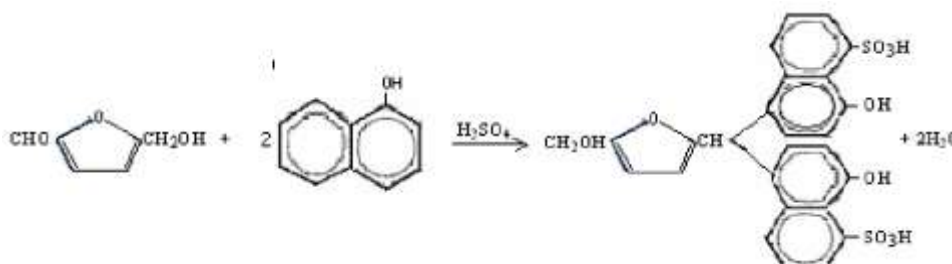


Figura 110. Reacción química que se produce cuando hay monosacárido.

Luego de esa reacción se mezcla con el alfa-naftol en presencia de ácido sulfúrico atacando la zona del doble enlace del grupo carbonilo uniéndose en un compuesto mixto pues presenta sustituyentes ácidos y fenolicos que toma una coloración rojiza violeta en un anillo del tubo de ensayo.

PRUEBA DE FEHLING

Al tubo de ensayo le colocamos primero la solución de Fehling A luego la solución de Fehling B solamente gotas y al final gotas de la muestra del problema toda esta muestra la llevamos a baño María durante un espacio de 5 minutos y observamos. Luego de colocarlo a baño maría durante 5 minutos, observamos que este carbohidrato se oxida y en el fondo del recipiente observando precipitado rojizo que demuestra la presencia del oxido cúprico este color demuestra que este es un monosacárido.

La reacción más general es:

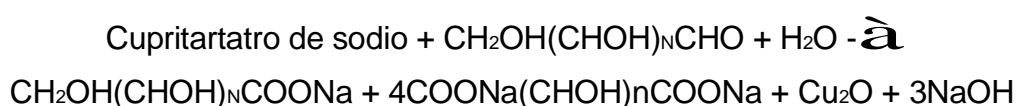


Figura 111. Reacción química que se produce cuando hay monosacárido

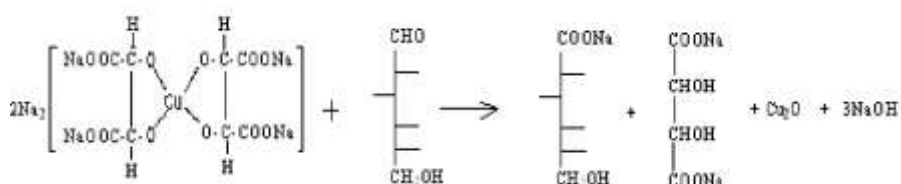


Figura 112. Reacción química que se produce cuando hay monosacárido.

En un primer momento al haber echado el reactivo de Fehling y Fehling b al tubo de ensayo estos mostraban una coloración azulina pero luego de echar el monosacárido y colocar a baño maría toman un coloración rojiza en el fondo del recipiente demostrando que la sal cúprica se redujo a una sal cuprosa en este caso el oxido cuproso, volviéndose a regenerar el tartrato de sodio, formándose el gluconato de sodio y el hidróxido de sodio.

PRUEBA DE TOLLENS

Al tubo de ensayo echamos primero la muestra del problema luego echamos el reactivo de Tollens que es el hidroxidiamino de plata luego de esto lo colocamos a baño maría durante 5 minutos observamos (cabe resaltar que el reactivo de Tollens se prepara con la reacción entre el nitrato de plata con el hidróxido de amonio y en un segundo plano con el exceso de hidróxido de amonio).

Reactivo de Tollens:

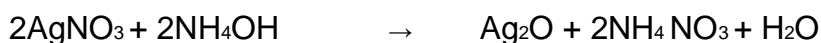


Figura 113. Reacción química que se produce cuando hay monosacárido La reacción más general sería en tal caso esta:

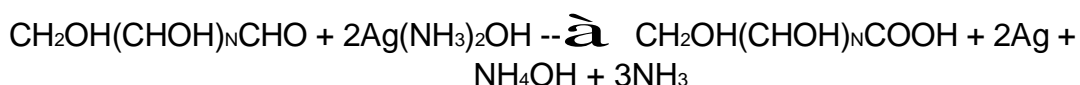
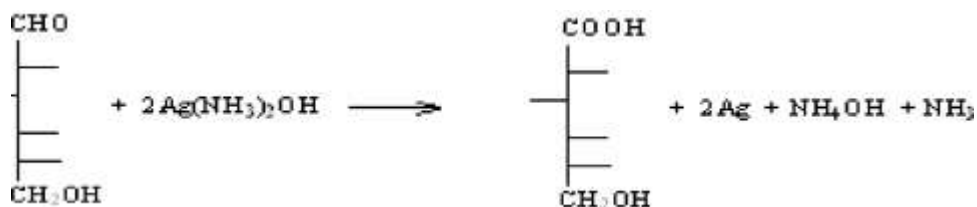


Figura 114. Reacción química que se produce cuando hay monosacárido.



Como vemos la reacción procede siempre y cuando se adicione calor proveniente del baño maría en este caso se forma el gluconato de cobre

o gluconato cúprico que es una sal orgánica, depositándose en el fondo del recipiente el óxido cuproso de color rojizo y la solución sobrante es el agua.

PRUEBA DE SELIVANOFF

Esta prueba sirve para diferenciar una aldosa de una cetosa la operación consiste en echar al tubo de ensayo la muestra del problema y luego el reactivo de selivanoff se coloca a baño maría durante un tiempo de 5 minutos observamos cabe resaltar que el reactivo de Selivanoff es resorcina diluida en ácido clorhídrico. Después del tiempo observamos que la muestra cambio a coloración en dos fases rojiza en el fondo del tubo de ensayo y de un color rosado en la parte superior.

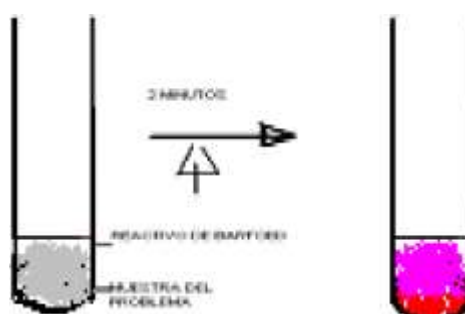


Figura 115. Reacción química que se produce cuando hay monosacárido.

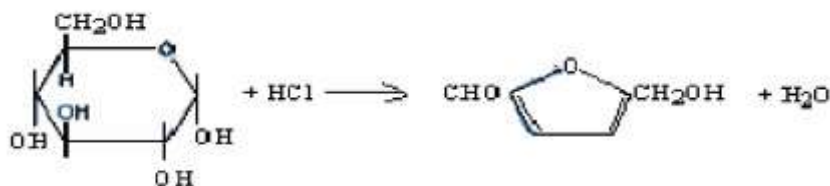


Figura 116. Reacción química que se produce cuando hay monosacárido

Ahora al adicionarse el resorcinol ataca el grupo carbonilo del radical formilo y forma un compuesto de coloración rojiza con poca presencia de precipitado del mismo color, y formación de agua que parece ser una constante en la copulación de este compuesto.

PRUEBA DE POLISACARIDOS

Esta prueba se realiza con el reactivo de Lugol y sirve para identificar polisacáridos en la muestra del problema.

Al reaccionar con el reactivo de Lugol que es la mezcla de ioduro de potasio con yodo acuoso se forma un compuesto coordinado de mezcla, esta

mezcla que esta en el tubo de ensayo se coloca a baño maría durante 5 minutos y observamos.

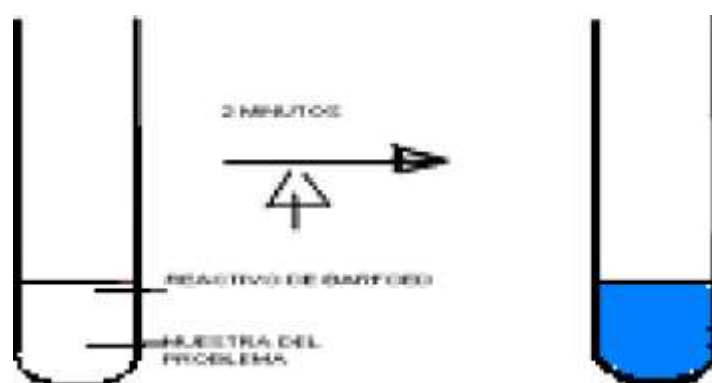


Figura 117. Reacción química que se produce cuando hay monosacárido.

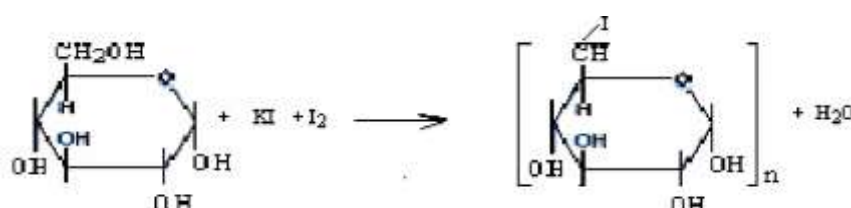


Figura 118. Reacción química que se produce cuando hay monosacárido.

En un primer momento antes de llevar al equipo de baño maría la muestra con el reactivo eran incoloros pero luego de estar sometido durante 5 minutos a la acción de este calor esta se torna de color azulino pues se ha formado el ioduro de almidón este almidón se formó por la acción de halógeno correspondiente como lo es el yodo con la diferencia que arranca una molécula de agua sin formar derivados del furfural como lo son en la reacción con los ácidos orgánicos y también se forma agua.

INVERSION DE LA SACAROSA

Esta prueba sirve para verificar si realmente los componentes de esta son la glucosa y la fructosa esta se verifica si se hace la prueba de identificación de monosacáridos y verifica la realidad de estos hechos además que de invertirse cambia toda la clase de sus enlaces la operación se realiza adicionando 2 mililitros de sacarosa luego 2 gotas de ácido clorhídrico y se coloca a baño maría durante 20 minutos observamos.

Al haber verificado que después de haber echado el reactivo de tollens se torno la película de palta superior se prueba que este disacárido rompió su enlace en glucosa y fructosa.

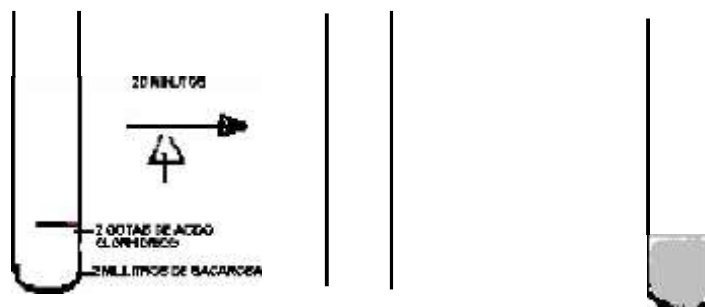


Figura 119. Reacción química que se produce cuando hay sacarosa.

La reacción que se verifico fue la siguiente:

Sacarosa

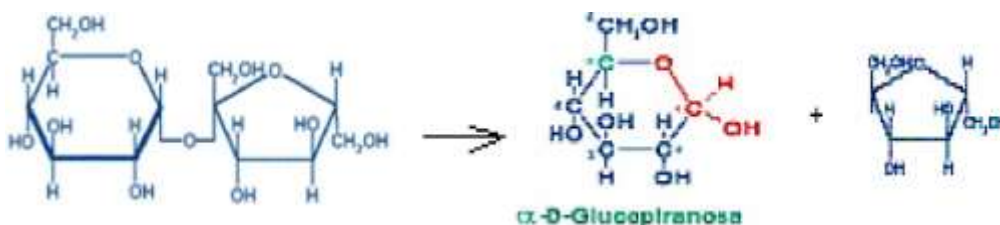


Figura 120. Reacción química que se produce cuando hay sacarosa. α -D-glucopiranosil[1 \rightarrow 2] β -Dfructofuranosa \rightarrow Glucosa + Fructosa



Figura 121. Reacción química que se produce cuando hay sacrosa.

De esta manera comprobamos que efectivamente era un monosacárido por depositarse en las paredes del tubo un espejo de plata.

En la prueba de Molish el cambio de coloración violeta demuestra positivo para monosacáridos.

El ataque con ácido sulfúrico arranca una molécula de agua y transforma el monosacárido en un derivado furfúrico.

La unión con el alfa-naftol es donde realmente se da el cambio de coloración

con radicales de ácido sulfónicos existentes en el alfa-naftol.

El alfa-naftol ataca el grupo carbonilo del radical formilo del derivado furfúrico. Esta reacción es similar a una reacción de copulación.

La copulación con el alfa-naftol se da en una posición opuesta al radical hidróxido del naftaleno.

El cambio de coloración en la prueba de Fehling a rojizo demuestra la presencia positiva del monosacárido por formar un precipitado de Cu_2O .

En la reacción del monosacárido con el reactivo de Fehling se regenera el tartrato de sodio que era componente inicial en la formación del cupritartrato de sodio.

En la prueba de Tollens la adhesión del espejo de plata al tubo de ensayo demuestra positivo para un monosacárido.

El hidrogeno alfa del grupo carbonilo del monosacárido es reemplazado por un radical hidróxido formándose el ácido glucónico.

El cambio de coloración en la prueba de Barfoed a rojizo demuestra la presencia positiva para monosacárido con formación de un precipitado de Cu_2O .

Es también un monosacárido por formarse el gluconato de cobre.

El ácido acético no hubiera sido capaz de romper el enlace de un disacárido por ser un ácido orgánico con una disociación débil.

En la prueba de Selivanoff el ataque al monosacárido con el ácido clorhídrico arranca una molécula de agua volviéndolo un derivado del furfural en este caso el hidroximetileno furfural.

El cambio de coloración de plomizo a rojizo da muestra positiva para aldosas por ser su velocidad de formación lenta en comparación con las cetosas.

El resorcinol ataca el grupo carbonilo del derivado furfúrico formando un compuesto de color rojizo.

El cambio de coloración a azulino en la prueba de polisacáridos demuestra la formación del yoduro de almidón.

Se prueba que es un monosacárido puesto que el reactivo de Lugol solo ataca carbohidratos que no posean enlaces glucosídicos.

El reactivo de Lugol arranca una molécula de agua manteniendo el monosacárido el carácter de aldohexosa.

En la prueba de inversión de la sacarosa el ácido clorhídrico rompe los enlaces glucosídicos de la sacarosa separándola en glucosa y fructosa.

La inversión se da por que cambia el ángulo de polarización de la sacarosa al exponerla a la luz.

Los ácidos clorhídricos y sulfúricos vuelven derivados furfúricos a los monosacáridos. Los ácidos clorhídricos y sulfúricos rompen los enlaces glucosídicos de los disacáridos. En todas la reacciones se arrancan moléculas de agua.

Todas las reacciones son endotérmicas por estar expuestas al calor del equipo de baño maría

POLISACÁRIDOS

- Polímeros de alto peso molecular formados por unidades monosacarídicas
- Polisacáridos naturales poseen estructuras

diversas **Clasificación**

- Por características estructurales (lineales, ramificados) Por composición (homo, heteropolisacáridos)
- Polisacáridos de mayor importancia en alimentos provienen de plantas
- Reserva energética (almidón, fructanos)
- Estructurales.
- PS de origen animal poco importantes en la dieta.
- Aditivos alimentarios de naturaleza polisacarídica.

Nomenclatura

Homopolisacáridos un tipo de monosacárido

Nombre residuo componente + "ano"

Glucano (almidón, glicógeno, celulosa)

Fructano (inulina)

Galacturonano

Heteropolisacáridos más de un tipo de monosacárido

Nombre sustituyente + nombre componente principal + "ano"

Xiloglucano

X

A

Arabinoxilano **GGGGGGGGGG** **XXXXXXXXXXXX**

Galactomanano

X X X

A A A

La célula vegetal acumula en forma de polisacáridos la energía absorbida en la fotosíntesis, y los moviliza en el momento que es necesario para impulsar su crecimiento o enfrentar una alteración del medio.

Em general, una especie puede tener uno o más polisacáridos de reserva, los cuales pueden presentarse por separado o juntos en un estado dado del desarrollo o ser inducidos por diferentes tratamientos. Em ciertos cereales como *Triticum vulgare*, las hojas contienen fructanos y las semillas almidón, en tanto que en *Symphytum officinale* coexisten ambos polisacáridos en un mismo tejido. En *Helianthus tuberosus*, las hojas contienen almidón y los tubérculos fructanos; sin embargo, los cortes de tubérculos cultivados en presencia de luz muestran la aparición de almidón sintetasa, clorofila y amilopectina. Entre los fructanos importantes se encuentran la inulina y los lévanos. Los almidones están constituidos de amilosa y amilopectina. Las enzimas involucradas en la síntesis de almidón se consideran: fosforilasas, transglucosilasas (almidón sintetasa), enzima D, Enzima T, enzimas ramificantes, ADP-glucosa pirofosforilasa.

Cuadro 12. Clasificación de los polisacáridos

| Rol en la planta / alimento | Tipo de polisacárido | Clasificación analítica | Lugar de digestión | Productos de la digestión | Clasificación fisiológica |
|--|--|-------------------------|--|---|---------------------------|
| Polisacáridos reserva | de Almidón amilosa amilopeptina | glucanos | Intestino delgado (enzimático) | Mono y disacáridos | CH disponibles |
| | Fructanos | No glucanos | | | CH no disponibles |
| | Galactomananos | | | | CH no disponibles |
| Componentes estructurales de pared celular | No celulósicos Pectina Hemicelulosas Celulosa | PS distintos almidón | de Parcial en Intestino grueso (flora microbial) | Ácidos grasos de cadena corta: acetato, propionato butirato | CH no disponibles |
| PS naturales aislados | Gomas Mucílagos Pectina | | | CO ₂ H ₂ CH ₄ | CH no disponibles |
| PS aditivos alimentos | e Gomas PS de algas Celulosas modificadas Almidones modificados | | | | CH no disponibles |

POLISACÁRIDOS DE RESERVA**De origen vegetal**

Almidón, fructanos, mananos

De origen animal

No importantes en dietas convencionales

Estructura del almidón

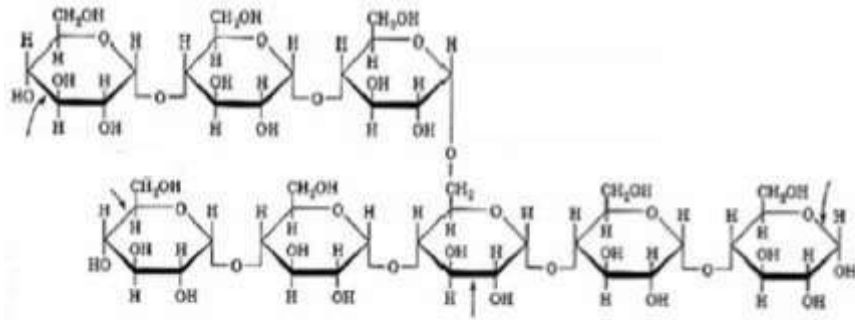


Figura 122. α -D, glucosa en cadena línea forman almidón.

Amilosa

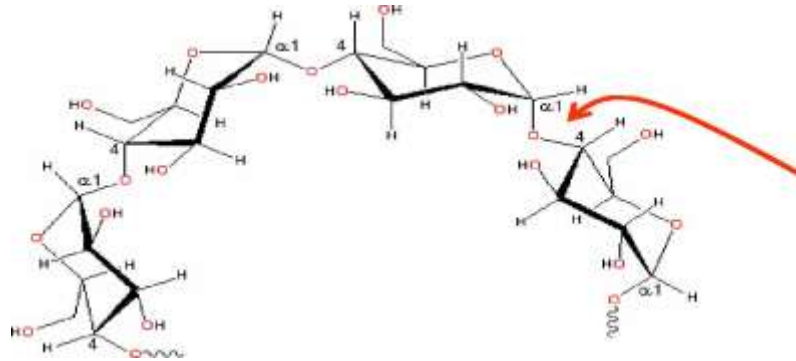


Figura 123. Uniones α , 1-4 forman amilosa, parte lineal de un grano de almidón.

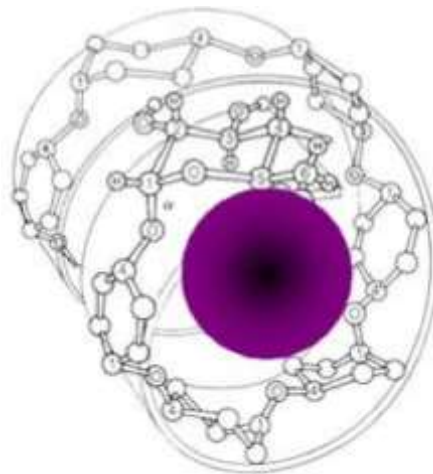


Figura 124. Grano de almidon mostrando la amilosa de color azul con el yodo, por reacción con el yodo forma ioduro de almidón.

Amilopectina

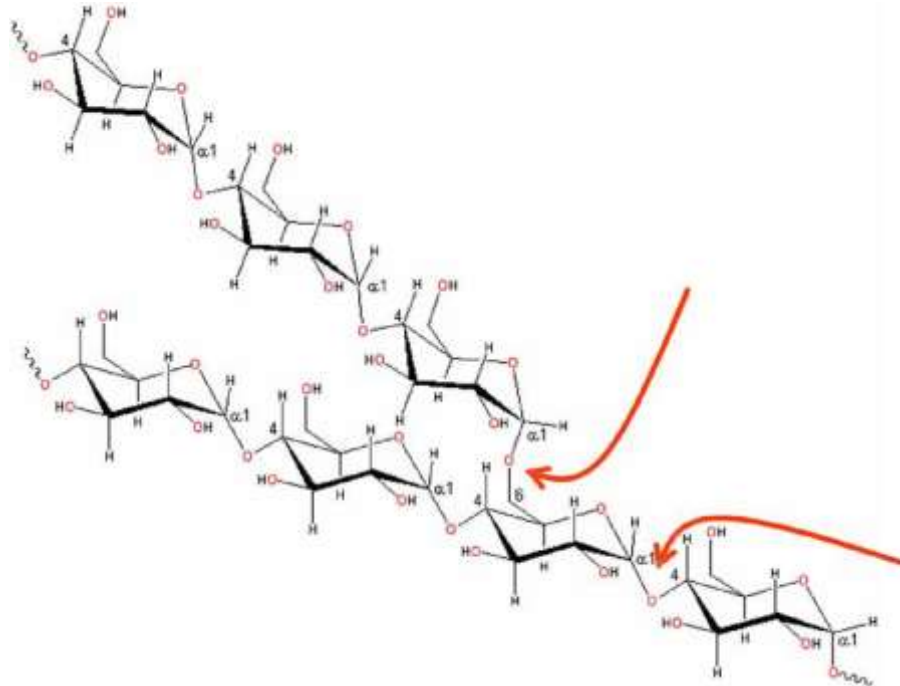


Figura 125. Muestra la uion 1-6 de amilopectina en molécula de Glucosa.

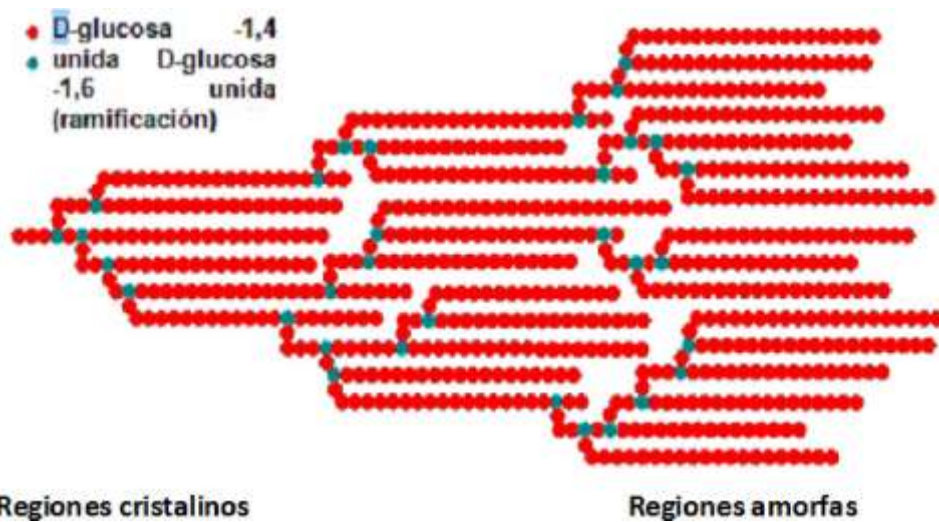


Figura 126. Amilopectina: Formación de —Clusters o racimo de 20-25 cadenas con 12-16 glucosas.

Propiedades del almidón almidón nativo insoluble en agua:

Suspensión, hinchazón de los gránulos, gelatinización, formación de pasta o cocido, retrogradación

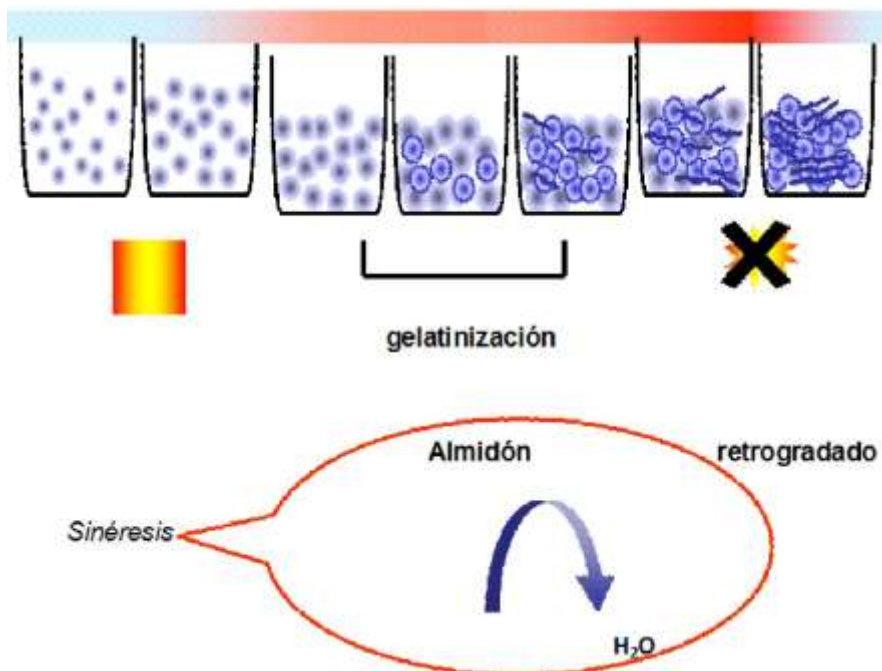


Figura 127. Propiedades del almidón almidón nativo insoluble en agua.

Solubilidad y efecto del calor

Temperaturas de gelatinización Trigo: 52 a 64 °C; Mandioca: 52 a 64 °C Papa: 56 a 69 °C; Maíz: 62 a 74 °C; Sorgo: 68 a 75 °C.

ALMIDONES MODIFICADOS

Almidones con sustituciones en grupos –OH modifica propiedades funcionales.

• ALMIDONES TRATADOS CON ÁCIDOS

Pasta concentrada de almidón HCl 1-3%, 12-14 hs neutralización filtración (> T° de gelatinización, menor viscosidad, geles más rígidos) Usos: Pastillas de gomas y otras golosinas.

• ALMIDONES HIDROXIETILADOS

Esterificación almidón + alcohol (< T° de gelatinización, pastas más claras y fluidas, menos retrogradables).

• ALMIDONES SUSTITUIDOS CON GRUPOS FOSFATO MONOÉSTERES, ACETILO, HIDROXIPROPILO, ETC.

Se modifica grado de asociación entre moléculas por puentes de H (mayor hidratación, soluciones límpidas y estables, mayor estabilidad frente a congelado-descongelado)

• ALMIDONES ENTRECruzADOS

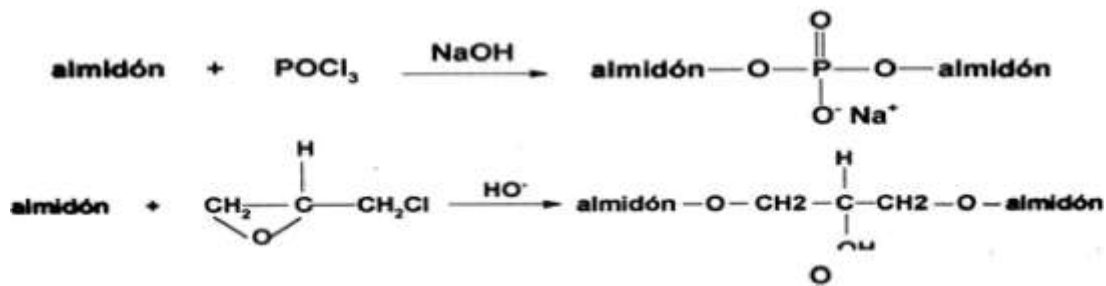


Figura 128. Entrecruzamiento covalente intermolecular, mayor PM enlace diéster: Ejemplo POCl_3 o éter: epiclorhidrina.

Mayor o menor Tgel (depende del grado de entrecruzamiento)

Menor solubilidad

Mayor viscosidad

Producen sistemas más viscosos en medios ácidos

Resisten ciclos congelado-descongelado

FRUCTANOS

Fórmula general: GF_n

Presentes en el 15 % de plantas con flores (algunos cereales y principalmente en raíces como achicoria y tubérculos como topinambur, yacón, etc.).

Clasificación

Inulinas: lineales con uniones 2 - 1, presentes principalmente en dicotiledóneas. Derivan de la 1-kestosa.

Levanos: lineales, con uniones 2 - 6, que se encuentran en un gran número de monocotiledóneas. Pueden considerarse derivados de la 6-kestosa.

Mixtos: presentan los dos tipos de enlaces, por lo que resultan ramificados. Presentes en gramíneas.

FRUCTANOS

GF_n depende de la fuente, clima, condiciones de crecimiento, época de cultivo y condiciones de almacenamiento.

Propiedades y usos

Solubles en agua caliente

Precipitan por adición de etanol

Fácilmente hidrolizables (ácidos diluïdos, agua saturada con CO₂)

Fructosa tiende a deshidratarse (furfural)

Considerados fibra alimentaria soluble

Usos como aditivos (ventajas tecnológicas y nutricionales)

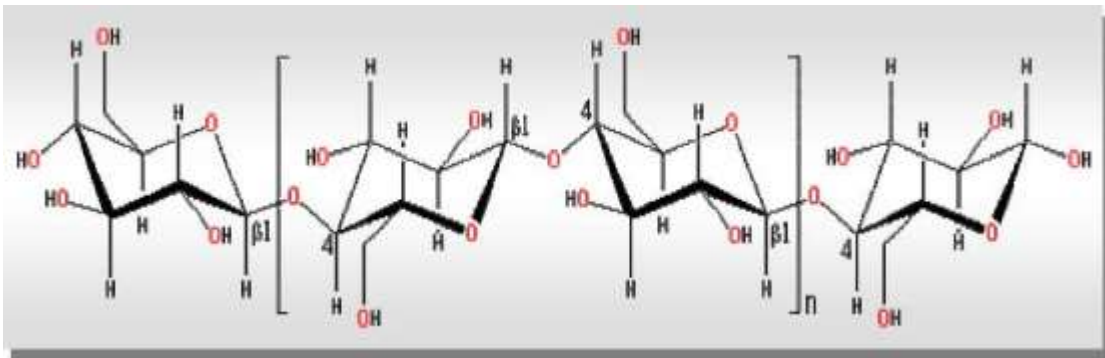


Figura 129. Fructanos son formados por uniones de moléculas de fructosa.

POLISACÁRIDOS ESTRUCTURALES

Presentes en la pared celular de plantas.

Parénquima no diferenciado, células poligonales grandes, paredes celulares finas, fotosíntesis y almacenaje 80 % en plantas no leñosas, frutas y vegetales

CELULOSA

Compuesto orgánico más abundante

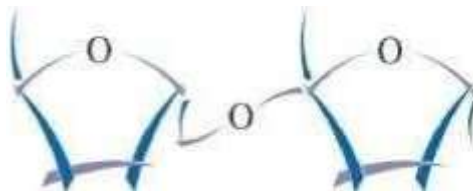


Figura 130. Celulosa es formada por uniones de 1-6, 0 – D glucosa.

Tiene

- Alta estabilidad química
- Insoluble
- Glucano lineal (1 - 4)
- $300 < PM(kDa) < 2000$ (2000-14000 residuos)
- 60% cristalina
- Zonas amorfas más susceptibles de degradación

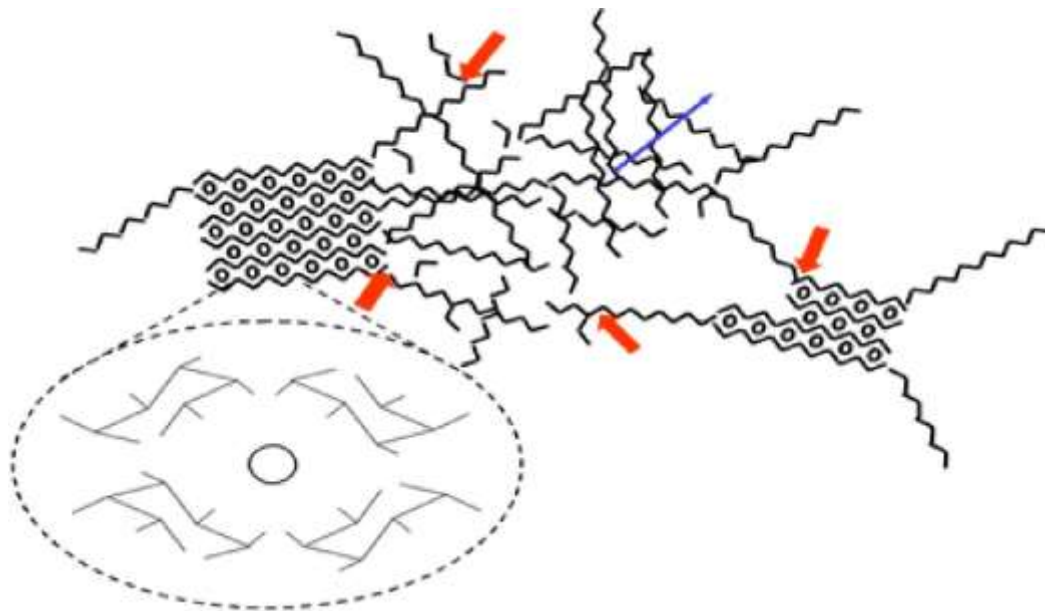


Figura 131. Uniones de 1-4, β - D glucosa en cadena lineal formando la celulosa. Las uniones de aadenas de celulosa forman las micelas, las uniones de micelas forman las microfibrillas y las uniones de fibrillas forman las fibras en la pared celular.

Propiedades y usos

- Hidrólisis muy lenta con ácidos diluidos (1-2 M)
- Puede acelerarse por dispersión en H_2SO_4 12M (método de Seaman)
- No digerible
- Alta capacidad de absorción de agua y ciertos cationes
- Fibra insoluble
- Derivados útiles como aditivos

SUSTANCIAS PÉCTICAS

Soluble en agua caliente (Agentes quelantes).

HEMICELULOSAS

Soluble en álcalis, polímeros lineales o ramificados conteniendo xilosa, arabinosa, galactosa, manosa, glucosa, ácidos glucurónico y galacturónico.

Pentosanos: hemicelulosas solubles (cereales)

- **XILANOS**

Abundantes y ampliamente distribuidos en plantas superiores

Cadena principal de D-xilosa unidas mediante enlaces 1 – 4.

Arabinoxilanos: sustituyentes de -L-arabinofuranosa ligados por uniones 1- 3 o cadenas mayores con los residuos de arabinosa conteniendo otros residuos

Glucuronoxilanos: sustituyentes de ácido 4-O-metil- -D- glucurónico unidas mediante enlaces 1- 2.

Glucuronoarabinoxilanos: en tejidos lignificados.

- **XILOGLUCANOS**

Cadena principal idéntica a celulosa con 70 a 80% de sustitución con residuos de D-xilosa unidos mediante enlaces 1 6 (cadenas laterales pueden incluir residuos de D-galactosa y L- fucosa).

SUSTANCIAS PÉCTICAS

Polímeros lineales o ramificados conteniendo xilosa, arabinosa, galactosa, manosa, glucosa, ácidos glucurónico y galacturónico.

- **GALACTURONANOS**

Homogalacturonanos polímeros lineales de 70 a 100 residuos de ácido D-galacturónico unidos por enlaces 1 - 4. Estos residuos pueden estar esterificados con grupos metilo.

Ácido péctico: GM= 0

Pectina: parcialmente metiladas.

Ramnogalacturonanos (RG): Polímeros de ácido galacturónico y ramnosa, con cadenas laterales de azúcares neutros como arabinosa y galactosa

- **ARABINANOS**

Polímeros ramificados de L-arabinosa 1 - 5 y sustituyentes laterales individuales u oligómeros del mismo azúcar ligados al C 2 ó 3.

- **GALACTANOS**

Generalmente presentan uniones 1 - 4 y en algunos casos 1 - 6, con grados de polimerización entre 30 y 60.

- **ARABINOGALACTANOS**

Pueden presentar amplia variación en la composición y tipos de unión. En general presentan residuos de galactosa 1 - 4 y arabinanos lineales como cadenas laterales ligadas en el C 3 de las unidades de galactosa.

SUSTANCIAS PÉCTICAS (complejo)

A: bloque no ramificado (homogalacturonanos no esterificados).

B: bloque ramificado (RGI y RGII con arabinanos, galactanos y arabinogalactanos).

OTROS POLIACÁRIDOS DE OCURRENCIA NATURAL

Aditivos alimentarios

GOMAS: (extractos acuosos de componentes celulares-exudados)

MUCÍLAGO: En células especializadas

Concentración < 1%

(Controlan propiedades físicas o agentes de carga) derivan de plantas y algas. Pueden ser modificados.

POLISACARIDOS AISLADOS

Exudados de plantas, semillas, polisacáridos, alginatos, almidones, microbiales: Heteropolisacáridos, complejos altamente ramificados, Galactomananos, Arabinoxilanos, Galacturonanos, Uronan, Galactanos sustituidos, Éteres, ésteres amidas, Esteres éteres, Heteropolisacáridos

POLISACÁRIDOS SEMISINTÉTICOS

Polímeros de glucosa azarosas. Ej. Polidextrosa

GLUCÓGENO

- PS de reserva. Presente en hígado (10%) y músculo (2%)
- Glucano 1 - 4 con ramificaciones 1 – 6.
- PM hasta 1×10^5 kDa
- Bajos niveles en dietas convencionales.

LÍPIDOS

INTRODUCCIÓN

Los lípidos biológicos constituyen un grupo químicamente diverso de compuestos cuya característica común y definitoria es su insolubilidad en agua. Las funciones biológicas de los lípidos son igualmente diversas. En muchos organismos las grasas y los aceites son las formas principales de almacenamiento energético, mientras que los fosfolípidos y los esteroides constituyen la masa de las membranas biológicas. Otros lípidos, aún estando presentes en cantidades relativamente pequeñas, juegan papeles cruciales como agentes emulsionantes, mensajeros intracelulares, transportadores electrónicos.

Los lípidos comprenden uno de los cuatro grupos de compuestos que se encuentran en los tejidos de los seres vivos, los carbohidratos, proteínas y ácidos nucleicos. No hay una definición simple para el término —lípidoll, aunque los lípidos (del griego, grasa) su definición se basa en sus propiedades fisicoquímicas (solubilidad) como un grupo de biomoléculas, insolubles en agua y solubles en disolventes no polares como cloroformo, hexano, éter de petróleo, entre otros.

Los lípidos en los vegetales

Los lípidos presentes en las plantas llamaron la atención desde 1930, debido a que algunos ácidos grasos esenciales juegan un papel vital en la salud de los individuos. Se caracterizan por contener en su estructura insaturaciones (dobles enlaces) en las posiciones 3 y 9 de la cadena hidrocarbonada, partiendo del metilo (CH₃-) terminal. Estos metabolitos no pueden ser sintetizados por los mamíferos, sin embargo, son necesario para la síntesis de eicosanoides, compuestos importantes en la salud del hombre.

Los lípidos de membranas tienen implicaciones importantes para la acción de varios reguladores de crecimiento de las plantas. Industrialmente tienen gran interés por su uso en la obtención de detergentes, jabones, polímeros (nylon) y en la manufactura de cosméticos y fármacos, lubricantes, alimentos, lubricantes altamente estables, y recientemente, se les ha considerado como una fuente de combustible renovable.

En los vegetales los lípidos se encuentran en las membranas celulares como glicolípidos y fosfolípidos, y como triacilglicéridos, los últimos como sustancias de reserva, en cuerpos oleosos (esferosomas) en las semillas. Aproximadamente cerca de 300 ácidos grasos diferentes se han identificado en plantas. En las membranas de los cloroplastos y en los plastidios de los tejidos no fotosintéticos los glicolípidos son los componentes que se encuentran en mayor abundancia. En las membranas las partes polar (hidrofílica) se orienta hacia la parte externa de éstas, y la parte hidrofoba se encuentra inmersa en el interior de la membrana de diferentes organelos y estructuras.

En lo que se refiere a los fosfolípidos, las membranas vegetales contienen el mismo tipo de lípidos que las membranas de los animales, solamente difieren en la proporción. El fosfatidilglicerol se encuentra en menor proporción en los animales, pero en las plantas en mayor abundancia por localizarse en las membranas fotosintéticas, en cambio derivados del fosfatidilinositol se localiza en el plasma de las membranas, en donde su función es la de participar en la transducción de señales. También en las membranas se encuentran otra clase de lípidos, los esteroides que se encargan de proporcionarles estabilidad.

La proporción de lípidos en las membranas está cuidadosamente regulada y la distribución de los mismos, particularmente de los ácidos grasos, está sujeta a procesos de síntesis y recambio (degradación y síntesis *de novo* de otros lípidos).

La reserva de lípidos ocurre principalmente en las la etapa de desarrollo (acumulación de lípidos, carbohidratos), posterior a la de la división celular rápida. Por ejemplo, en semillas, es inusual una cantidad elevada de ácidos grasos, en esta etapa es donde se realiza su síntesis, mas que en la etapa de desecación. Pero en esta última etapa, se observa una pequeña síntesis de sustancias de reserva.

En el Cuadro 2 se muestra el contenido aproximado de lípidos en diferentes cereales, en donde los lípidos se encuentran concentrados en forma de gotas (esferosomas) en la capa de subaleurona.

Cuadro 13. Contenido de lípidos en cereales

| Cereal | Contenido de lípidico aproximado (%) |
|-------------------------|---|
| Avena | 7,0 |
| Harina de avena | 6,2 |
| Maíz | 4,6 |
| Trigo | 1,9 |
| Arroz | 2,3 |
| Cebada | 2,1 |
| Harina de sorgo bruto | 2,5 |
| Almidón de trigo | 1,1 |
| Gérmén de trigo | 10,0 |
| Harina integral de maíz | 3,9 |
| Harina de maíz | 2,6 |

Robinson, 1991.

En las plantas los lípidos presentan varias funciones: como fuente de energía, componentes de membranas, también se encuentran involucrados en el control metabólico (mensajeros: fosfatidilinositol y reguladores de crecimiento: diglicéridos estimulan a algunas proteínas para la liberación de Ca^{+2} /cadmodulina, las que a su vez estimulan a otras proteínas que participan el la regulación de algunos procesos), en el mecanismo de defensa contra el ataque de algunos microorganismos y protección de la pérdida de agua excesiva (cutina, ceras)

En las semillas ricas en lípidos (oleaginosas) éstos se encuentran almacenados como triglicéridos en pequeñas esferas o vesículas, que también se encuentran unidas a algunas proteínas llamadas oleosinas, en donde su función principal consiste en anclar a las enzimas lipasas, las cuales se encargan de degradar a los lípidos durante la germinación.

Se acumulan en las membranas epidermales de los frutos, constituyen parte de la cutícula, juegan un papel importante en el control de la transpiración, en la protección contra el ataque de patógenos. En la cutícula se encuentran los lípidos como ceras y cutina.

Durante la germinación los lípidos son transformados a carbohidratos en los glioxisomas y los sitios de síntesis de los triglicéridos son los plastidios, en el retículo endoplásmico se sintetizan los fosfolípidos y en el citosol los ácidos grasos C_{18} se transforman en compuestos insaturados

CLASIFICACIÓN

Comprende uno de los grupos del metabolismo celular diverso, en cuanto a sus estructuras químicas se refiere. Existen diversos criterios de clasificación, a continuación se mencionan algunos.

Lípidos simples: son los más abundantes las grasas y aceites, los menos abundantes las ceras.

Lípidos compuestos: comprenden los fosfolípidos que contienen fósforo en su moléculas y galactolípidos que contienen al monosacárido galactosa.

Lípidos derivados: algún producto de las hidrólisis de los anteriormente señalados (ácidos grasos) y otros como vitaminas liposolubles, aceites esenciales, esteroides.

Por su estructura química se clasifican:

I. Ácidos grasos

- A. Saturados
- B. Insaturados

II. Glicéridos – lípidos que contienen glicerol

- A. Glicéridos neutros
 - 1. Monoacilglicéridos
 - 2. Diacilglicéridos
 - 3. Triacilglicéridos
- B. Fosfoglicéridos
 - 1. Lecitinas
 - 2. Cefalinas

III. Lípidos que no contienen glicéridos

- A. Esfingolípidos
 - 1. Esfingomielinas
 - 2. Cerebrósidos
 - 3. Gangliósidos
- B. Esteroides
- C. Ceras
- D. Terpenos- lípidos compuestos de unidades de isopreno.

IV. Lípidos complejos – lípidos unidos a otro tipo de moléculas

- A. Lipoproteínas
- B. Glicolípidos

Considerando el propósito de este texto es importante citar la clasificación en relación a su función, propuesta por Lehninger *et al.*, (1995):

Lípidos de Almacenamiento: Ácidos grasos

(Neutros) Triglicéridos
Ceras

Lípidos Estructurales de Membrana: Glicerofosfolípidos,

(Polares) Esfingolípidos
Esteroles

Lípidos con Actividades Biológicas Definidas:

Hormonas esteroidales
Fosfatidilinositol
Icosanoides y prostaglandinas
Vitaminas A, D, E y K
Quinonas lipídicas
Dolicoles

Ácidos grasos

Los ácidos grasos son derivados hidrocarbonados a un nivel de oxidación tan bajo (esto es, tan reducido) como el de los hidrocarburos de los combustibles fósiles. La oxidación completa de los ácidos grasos (a CO₂ y H₂O) en las células, al igual que la oxidación explosiva de los carburantes fósiles en los motores de combustión interna, es muy exergónica. Por ejemplo, los lípidos contienen una energía de 39 kJ (9,3 kcal)/g, más del doble de la que poseen los carbohidratos, 17 kJ (4,1 kcal/g).

Son compuestos alifáticos (larga cadena de carbonos) con un grupo carboxilo al final de la cadena hidrocarbonada no ramificada. La cadena alifática puede ser saturada (enlaces simples) o insaturada (enlaces dobles). Los ácidos grasos por su origen biosintético (derivados de un compuesto de dos átomos de carbono, —acetatol como precursor) contienen por lo general un número par de átomos de carbono en su estructura entre 12 y 24 carbonos.

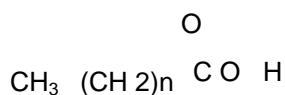


Figura 132. Fórmula general de un ácido graso saturado.

La nomenclatura simplificada de estos compuestos especifica la longitud de la cadena y el número de dobles enlaces separados por dos puntos; el ácido palmítico, que tiene 16 átomos de carbono y es saturado, se abrevia 16:0 y el ácido oleico de 18 carbonos con un doble enlace es 18:1. Las posiciones de los dobles enlaces se especifican por exponentes que siguen a una Δ (delta); un ácido graso de 20 carbonos con un doble enlace entre C-9 y C-10 (C₁ es el carbono carboxílico) y otro enlace doble entre C-12 y C-13, se designa 20:2(Δ^{9,12}), por ejemplo. Los ácidos grasos más abundantes tienen un número par de átomos de carbono en una cadena sin ramificar de entre 12 y 24 carbonos (Cuadro 4). El número par de carbonos es consecuencia de la forma de

síntesis de estos compuestos que utiliza la condensación de unidades de acetato (de dos carbonos).

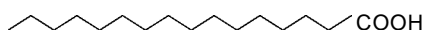
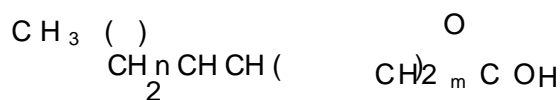


Figura 133. Ácido graso saturado: Acido palmítico

Algunos se caracterizan por contener las insaturaciones en posición "cis" del mismo lado, por lo tanto son muy raros aquellos que tienen su insaturación en posición "trans" lado opuesto de manera natural. La posición de los dobles enlaces también es regular; en la mayoría de los ácidos grasos monoinsaturados, el doble enlace se encuentra entre C-9 y C-10 (Δ^9) mientras que en los restantes dobles enlaces de los ácidos grasos poliinsaturados son generalmente Δ^{12} y Δ^{15} (Cuadro 4). Los dobles enlaces de los ácidos grasos poliinsaturados casi nunca son conjugados (alternación de enlaces dobles y sencillos como en $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-$) sino que están separados por un grupo metileno ($-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$).



Fórmula general de un ácido graso insaturado



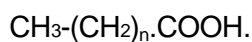
Ácido graso insaturado "cis"



Figura 134. Ácido graso insaturado "trans"

Ácidos grasos de cadena abierta: los más frecuentes son los saturados, los insaturados y los hidroxilados.

Saturados: sólo poseen enlaces sencillos entre los átomos de carbono. Tienen la fórmula:



Ejemplos:

- Ácido cáprico, C_{10} $n=8$
- Ácido láurico, C_{12} $n=10$

- Ácido mirístico, C₁₄ n=12
- Ácido palmítico, C₁₆ n=14
- Ácido esteárico, C₁₈ n=16
 - Ácido araquídico, C₂₀ n=18

Insaturados: tienen uno o varios dobles enlaces en la cadena hidrocarbonada (la posición numérica se indica en los ejemplos precedida por el símbolo Δ). Todos los dobles enlaces son —cisll. Son ejemplos de ácidos grasos insaturados:

- Ácido oleico, C₁₈ Δ_9
- Ácido linoleico, C₁₈ $\Delta_{9,12}$
 - Ácido α -linolénico, C₁₈ $\Delta_{9,12,15}$
 - Ácido γ -linolénico, C₁₈ $\Delta_{6,9,12}$

Hidroxilados: poseen uno o más grupos OH en la cadena hidrocarbonada. Por ejemplo el ácido ricinoleico, C₁₈, lleva un doble enlace en la posición 9 (C₉, a partir del CH₃ terminal de la cadena hidrocarbonada) y un hidroxilo en la posición 12.

Ácidos grasos de cadena parcialmente ciclada: los más frecuentes son los ácidos ciclopentenoicos y los ácidos ciclopropanoicos.

Ácidos ciclopentenoicos: poseen un ciclo de 5 carbonos con un doble enlace. Por ejemplo, el ácido hidnocárpico (n=10) y el ácido chaulmógrico (n=12).

Ácidos ciclopropenoicos: poseen un ciclo de 3 carbonos con un doble enlace. Por ejemplo, el ácido estercúlico. Los ácidos más frecuentes son los de cadena abierta saturados o insaturados. Los ácidos grasos hidroxilados o cíclicos son muy poco frecuentes y sólo se encuentran en especies vegetales muy concretas. También hay epoxiácidos (con función epóxido) y ácidos acetilénicos (con enlaces triples).



Figura 135. Función epóxido

Los ácidos grasos con 10 o más átomos de carbono son sólidos a temperatura ambiente. Los ácidos grasos insaturados tienen puntos de fusión menores que los de los ácidos grasos saturados correspondientes y, en la mayoría de los casos, son líquidos a temperatura ambiente. La diferencia en los puntos de fusión de los ácidos grasos saturados de los insaturados se explica en términos del grado de organización de las moléculas en la red cristalina sólida. Los dobles enlaces en las moléculas de los ácidos grasos insaturados los hacen menos compactos que los ácidos grasos saturados. Por lo tanto, los ácidos grasos insaturados no encajan en la red cristalina tan bien como lo hacen las moléculas de los ácidos grasos saturados. En consecuencia, los ácidos grasos insaturados entran más difícilmente al estado sólido.

Es importante señalar que la composición de ácidos grasos en el pericarpio es diferente a la de las semillas en los vegetales-Generalmente los ácidos grasos no se encuentran libres en las células, sino esterificados con grupos hidroxilos (-OH) de numerosos compuestos.

En algunas especies de plantas se han encontrado ácidos grasos lípidos en el néctar. A través de la ingeniería genética y biotecnología se puede alterar la composición de los ácidos grasos (mayor cantidad de poliinsaturados), obteniendo algunas ventajas como mejorar la calidad del aceite comercial y explotarse a escala comercial.

Los ácidos grasos insaturados linoleico y linolénico se les considera esenciales para el hombre, debido a que no son sintetizados por los mamíferos. Entre las acciones orgánicas más señaladas del ácido linoléico, se ha descrito la reducción del desarrollo de la aterosclerosis, incrementa el crecimiento de animales, así como la respuesta inmune de animales y personas, mejorando incluso la diabetes de tipo II y reduciendo el sobrepeso y la obesidad. Como podemos ver, podría ser un ingrediente interesante para el desarrollo de alimentos funcionales. La mayor parte de sus actividades biológicas se relacionan con una mejora en el metabolismo energético y con una reducción en el apetito, lo que indudablemente ayuda a mejorar los diversos problemas descritos anteriormente. Así, si se reduce la ingesta de alimentos por una sensación de saciedad, se puede facilitar la pérdida de peso y reducir la obesidad, con lo que disminuye el riesgo cardiovascular y se disminuye el desarrollo de la arteroesclerosis, entre otros aspectos.

Los ácidos grasos omega-3 (posición 3 de la insaturación iniciando la numeración por el $-CH_3$ terminal de la cadena del ácido graso), son una serie de sustancias grasas que tomamos en la dieta y pertenecen al grupo de los ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs), y están relacionadas con el ácido linolénico. Éste es un ácido graso de los llamados —esenciales— porque nuestro organismo es incapaz de sintetizarlo, y tiene que ser ingerido a través de la dieta diaria con el alimento. Los ácidos grasos omega-3 están implicados no sólo en la maduración y el crecimiento cerebral del niño (por eso la leche materna lleva estos ácidos grasos), sino que intervienen en los procesos de inflamación, coagulación, presión arterial, órganos reproductivos y metabolismo graso.

Otros de los ácidos grasos esenciales son los llamados omega-6 (posición 6 de la insaturación iniciando la numeración por el $-CH_3$ terminal de la cadena hidrocarbonada del ácido graso), son derivados del ácido linoléico. Tienen importancia porque también son necesarios para el organismo (que, además, no los puede sintetizar) y aparecen junto a los omega-3. Parecen tener, sin embargo, una cierta relación con la aparición de procesos inflamatorios y arterosclerosos. Se suelen encontrar en aceites refinados de algunas semillas como la de girasol o de maíz. Pero lo realmente importante es que la dieta tenga cantidades equilibradas de ambos tipos de ácidos grasos esenciales, que en nuestro organismo compiten por las mismas enzimas. Un mal balance entre ellos puede favorecer los procesos inflamatorios.

Cuando los alimentos ricos en aceites y grasas se exponen demasiado tiempo al aire se pueden estropear volviéndose rancios. El gusto y olor desagradable asociados con el enranciamiento provienen de la rotura aditiva de los dobles enlaces de ácidos grasos insaturados que produce aldehídos y ácidos carboxílicos de cadena más corta y, por consiguiente, mayor volatilidad.

Ceras

Se encuentran en animales, plantas y microorganismo, donde forman una cubierta protectora (hojas y frutos, cactáceas) o se encuentran en secreciones oleosas (animales). Las ceras también realizan diversas funciones en la naturaleza, que están relacionadas con sus propiedades repelentes del agua y con su consistencia firme. Ciertas glándulas de la piel de los vertebrados secretan ceras para proteger el pelo y la piel manteniéndolos flexibles, lubricados e impermeables. Los pájaros, especies, entre las aves acuáticas, secretan ceras que mantienen la repelencia al agua de sus plumas. Las hojas brillantes del acebo, rododendro, hiedra venenosa y muchas plantas tropicales están recubiertas con una capa de ceras que las protege contra parásitos e impide la evaporación excesiva del agua.

Las ceras son mezclas complejas de compuestos donde predominan los ésteres de ácidos grasos y de alcoholes alifáticos de peso molecular elevado.

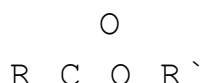


Figura 136. Fórmula general de una cera (R; R' cadena hidrocarbonada de elevado peso molecular).

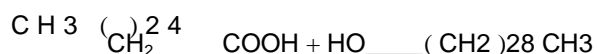


Figura 137. .Ácido graso + alcohol

Frecuentemente, contienen además ácidos grasos y alcoholes esteroídales (esteroides), alcoholes libres, ácidos libres e hidrocarburos (alquenos). Son ejemplos de ceras de origen animal la cera de abeja, la lanolina y el esperma de ballena y de origen vegetal la cera de carnauba.

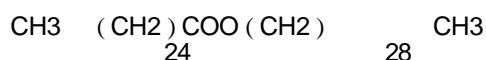


Figura 138. estructura de una cera: éster de ácido graso y alcohol

Las ceras son completamente inertes, pero pueden desdoblarse lentamente en solución de KOH. Son insolubles en agua y resistentes a la oxidación

atmosférica. Debido a estas propiedades se usan en pulimentos para autos y muebles.

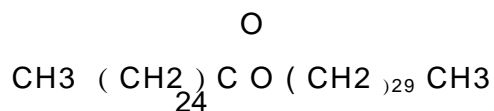


Figura 139. Componente de la cera de abeja

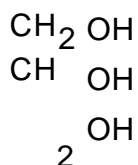
Las ceras cuticulares de los frutos están formadas por una larga cadena hidrocarbonada entre C_{20} y C_{35} átomos de carbono, son compuestos insolubles en agua y presentan puntos de fusión entre 40 y 100 °C.

Ceras que contienen: $\text{C}_{20}\text{--C}_{24}$ $\text{C}_{24}\text{--C}_{28}$ de una cadena hidrocarbonada de un ácido hidrocarbonada de un alcohol
+

Componentes de la estructura de una cera en la cutícula de los vegetales

Triacilglicéridos (lípidos neutros)

Los triglicéridos, nombre común de los triacilglicéridos, son triésteres neutros derivados del glicerol y de tres moléculas de ácidos grasos. Para una molécula de ácido graso hay una unión éster en cada grupo --OH del carbono del glicerol.



Figuras140. Glicerol o

glicerina.

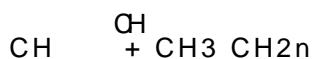
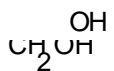
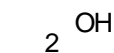


Figura 141. En la formación de un triglicérido intervienen hasta tres moléculas de ácido graso.

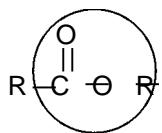


Figura 142. Grupo funcional éster.

Estructuras generales de glicéridos



Monoglicérido

(una molécula de ácido
graso)

Diglicérido

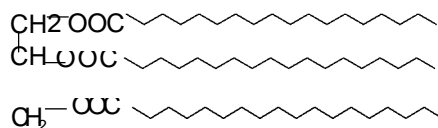
(dos moléculas de
ácido graso)

Figura 143.

Triglicérido

(tres moléculas de
ácido graso)

La función principal de los triglicéridos es almacenar energía, son el tipo de lípidos más abundantes. En la naturaleza existen solamente pequeñas cantidades de monoacilglicéridos, y diacilglicéridos. Los triacilglicéridos se subdividen en simples y mixtos. Un triacilglicérido simple tiene el mismo ácido



graso enlazado a cada uno de los tres grupo $-\text{OH}$ del carbono del glicerol.

Figura 144. Triglicérido simple: triestearina
(tres moléculas de ácido esteárico)

Los ácidos palmitico y esteárico son los ácidos grasos saturados en los triglicéridos de los animales y plantas mas comunes de la naturaleza. El ácido oleico es el mas abundante de los monoinsaturados. Los ácidos linoleico y linolenico son ejemplo de ácidos grasos poliinsaturados, o aquellos que contienen dos o mas dobles enlaces.

La triestearina y la trioleína (nombres comunes) son ejemplos de triacilglicéridos simples. En la triestearina hay tres moléculas de ácido esteárico enlazadas al glicerol, y en la trioleína se encuentran tres moléculas de ácido oleico enlazadas al glicerol. La triestearina se clasifica como un triacilglicérido saturado, ya que el ácido esteárico es un ácido graso saturado. La trioleína contiene tres ácidos grasos insaturados, por lo tanto se le clasifica como un

triacilglicérido insaturado.

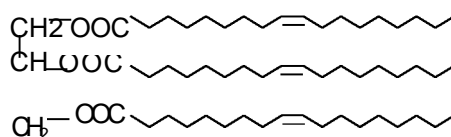


Figura 145. Trioleína

(tres moléculas de ácido oleíco)

Los triacilglicéridos mixtos son compuestos que tienen dos o tres ácidos grasos diferentes enlazados al glicerol.

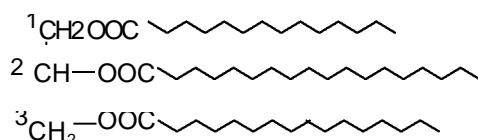


Figura 146. Triglicérido mixto: 1-miristil-3-palmitil-2-estearina

(ácido mirístico + ácido esteárico + ácido palmítico)

El uso de letras griegas está permitido en sustitución de números para nombrar a los triglicéridos

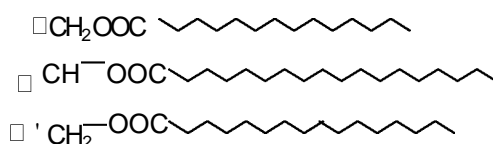


Figura 147. α -miristil- β '-palmitil- α -estearina.

Las propiedades físicas de los triacilglicéridos están relacionadas con el tipo y estructura de los ácidos grasos dentro de las moléculas. Al igual que en los ácidos grasos libres, entre mayor sea el grado de insaturación, menor será el punto de fusión. La mayoría de los puntos de fusión de los triacilglicéridos saturados son mayores que los de los triacilglicéridos monoinsaturados. Los triacilglicéridos poliinsaturados tienen los puntos de fusión más bajos. A temperatura ambiente los triacilglicéridos saturados tienden a ser sólidos y los insaturados tienden a ser líquidos.

Grasas y aceites

La mayoría de los lípidos en la naturaleza son mezclas complejas de triacilglicéridos simples y mixtos; por lo tanto, muchos ácidos grasos son componentes de las grasas y aceites comunes.

Las características de los triglicéridos dependen del grado de saturación de los ácidos grasos enlazados. Si predominan los ácidos grasos insaturados, el glicérido será líquido a temperatura ambiente y recibe el nombre de aceite. Si

predominan los ácidos grasos saturados, a temperatura ambiente el triglicérido tendrá consistencia sólida o semi-sólida y recibe el nombre de grasa. Si los ácidos grasos que contienen aceite son muy insaturados constituyen los aceites secantes (ejemplo: aceite de linaza, obtenido de *Linum usitatissimum*).

Los aceites son principalmente de origen vegetal, aunque también los hay de origen animal, como el aceite de hígado de bacalao, mientras que las grasas son principalmente de origen animal, aunque también hay algunas de origen vegetal, como la manteca de cacao o la manteca de coco. A continuación se indican ejemplos de aceites y mantecas de origen vegetal y animal:

1. Aceites de origen vegetal: aceite de oliva, aceite de ricino, aceite de onagra, aceite de linaza, aceite de borraja, aceite de soja.
2. Aceites de origen animal: aceite de hígado de bacalao.
3. Grasas o mantecas de origen vegetal: manteca de cacao, manteca de Karité.
4. Grasas de origen animal: manteca de cerdo.

Saponificación

Las grasas y aceites cuando se tratan con KOH se desdoblán produciendo jabón, a este tipo de reacción química se le conoce saponificación. Criterio que se considera también para clasificar a los lípidos en: saponificables (aquellos que producen jabón por contener una función éster en su estructura): las ceras, grasas y aceites, y no saponificables (no producen jabón al tratarse con NaOH, KOH): los esteroides, aceites esenciales, vitaminas lipofílicas.

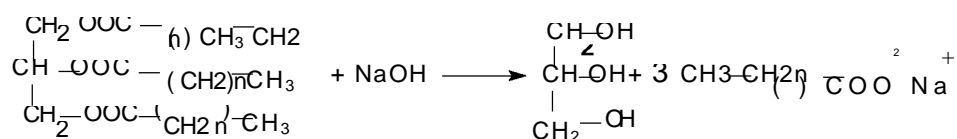


Figura 148. Estructura general de una grasa → Estructura general de un jabón

Reacción de saponificación

Durante el proceso industrial de elaboración de grasas parcialmente hidrogenadas y margarinas se bombea hidrógeno a los aceites vegetales, provocando como resultado la formación de grasas trans en cantidades significativas, es decir, las insaturaciones de los ácidos grasos de posición "cis" se isomerizan a posición "trans". Gracias a ellas se consigue prolongar la vida comercial de diversos productos. De la misma forma, margarinas u otros alimentos similares se untan mejor, es decir, pueden extenderse con mayor facilidad sobre superficies como el pan sin necesidad de esperar a que ganen temperatura tras sacarlas del frigorífico. Sin embargo, este tipo de alimentos tienen efectos adversos en la salud de los consumidores.

Mientras que las grasas saturadas afectan por igual los niveles de lipoproteínas de baja y alta densidad, los impropriadamente llamados colesterol malo (LDL) y bueno (HDL), respectivamente, las grasas trans actúan sobre el LDL sin afectar el HDL. Este desequilibrio metabólico inducido se ha asociado en los últimos tiempos con un mayor riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares.

Los expertos en nutrición recomiendan a través de un sinnúmero de guías nutricionales fomentar el consumo de grasas insaturadas como las que pueden encontrarse de forma natural en nueces, semillas o aceites vegetales. Esta recomendación, pese a los esfuerzos de la comunidad científica y médica, ha encontrado tradicionalmente poco eco en la sociedad por las escasas pruebas disponibles sobre los efectos nocivos de las grasas trans.

Fosfolípidos (lípidos polares)

Los fosfolípidos son un grupo de lípidos que contiene un grupo fosfato, comprende al grupo de los lípidos polares (la molécula adquiere carga). Están localizados principalmente en las membranas celulares de los animales. Los fosfolípidos se parecen a los triacilglicéridos en los dos primeros átomos de carbono del glicerol; en estas posiciones hay dos ésteres de ácidos grasos, y se diferencian en el tercer átomo de carbono donde hay un éster de fosfato. También unido al grupo fosfato hay un segundo alcohol, G. Los ésteres de fosfato se producen por la reacción entre un alcohol y el ácido fosfórico, H_3PO_4 .

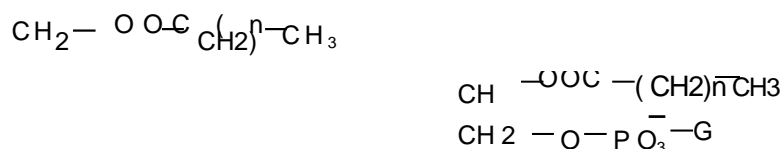
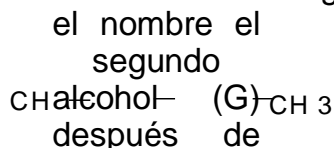


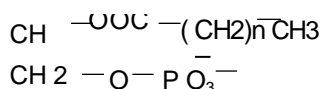
Figura 149. Estructura general de una molécula de fosfolípido.

Se denomina grupo fosfatidilo al fosfoglicérido sin el grupo alcohol enlazado a la molécula. Para escribir el nombre de un fosfoglicérido, hay que escribir



fosfatidil.

2 (CH₂)



O O C (n

Figura 150. Nombre de un fosfoglicérido = fosfatidil + nombre del alcohol (colina) = fosfatidilcolina.

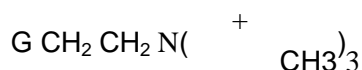


Figura 151. Estructura de radical colina.

Los fosfoglicéridos que existen naturalmente tienen una estructura aniónica similar. Las moléculas de amino alcohol se unen al grupo fosfato en los fosfoglicéridos. Los fosfoglicéridos se clasifican de acuerdo al amino alcohol enlazado al grupo fosfato (colina) fosfatidilcolinas, denominadas comúnmente lecitinas por ejemplo: la lecitina de soja, obtenida de las semillas de *Glycine soja*.

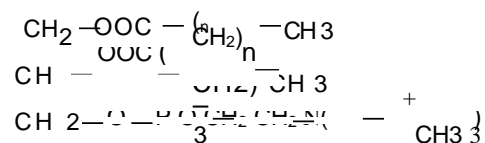


Figura152. Estructura de general de lecitina

La molécula de fosfatidilcolina tiene dos partes, la "cabeza" y la "cola". En la cabeza de la molécula de fosfatidilcolina se encuentran los grupos iónicos fosfato y colina, y en la cola las dos cadenas no polares de los ésteres de los ácidos grasos. Esta estructura es similar a la de las moléculas de jabón. La región iónica de la cabeza de una molécula de fosfatidilcolina interactúa con las moléculas polares del agua o sea que es hidrofílica. La región no polar de la cola interactúa con las moléculas no polares o sea que es hidrofóbica (estructura antipática de una molécula: parte polar y no polar en una sustancia). Ésta característica estructural de los fosfoglicéridos juega un papel importante en la construcción de las membranas celulares.

La fosfatidilcolina es un sólido ceroso que expuesto al aire, y forma una suspensión coloidal en el agua. Algunas fuentes alimenticias de fosfatidilcolina son la yema de huevo y la soja.

La fosfatidilcolina es un componente de las membranas celulares y es un agente emulsificante. Los agentes emulsificantes son sustancias que ayudan a suspender las grasas en el agua. Uno de los usos comerciales de la fosfatidilcolina es en la emulsificación de grasas de los helados y la mayonesa.

Lípidos en las membranas celulares

Los fosfolípidos son componentes claves de las biomembranas. Las membranas celulares, no son estructuras rígidas, las proteínas y los lípidos están en constante movimiento y algunos fosfolípidos se mueven lateralmente a muy altas velocidades de una parte de la membrana a otra, debido a su composición química. Las membranas celulares tienen propiedades de fluido, es decir, fluyen de manera similar a los líquidos. La fluidez de la membrana depende de las propiedades de las cadenas laterales de los fosfolípidos. Las membranas que contienen una alta concentración de cadenas laterales insaturadas son menos viscosas y más fluidas que aquellas membranas con una concentración alta de cadenas laterales saturadas.

La tendencia de las moléculas antipáticas en agua para formar estructuras organizadas espontáneamente, también es la clave estructural de las membranas celulares, que contienen, en general, una gran proporción de

lípidos antipáticos. Los fosfolípidos son los lípidos antipáticos más abundantes. La carga negativa del fosfato, así como los grupos cargados y los grupos hidroxilos del alcohol esterificado a él, mantienen una interacción fuerte con el agua.

Los fosfolípidos forman espontáneamente micelas o bicapas en soluciones acuosas. Los fosfolípidos adoptan tres formas diferentes en soluciones acuosas: micelas, láminas bicapas y liposomas. El tipo de estructura formada por un fosfolípido puro o por una mezcla de fosfolípidos depende de la longitud y del grado de saturación de las cadenas de ácidos grasos, de la temperatura, de la composición iónica del medio acuoso y del modo en que se dispersan los fosfolípidos en la solución. Cuando una solución de fosfolípidos se dispersa violentamente en agua, algunos de ellos se pueden unir en micelas (estructuras esféricas de unos 20 nm o menos de diámetro). Las cadenas laterales hidrocarbonadas quedan secuestradas en el interior de la micela; los grupos polares de la cabeza quedan en su superficie, en contacto con el agua.

Los fosfolípidos también forman espontáneamente estructuras simétricas de tipo laminar llamadas bicapas de fosfolípidos. Las bicapas tienen dos moléculas de ancho. Las cadenas laterales hidrocarbonadas de cada capa minimizan su contacto con el agua alineándose en el centro de la bicapa. Su empaquetamiento compacto se estabiliza por atracciones de van der Waals entre las cadenas laterales hidrocarbonadas de los fosfolípidos adyacentes. Enlaces electrostáticos y de hidrógeno estabilizan las interacciones entre los grupos polares de la cabeza y el agua. Una bicapa de fosfolípidos puede ser casi de tamaño ilimitado de escasos milímetros de largo o de ancho, los liposomas son estructuras bicapa esféricas, mas grandes que las micelas, que contienen agua en el interior.

Hay que tener en cuenta que existen moléculas de colesterol "embebidas" en la membrana, el colesterol es un componente necesario de las membranas biológicas. El colesterol rompe las interacciones tipo Van der Waals entre las "colas" de los fosfolípidos. Esto también hace que la membrana sea más fluida. Por lo tanto una manera de controlar la fluidez de la membrana es regulando el nivel de colesterol en la misma

Lípidos no saponificables

En este apartado se pueden citar numerosos compuestos que reúnen características hidrofóbicas, insolubles en agua y solubles en disolventes orgánicos, que los ubica dentro de los lípidos. Como ejemplo, se puede citar a los aceites esenciales, vitaminas lipofílicas, esteroides, sustancias que se describen en el capítulo de metabolitos secundarios. Los esteroides (triterpenos) son lípidos que poseen el siguiente sistema de anillos fusionados denominado núcleo esteroidal.

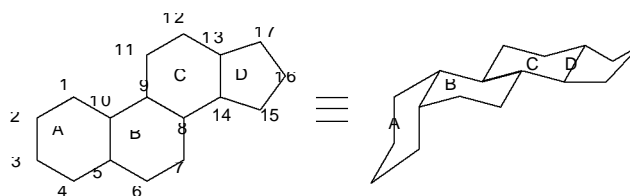


Figura 153. Esqueleto base de los esteroides

Los esteroides son también triterpenos, ampliamente distribuidos en el reino vegetal y animal, cumplen funciones fisiológicas importantes en las plantas, de gran interés en el campo farmacológico. Son compuestos de vital importancia en animales, como el colesterol, la vitamina D, el lanosterol, escualeno, diversas hormonas sexuales, saponinas, glucósidos cardiotónicos, ecdisonas, ácidos biliares y adrenocorticoides entre otras.

El colesterol es el esteroide más abundante en los seres humanos. El cuerpo puede sintetizar la cantidad necesaria de colesterol sin considerar la fuente. Se ha prestado mucha atención al consumo de colesterol en la dieta y su relación con el desarrollo de la arteriosclerosis. La arteriosclerosis se produce por el depósito de sustancias grasosas en los vasos sanguíneos del cuerpo; también se le da el nombre de endurecimiento de las arterias.

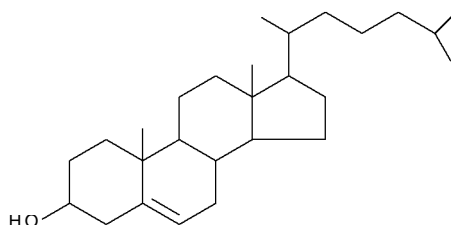


Figura154. Colesterol

Como el colesterol, también cierto número de hormonas poseen el núcleo de esteroide. son más polares que el colesterol, y gran número de isoprenoides que se sintetizan a partir de precursores de cinco carbonos relacionados con el isopreno:

Esta vez consideraremos las hormonas sexuales esteroidales. Los machos y las hembras segregan hormonas sexuales diferentes. Los andrógenos, hormonas sexuales masculinas, son segregadas por los testículos. La testosterona es la más importante de estas hormonas. La secreción de la testosterona es la responsable de las características masculinas tales como desarrollo muscular y crecimiento del cabello.

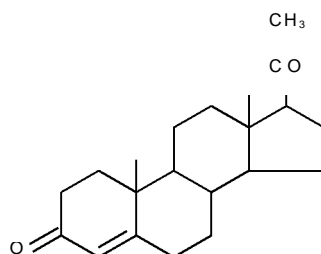


Figura 155. Progesterona

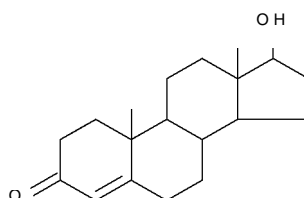


Figura 155. Testosterona

Fitoesteroles (alcoholes esteroidales) también triterpenoides se encuentran presentes en las plantas superiores: (i-sitosterol, estigmasterol y campesterol, libres o formando glicósidos y en particular el primero es un componente esencial en las membranas de las células vegetales. Las membranas vegetales aunque poseen colesterol, son mucho más ricas en (i-sitosterol, campesterol y estigmasterol, variando la proporción de estos compuestos con el tipo de membrana y la función biológica que realizan. Se cree actualmente, que los fitoesteroles desempeñan en las membranas vegetales las mismas funciones que el colesterol en los animales.

Dentro de los isoprenoides, también se encuentran las vitaminas A, D, E, y K que se reconocieron en primer lugar como materiales grasos esenciales para el crecimiento normal de los animales, y numerosos pigmentos biológicos. Otros lípidos —activos— son cofactores esenciales de enzimas, transportadores electrónicos o señales intracelulares.

Cuadro 14. Algunas especies vegetales que contienen lípidos y sus aplicaciones

| Especie | Componente | Aplicaciones |
|---|----------------------------------|---|
| Aceite de ricino | | Laxante mecánico |
| Obtenido de semillas de <i>Ricinus communis</i> | Glicéridos: ricinoleína | Laxantes |
| Aceite de onagra | Glicéridos con ácidos γ - | Problemas dérmicos, síndromes premenstruales, |

| | | |
|---|--|---------------------------------------|
| Obtenidos de semillas de <i>Oenothera biennis</i> | linolénico | prevención de infarto |
| Lanolina | Colesterol, isocolesterol, ésteridos, alcoholes alifáticos de peso molecular elevado | Emulgente, base emoliente |
| Cera obtenida del agua de lavado de la lana de oveja (<i>Ovis aries</i>) | | |
| Extractos lipídicos antiprostáticos | | Tratamiento de adenoma de próstata |
| <i>Pygeum africanum</i> , | Varios componentes | |
| <i>Serenoa serrulata</i> | | Antiprostáticos |
| Aceite de linaza | | Uso en pinturas |
| Obtenido de las semillas de <i>Linum usitatissimum</i> | Ácido linolénico, ácido linoleico, ácido oleico | Estudios detallados del lino. |

Bibliografía

- ALBERTS, B.; BRAY, D.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WATSON, J. D. 1994. *Biología Molecular de la Célula*. 2ª Ed. Editorial Omega. España.
- ANDERSON, J. W.; BEARDALL, J. 1991. *Molecular Activities of Plant Cells. An Introduction to Plant Biochemistry*. Blackwell Scientific Publications. U.K.
- AZCON-BIETO, J.; TALON, M. 1993. *Fisiología y Bioquímica Vegetal*. Interamericana, Mc.Graw Hill. España.
- BOHINSKI, R.C. 1973. *Bioquímica Fondo Educativo Interamericano*
- BRAVERMAN, J. B. S. 1967. *Introducción a la Bioquímica de los Alimentos* Ed. Omega, S.A. España.
- BUCHANAN, B. B.; GRUISSMEN, W.; JONES, R. L. 2000. *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiology. USA.
- CONN, E. E. 1981. *The Biochemistry of Plants. A Comprehensive Treatise. Secondary Plant Products*. Vol. 7. Academic Press. USA
- DARNELL, J.; LODISH, H.; BALTIMORE, D. 1993. *Biología Celular y Molecular*. 2ª. Ed. Editorial Omega. España.
- DENNIS, D. T.; TURPIN, D. H.; LEFEBVRE, D. D.; LAYZELL, D. B. 1997. *Plant Metabolism*. Longman Singapore Publishers. Singapore.

- DEY, P. M.; HARBORNE, J. B. 1997. Plant Biochemistry. Academic Press. U.K.
- GOODWIN, T. W.; MERCER, E. I. 1990. Introduction to Plant Biochemistry. 2nd Ed Pergamon Press. U.K.
- HERRERA, E. 1986. Bioquímica. Nueva Editorial Interamericana. México.
- HORTON, H.R.; LAURENCE MORAN, A. L. 1993. Bioquímica. Editorial Prentice Hall Hispanoamericana. México.
- HULME, A. C. 1979. The biochemistry of fruits and their products. Vol. I. Academic Press. London.
- KOOLMAN, J.; RÓHM, K. H. 1996. Color Atlas of Biochemistry. Thieme Stuttgart. N. Y.
- KUKLINSKI, C. 2000. Farmacognosia. Editorial Omega. España.
- LEA, J. P.; LEEGOOD, R. C. 1993. Plant Biochemistry and Molecular Biology. John Wiley and Sons. U.K.
- LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. 1995. Principios de Bioquímica. 2^a Ed. Editorial Omega. España.
- MATHEWS, C. K.; VAN HOLDE, K. E. 1996. Biochemistry. 2nd Ed. Benjamin Cummings Publishing. USA.
- RAVEN, P. H.; JOHNSON, G. B. 1996. Biology. 4a. Ed. WCB. Brown Publishers. USA.
- ROBINSON, D. S. 1991. Bioquímica y Valor nutritivo de los alimentos. Ed. Acribia. España.
- STRYER, L. 1995. Bioquímica. Vol. II. 4^a Ed. Editorial Reverté, S: A. España.
- WOLFE, D.H. 1990. Química General y Biológica. McGraw Hill. México

SINTESIS DE PROTEINAS, LA EXPRESIÓN GENÉTICA Y LOS ÁCIDOS NUCLEICOS

INTRODUCCIÓN

Según Favelukes (1980), en Sívori et al (1980), las características metabólicas y fisiológicas de un organismo son una manifestación de su constitución genética y resultan del ordenado proceso de la expresión del genoma, dirigida y controlada por él y regulada por las interacciones con el medio y con las

distintas partes del organismo. Las bases materiales de esa manifestación son las proteínas específicas, producidas en momentos apropiados y en cantidades controladas. Son ellas las que catalizan las reacciones enzimáticas, sintetizan y transforman otros componentes celulares y, asociadas con éstos, construyen las estructuras y la maquinaria celular que lleva a cabo las distintas actividades biológicas.

El genoma o conjunto de elementos genéticos, tiene su soporte material en el *ácido desoxirribonucleico* (ADN), que en su secuencia lineal de bases contiene codificada la información genética. Dos son sus funciones fundamentales:

- II- Su replicación fiel para ser transmitido a la prole;
- III- Su expresión genética (expresión fenotípica), a través de dos sucesivas etapas principales:
 - a) Los procesos de *transcripción* del mensaje genético, que copian el ADN en moléculas de *ácido ribonucleico* (ARN) con secuencias semejantes
 - b) La traducción del ARN en las secuencias pépticas de proteínas específicas en cuya síntesis los aminoácidos son seleccionados mediante el *código genético*.

Estas relaciones expresan el —dogma central' de la biología molecular en que la información genética fluye de los ácidos nucleicos hacia las proteínas y nunca a la inversa.

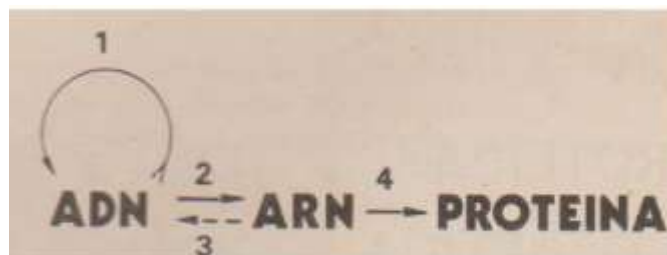


Figura 156. Flujos de la información genética en los seres vivos según el —dogma central'.

De la biología molecular. Los caminos indicados son unidireccionales e irreversibles. Referencias: 1- vía de replicación de ADN; 2- Transcripción (investidura de información de ADN en moléculas de ARN); 3- Transcripción inversa (Transferencia de información del ARN al ADN); 4- Traducción (codificación de cadenas peptídicas por el ARN).

El concepto de la expresión fenotípica está mediada por las proteínas se origina en los estudios hechos por Garrot, a principios de siglo, sobre una serie de enfermedades humanas hereditarias: en ellas, el defecto genético se manifiesta en la falta de una particular reacción metabólica, cuya enzima podría así expresar (negativamente) dicho error.

Scott-Moncrieff realizó en plant obseraciones similares relacionadas con la producción de diferentes pigmentos flavonoides: la capacidad de formar un cierto derivado de la estructura fundamental, mediante una precisa transformación enzimática, está controlada genéticamente. Posteriores investigacines de Beadle y Tatum en el hongo del pan *Neurospora crassa*, en 1941, estblecieron el concepto de que cada enzima está determinada genéticamente; la expresión "*un gene – una enzima*" surgió de sus trabajos. Otras evidencias sobre el control genético de las proteínas fueron encontradas por Pauling e Itano, al demostrar que en una enfermedad humana hereditaria, la anemia falciforme, tiene lugar la producción de una hemglobina con una estructura molecular alterada; por otro lado Ingram mostró que ese defecto consistía en el reemplazo de un solo aminoácido por otro, en un sitio preciso de la secuencia peptídica de la hemoglobina, atribuido a una mutación en el gene correspondiente.

El concepto de gene como el elemento genético que especifica la estructura de una proteína, es decir, el "gene estructural" (un gene un polipeptido) debió ser complementado agregando una nueva categoría: los genes "reguladores", que controlan en qué momento y cantidad se realiza la síntesis de esa proteína. Este importante concepto surgió de los trabajos de Monod, Jacob y Pardee, que estudiaron en la bacteria *Escherichia coli* los mecanismos genéticos que determinan que ciertas enzimas sean producidas solamente cuando no lo requiere el estado metabólico de la bacteria.

Más recientemente han cobrado gran importancia los estudios sobre el ordenamiento espacial y temporal de la expresión genética, es decir, los procesos de desarrollo y diferenciación celular, y su regulación, en los organismos pluricelulares. Un aspecto sliente de esto último es la regulación hormonal.

En esta sección se hará una somera presentación de la estructura y propiedades del ADN y del ARN, y luego se abordarán los procesos de biosíntesis de los ácidos nucleicos, y de las proteínas y se señalará la decisiva participación que los primeros tienen en la síntesis proteica que se realiza a través del código genético. Por último se tratarán los aspectos regulatorios de estos procesos integrados en el metabolismo celular y a lo largo del ciclo vital del organismo.

ACIDOS NUCLEICOS

Los ácidos nucleicos son sustancias macromoleculares de naturaleza compleja, que en su composición elemental poseen C, H, O, N y P. Están distribuidos universalmente en todos los seres vivos y se localizan no solo en el núcleo celular, sinó también en el citoplasma y en orgánulos y corpúsculos intracelulares. Asimismo son constituyentes de los virus.

En la arquitectura del ácido nucleico se enuentran tres tipos de componentes: bases nitrogenadas derivadas de la purina y la pirimidina, una sola especie de azúcar de cinco carbonos (ya sea desoxirribosa o ribosa) y fosfato. Una base se une al C-1' de la pentosa formando un *nucleósido* (ya se vio que los derivados de éstos, ATP, GTP, UTP y CTP, actúan como coenzimas en

muchos procesos metabólicos). La combinación de nucleósido con un grupo fosfato, en su hidroxilo 5' ó 3', forma un éster fosfórico llamado *nucleótido*. Los nucleótidos son las unidades estructurales que, al eslabonarse unas con otras mediante puentes de diéster fosfórico 3'-P-5', constituyen las largas cadenas lineales polinucleótídicas de los ácidos nucleicos.

Los ácidos nucleicos se agrupan en dos grandes clases:

- 1) **Los ácidos desoxirribonucleicos (ADN)**, caracterizados por poseer desoxirribosa (carece de $-OH$ en el C 2') y las bases adenina (A), guanina (G), citosina (C), y timina (T).
- 2) **Los ácidos ribonucleicos (ARN)**, que se distinguen por tener ribosa (con un $-OH$ en el C 2'), y las bases adenina (A), guanina (G), citosina (C) y uracilo (U).

Ya sea ADN (cuando el grupo X en el C 2' de la pentosa es H, es decir desoxirribosa) ó ARN (en que X es OH, correspondiente a una ribosa). La columna vertebral, formada por restos alternados de pentosa y de fosfato, tiene articulados lateralmente los restos de distintas bases nitrogenadas, en una cierta secuencia. Las relaciones de estos componentes se ven claramente en las notaciones abreviadas (fig. 48 B y C) en que, alrededor de cada pentosa, las uniones de éster fosfórico en los carbonos 5' y 3' (no equivalentes entre sí) están representadas a la izquierda y a la derecha del nucleósido. Como resultado de esta regularidad de orientación, la cadena tiene polaridad (es decir que ambos sentidos de —lecturall de la cadena no son equivalentes).

En la estructura anterior, todas las uniones entre átomos son *uniones covalentes*, es decir uniones energética y químicamente muy estables. Los ácidos nucleicos son, además, capaces de unirse a otras moléculas por medio de enlaces de carácter más débil, como las *uniones iónicas* y las *uniones hidrógeno*.

En el medio acuoso celular, los grupos diéster fosfato están ionizados y llevan una carga eléctrica negativa; estas cargas repetidas dan al ácido nucleico un carácter de polianión y posibilitan la formación de uniones iónicas con cationes como el Mg^{++} , y proteínas básicas como las histonas. Por otra parte, algunos átomos de oxígeno y de nitrógeno en las bases pueden formar uniones o puentes de hidrógeno con otros grupos; se trata de ligaduras débiles, en que un átomo de hidrógeno queda vinculado a otros dos átomos, ya sea de oxígeno o de nitrógeno, o en asociación mixta:

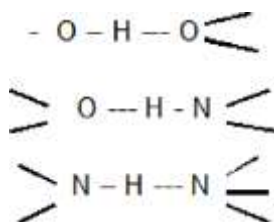


Figura 157. Diferentes tipos de ligadura en ácidos nucleicos.

La formación de uniones hidrógeno permite que las distintas bases se asocien de a pares. Cuando las posiciones, distancias y orientación relativa son favorables, tienen lugar *pareamientos* selectivos en que se forma más de una unión hidrógeno, lo que aumenta la estabilidad del vínculo. Especialmente importantes son los apareamientos *adenina-timina* (A-T) o de *adenina-uracilo* (A-U) con dos uniones hidrógeno, y *guanina-citocina* (G-C) con tres uniones hidrógeno. A las bases en cada uno de estos pares se las denomina *bases complementarias*. Otros apareamientos son menos probables y efectivos. El apareamiento específico de las bases complementarias permite que dos cadenas de ácidos nucleicos (o regiones separadas de una misma cadena) se unan entre sí por ligaduras débiles, a las que su multiplicidad refuerza en un efecto cooperativo y les confiere una estabilidad adicional. Esto da lugar a la existencia de la llamada *estructura secundaria* de los ácidos nucleicos.

CAPACIDAD FUNCIONAL DE LOS POLINUCLEÓTIDOS

ADN

En todos los organismos el contenido del ADN de todas sus células es idéntico. Esto quiere decir que contienen toda la información necesaria para la síntesis de todas las proteínas. Pero no todos los genes se expresan al mismo tiempo ni en todas las células.

Exceptuando a los genes constitutivos (genes que se expresan en todas las células del organismo y codifican proteínas que son esenciales para su funcionamiento general) todos los demás genes se expresan o no dependiendo de la función de la célula en un tejido particular. Por ejemplo, genes que codifican proteínas responsables del transporte axonal se expresan en neuronas pero no en linfocitos en donde se expresan genes responsables de la respuesta inmune. También existe especificidad temporal, esto quiere decir que los diferentes genes en una célula se encienden o se apagan en diferentes momentos de la vida de un organismo.

ADN y ARN

Los ácidos nucleicos están formados por secuencias de nucleótidos. En el ADN estos nucleótidos forman dos cadenas cada una de las cuales está dispuesta en espiral, enroscada una sobre otra formando una doble hélice.

Esta conformación se consigue gracias a una disposición concreta de las moléculas que forman cada nucleótido del ADN.

La unión entre las dos cadenas de nucleótidos que forman el ADN se lleva a cabo a través de puentes de hidrógeno que se establecen entre una base púrica de una cadena y una base pirimidínica de la otra, de forma que la adenina se aparea, ACL mediante dos puentes de hidrógeno, únicamente con la timina, mientras que la citosina, a través de tres puentes de hidrógeno, sólo lo hace con la guanina.

A esta relación restrictiva entre las bases se le denomina complementariedad y hace que las dos cadenas de nucleótidos del ADN sean complementarias entre

sí. Dado que una base púrica se aparea siempre con la misma base pirimidínica (A-T y C-G), la cantidad de bases púricas será siempre igual a la de pirimidínicas.

Por ejemplo, si en una molécula de ADN la timina representa el 17% de todas las bases nitrogenadas de ese ADN, dado que esta base únicamente se aparea con la adenina, la cantidad de ésta también representará el 17% de las bases nitrogenadas de la molécula de ADN. El porcentaje restante, 66%, estará repartido a partes iguales entre la citosina y la guanina, un 33% para cada una.

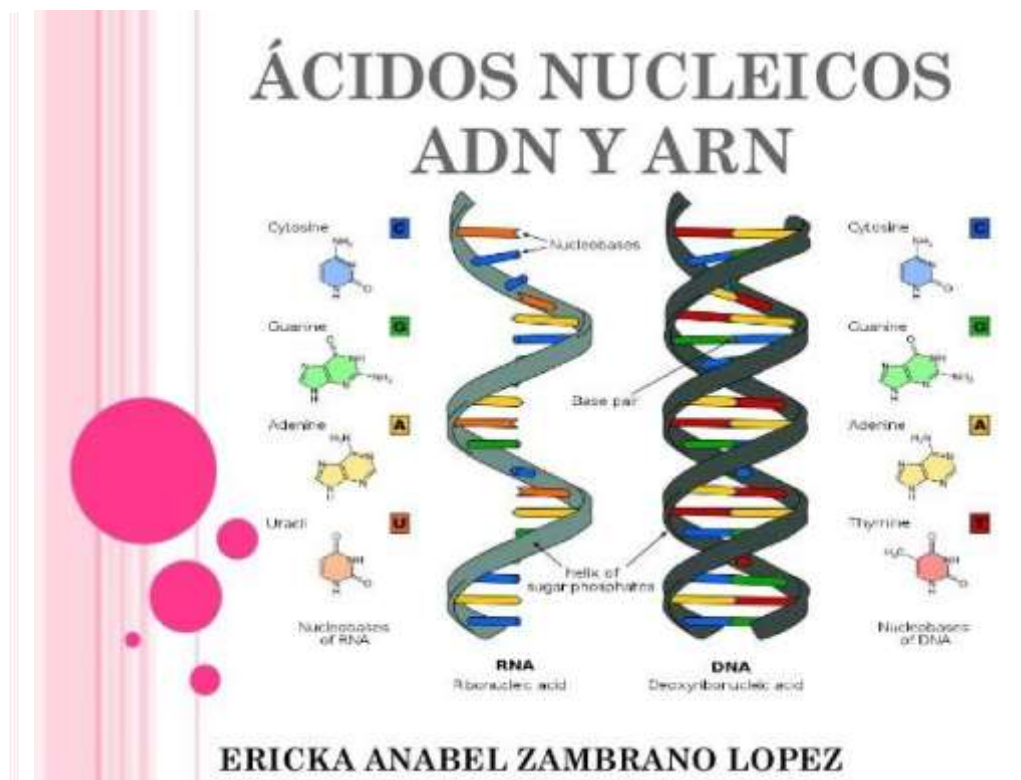


Figura 158. Detalle de las bases nitrogenadas de Ácidos nucleicos ADN y ARN
NIVELES DE ORGANIZACIÓN DEL ADN

Las moléculas de ADN son las mayores macromoléculas que portan los seres vivos. El ADN humano consta de 3×10^9 pares de bases (pb) por célula, distribuido en 23 cromosomas. Cada cromosoma está constituido por una sola molécula de ADN unido a proteínas. Éstas son de varios tipos; las principales pertenecen a la familia de las histonas, que son pequeñas proteínas de carácter básico cuya misión es permitir que el ADN se empaquete de una forma ordenada en unidades estructurales denominadas

NUCLEOSOMAS

La condensación del ADN a lo largo del ciclo celular varía desde el estado de cromatina al de cromosoma metafásico.

Sin embargo la cromatina tampoco presenta un estado homogéneo de compactación y se distinguen, a este respecto, dos tipos de cromatina, la eucromatina, que presenta un empaquetamiento menor, y la heterocromatina, que es la porción de cromatina más condensada.

Los diferentes niveles de organización de la cromatina están relacionados con el grado de expresión génica.

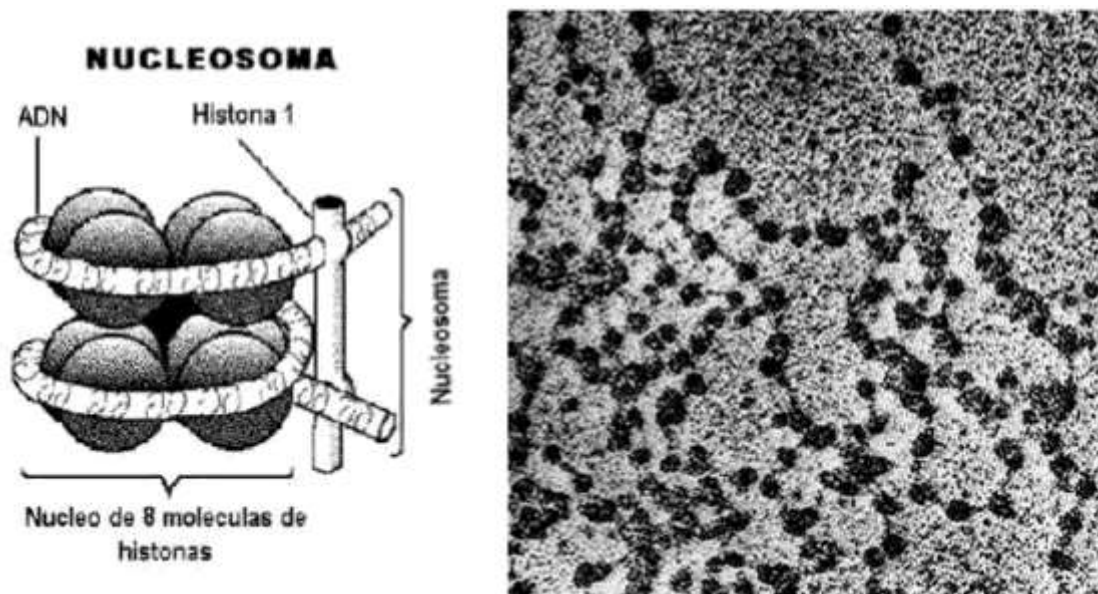


Figura 159. Detalles de un nucleosoma

DUPLICACIÓN DEL ADN.

Las características fundamentales del proceso de replicación del ADN y los mecanismos mediante los cuales las enzimas encargadas lo llevan a cabo son prácticamente similares en todos los organismos. La replicación del ADN es semiconservativa, es decir, que a partir de una molécula de ADN se obtienen dos, cada una de las cuales porta una hebra del ADN que se ha duplicado. Este proceso comienza con la separación parcial de las dos hebras que componen la molécula de ADN mediante la rotura de los puentes de hidrógeno que las une, formándose un lazo. En este punto de apertura se inicia la replicación simultánea de las dos hebras. El proceso es bidireccional, pues avanza hacia los dos extremos del lazo, los cuales, por su forma, reciben el nombre de horquillas de replicación.

La replicación del ADN requiere la participación de más de veinte enzimas diferentes, cada una especializada en una tarea concreta. La elongación de la nueva hebra es catalizada por un enzima perteneciente al grupo de las ADN polimerasas. Para ello, esta enzima utiliza de molde una de las hebras del ADN original y va construyendo la hebra nueva incorporando los nucleótidos según la regla de la complementariedad de bases. Si en la hebra antigua, la que sirve de molde, hay un nucleótido de adenina incorpora un nucleótido de timina en la nueva, si lo es de citosina añadirá uno de guanina y así sucesivamente. Tras el proceso, las dos moléculas de ADN se separan. Ambas llevan una hebra

antigua y otra nueva, pero ambas son idénticas; la información puede ser transmitida fielmente a otra generación. En procariotas el proceso de replicación del ADN se inicia en un solo punto y desde él avanza bidireccionalmente hasta completar el proceso. En eucariotas, sin embargo, tiene habitualmente múltiples orígenes de replicación, lo cual permite disminuir notablemente el tiempo requerido para su replicación. ACL.

<http://www.euita.upv.es/variados/biologia/Temas/tema11.htm#El%20problema%20de%20la%20fotorrespiración>. Roberto Navais Barranco.

LAS PROTEÍNAS

En la actualidad y cada vez más, un alto porcentaje de la población se interesa en formar un cuerpo atlético, que le permita tener una mejor imagen o tal vez desarrollarse a nivel profesional en alguna disciplina deportiva. Para lograrlo se tiene que seguir una ruta, en la que los aminoácidos tienen una participación muy importante.

Los aminoácidos son los elementos constitutivos de las proteínas y contienen aproximadamente el 16% de nitrógeno, que es lo que los distingue de otros nutrientes básicos. Para entender lo esenciales que son los aminoácidos, hay que comprender la importancia de las proteínas para la vida. Estas sustancias desempeñan funciones biológicas en el organismo humano, entre las cuales se encuentra, principalmente, la regeneración y la formación de tejidos, la síntesis de enzimas, anticuerpos y hormonas.

Las proteínas son un componente necesario de todas las células vivas del organismo y constituyen la porción más grande del peso corporal. En nuestro cuerpo, las sustancias proteínicas forman músculos, ligamentos, tendones y órganos, además de que son esenciales para el crecimiento de los huesos.

Las proteínas son cadenas de aminoácidos formados por enlaces péptidos. Cada clase de proteína se compone de un grupo específico de aminoácidos con una disposición química especial. Los aminoácidos particulares y la secuencia en que están organizados es lo que confiere a los diversos tejidos sus características y funciones individuales.

Las proteínas que componen el ser humano no se asimilan directamente de la dieta, ya que sufren un proceso químico que los descompone en sus aminoácidos constitutivos, y que el organismo utiliza luego para elaborar las proteínas específicas que necesita.

Los aminoácidos además de combinarse para formar las proteínas que el organismo requiere actúan como neurotransmisores, esto quiere decir que llevan información de una célula a otra, por lo que, determinados aminoácidos son necesarios para permitir que otros nutrientes como las vitaminas y los minerales puedan desempeñar adecuadamente su función.

Los aminoácidos están clasificados en Esenciales y no Esenciales y esto depende del procedimiento mediante el cual nuestro cuerpo los obtiene, esta clasificación es reconocida internacionalmente y nos ayuda a determinar nuestra dieta diaria de una manera óptima.

Los aminoácidos esenciales son nueve, y el hombre los debe obtener de la dieta ya que no los puede producir su propio organismo, estos son: histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano y valina.

Los aminoácidos no esenciales son aquellos que pueden ser elaborados por el organismo a partir de otros aminoácidos y otros nutrientes que se obtienen de la dieta diaria, entre ellos se encuentran la alanina, arginina, asparagina, ácido aspartico, cisteina, cístina, ácido glutámico, glutamina, glicina, ornitina, prolina, serina, taurina, y tirosina.

Tanto los aminoácidos esenciales como no esenciales se pueden tomar de suplementos alimenticios, sobre todo de los de origen animal, que contienen toda la gama de estos nutrientes.

Los aminoácidos se denominan con la letra L que significa LEVO y que químicamente nos indica que se trata de una estructura molecular con una inclinación especial, son estas moléculas las que muestran mayor biodisponibilidad y por lo tanto son más compatibles con la bioquímica del organismo humano.

Dentro de toda la gama de aminoácidos existen 3 que revisten especial importancia en el área deportiva, estos son la isoleucina, leucina y valina, llamados aminoácidos de cadena ramificada (BCAA por sus siglas en inglés).

Cuando se estimula al músculo en el entrenamiento con peso, se genera un rompimiento de las fibras musculares y durante la reparación del tejido actúan todos los aminoácidos de la dieta, pero la importancia de los (BCAA), por la estructura química que presentan, radica en que propician una reparación más resistente, más fuerte y le dan tonicidad al músculo. Estos aminoácidos se pueden utilizar para suministrarle energía directamente al tejido muscular y su consumo se puede llevar a cabo mediante el uso de un suplemento alimenticio tal como el Whey Protein o Proteína de Suero de Leche.

La L- isoleucina, uno de los 3 aminoácidos de cadena ramificada, se metaboliza en el tejido muscular y tiene una gran importancia para los atletas porque intensifica la energía y la resistencia en el ejercicio, además de que ayuda a curar y reparar el tejido muscular después de un intenso entrenamiento. La leucina, que también es un aminoácido esencial en la nutrición humana, actúa de manera conjunta para proteger los músculos y servir de combustible en casos de entrenamiento pesado. La leucina también ayuda a aumentar la producción de la hormona de crecimiento. El tercer aminoácido de cadena ramificada es la Valina, necesaria en el metabolismo muscular, la reparación de tejidos y el correcto equilibrio de nitrógeno en el organismo. Los aminoácidos de cadena ramificada son utilizados por nuestro cuerpo para producir L-Glutamina, una de las sustancias más apreciadas por los fisicoculturistas.

El ácido aspártico aumenta la energía, es útil para combatir la fatiga y beneficia a los atletas ya que protege al hígado contribuyendo a eliminar el exceso de amoniaco.

El ácido glutámico es un neurotransmisor, el cuerpo lo utiliza como precursor de otros aminoácidos como la L-Glutamina, proceso durante el cual el organismo elimina amoniaco del cerebro. Es precursor, también, de otro aminoácido denominado GABA (Ácido Gama Amino Butírico), muy importante en el tratamiento de enfermedades de tipo nervioso. El ácido glutámico es importante en el metabolismo de las grasas y azúcares.

La L- alanina ayuda al metabolismo de la glucosa, un carbohidrato simple que el organismo utiliza como fuente de energía.

La L- arginina retarda el crecimiento de los tumores y el desarrollo de cáncer porque intensifica el funcionamiento del sistema inmunológico. También es útil para las afecciones del hígado, como cirrosis hepática e hígado graso y contribuye a desintoxicar el hígado neutralizando el amoniaco. La arginina desempeña un papel importante en el metabolismo muscular ya que favorece la pérdida de peso, promueve el aumento de la masa muscular y la reducción de grasa corporal, favorece el mantenimiento de un balance positivo de nitrógeno en el organismo. Ayuda a reparar y curar los tejidos, es un componente del colágeno por lo que resulta esencial en la construcción de tendones y tejido conectivo. La Arginina estimula al páncreas para que libere insulina y también a la producción de Hormona de Crecimiento. No se recomienda su consumo a personas con enfermedades virales ya que favorece el desarrollo de las mismas, sobre todo, en el caso de Herpes. La L- asparagina es necesaria para conservar el equilibrio del sistema nerviosos central y ayuda a regular el estado de ánimo. Funciona como catalizador en la producción de otros aminoácidos.

La L- lisina es indispensable para el crecimiento normal y el desarrollo de los huesos en niños; ayuda a la absorción de calcio y mantiene un adecuado balance de nitrógeno en los adultos. Este aminoácido ayuda a producir anticuerpos, hormonas y enzimas, además contribuye a la formación de colágeno y a la reparación de los tejidos. Ayuda a construir proteína muscular, y a reducir los niveles de triglicéridos. Este aminoácido se encuentra en proporciones bajísimas en los productos de origen vegetal por lo tanto es recomendable que las personas vegetarianas lo adicionen a su dieta normal. Es muy útil para combatir el Herpes simple (fuegos labiales). La Lisina también es esencial en la dieta diaria debido a que con ella y con la Metionina, entre otras sustancias, el cuerpo produce L-Carnitina.

La L- metionina ayuda a descomponer grasas y evita que se acumulen en el hígado y en las arterias. Este aminoácido ayuda al sistema digestivo, desintoxica al organismo de agentes nocivos como plomo y otros metales pesados, disminuye la debilidad muscular, evita la fragilidad del cabello y protege contra la radiación. Es una buena fuente de azufre, que suprime la actividad de los radicales libres. Solo en su presencia el organismo puede producir Cisteína, Taurina y Colina así como Glutatión, un agente antioxidante muy poderoso. La Metionina es utilizada, dentro

del cuerpo, para producir L- Carnitina, una sustancia muy apreciada por el organismo debido a que cumple funciones vitales para un buen desempeño físico.

La L- ornitina es necesaria para el adecuado funcionamiento del hígado y del sistema inmunológico. Este aminoácido también desintoxica el organismo de amoníaco y apoya al sistema hepático, propicia la liberación de Hormona de Crecimiento y estimula el metabolismo del exceso de grasa corporal. El cuerpo obtiene este aminoácido a través de la Arginina. Se recomienda su uso a personas con antecedentes de Esquizofrenia.

La L- prolina mejora la textura de la piel porque ay colágeno y a reducir su pérdida como resultado del proceso de envejecimiento. También ayuda a reparar los cartílagos y a fortalecer las articulaciones, los tendones y el músculo cardiaco.

La L- serina contribuye a la producción de globulinas y anticuerpos. Por sus propiedades humectantes naturales, muchos cosméticos contienen serina.

La L- taurina puede ser utilizada por personas que sufren aterosclerosis, edema, problemas del corazón, hipertensión arterial o hipoglucemia. Es esencial para la adecuada utilización del sodio, el potasio, el calcio, el magnesio y se ha demostrado que es importante para el buen funcionamiento del músculo cardiaco. Se encuentra en grandes cantidades en el sistema nervioso central. Puede ser sintetizada por el hígado y otros órganos a partir de la metionina y la cisteína.

La L-tirosina eleva el estado de ánimo, suprime el apetito y ayuda a reducir la grasa corporal, además contribuye a la producción de melanina (el pigmento responsable del color de la piel y el cabello). También reduce el estrés, y es útil para combatir la fatiga crónica. Se combina con moléculas de Yodo para formar hormonas tiroideas activas.

La L-treonina ayuda a mantener un adecuado equilibrio proteínico del organismo. Es importante para la formación de colágeno y elastina. Ayuda a prevenir la acumulación de grasa en el hígado.

Con el L-triptofano nuestro cuerpo produce Serotonina, un neurotransmisor responsable del sueño normal por lo que ayuda a estabilizar el estado de ánimo y combatir la depresión y el insomnio. También es útil para controlar la hiperactividad infantil, reducir la estrés y fortalecer el corazón. Sirve para controlar el peso porque reduce el apetito, e incrementa la liberación de la hormona de crecimiento. Usándolo como materia prima, el organismo produce Niacina (Vitamina B3). No se recomienda consumir este aminoácido en su estado libre, ya que no existen estudios suficientes sobre los efectos colaterales que pudieran presentarse.

La L-cisteina y la L- cistina está estrechamente relacionados, cada molécula de cistina se compone de dos moléculas de cisteína unidas. Estos dos aminoácidos contienen azufre y ayudan a la formación de la piel, además de que son importantes en los procesos de desintoxicación.

La cisteína contribuye a la producción de colágeno, favorece la elasticidad y la textura de la piel, ayuda a desintoxicar el organismo de toxinas nocivas y lo protege del daño producido por la radiación. También ayuda a proteger el hígado y el cerebro del daño causado por el alcohol y las drogas. La cistina ayuda a prevenir los efectos secundarios de la quimioterapia y la radioterapia. Gracias a que eleva los niveles de glutatión, en los pulmones, los riñones, el hígado, y la médula ósea, este aminoácido retarda el envejecimiento del organismo. El Glutatión es un poderoso antioxidante.

L- Dimetilglicina es un derivado de la glicina, el más sencillo de los aminoácidos, y ayuda al organismo a conservar un nivel alto de energía e intensificar la agudeza mental, además de que fortalece el sistema inmunológico y reduce los niveles altos de colesterol y triglicéridos sanguíneos. ayuda a producir colágeno y a reducir su pérdida como resultado del proceso de envejecimiento. También ayuda a reparar los cartílagos y a fortalecer las articulaciones, los tendones y el músculo cardíaco.

La L- serina contribuye a la producción de globulinas y anticuerpos. Por sus propiedades humectantes naturales, muchos cosméticos contienen serina.

La L- taurina puede ser utilizada por personas que sufren aterosclerosis, edema, problemas del corazón, hipertensión arterial o hipoglucemia. Es esencial para la adecuada utilización del sodio, el potasio, el calcio, el magnesio y se ha demostrado que es importante para el buen funcionamiento del músculo cardíaco. Se encuentra en grandes cantidades en el sistema nervioso central. Puede ser sintetizada por el hígado y otros órganos a partir de la metionina y la cisteína.

La L-tirosina eleva el estado de ánimo, suprime el apetito y ayuda a reducir la grasa corporal, además contribuye a la producción de melanina (el pigmento responsable del color de la piel y el cabello). También reduce el estrés, y es útil para combatir la fatiga crónica. Se combina con moléculas de Yodo para formar hormonas tiroideas activas.

La L-treonina ayuda a mantener un adecuado equilibrio proteínico del organismo. Es importante para la formación de colágeno y elastina. Ayuda a prevenir la acumulación de grasa en el hígado.

Con el L-triptofano nuestro cuerpo produce Serotonina, un neurotransmisor responsable del sueño normal por lo que ayuda a estabilizar el estado de ánimo y combatir la depresión y el insomnio. También es útil para controlar la hiperactividad infantil, reducir el estrés y fortalecer el corazón. Sirve para controlar el peso porque reduce el apetito, e incrementa la liberación de la hormona de crecimiento. Usándolo como materia prima, el organismo produce Niacina (Vitamina B3). No se recomienda consumir este aminoácido en su estado libre, ya que no existen estudios suficientes sobre los efectos colaterales que pudieran presentarse.

La L-cisteína y la l- cistina están estrechamente relacionados, cada molécula de cistina se compone de dos moléculas de cisteína unidas. Estos dos aminoácidos contienen azufre y ayudan a la formación de la piel, además de

que son importantes en los procesos de desintoxicación. La cisteína contribuye a la producción de colágeno, favorece la elasticidad y la textura de la piel, ayuda a desintoxicar el organismo de toxinas nocivas y lo protege del daño producido por la radiación. También ayuda a proteger el hígado y el cerebro del daño causado por el alcohol y las drogas. La cistina ayuda a prevenir los efectos secundarios de la quimioterapia y la radioterapia. Gracias a que eleva los niveles de glutatión, en los pulmones, los riñones, el hígado, y la médula ósea, este aminoácido retarda el envejecimiento del organismo. El Glutatión es un poderoso antioxidante.

L- Dimetilglicina es un derivado de la glicina, el más sencillo de los aminoácidos, y ayuda al organismo a conservar un nivel alto de energía e intensificar la agudeza mental, además de que fortalece el sistema inmunológico y reduce los niveles altos de colesterol y triglicéridos sanguíneos. La L-fenilalanina eleva el estado de ánimo, reduce el dolor, mejora la memoria y el aprendizaje y suprime el apetito. Sirve para tratar la artritis, la depresión, los cólicos menstruales, la migraña, la obesidad, la enfermedad de Parkinson y la esquizofrenia. No se recomienda su consumo a personas embarazadas, con presión arterial alta o que presenten alergia a este aminoácido.

La L-glicina retarda la degeneración del tejido muscular apoyando en la producción endógena de Creatina. Es indispensable para la síntesis de otros aminoácidos no esenciales y ayuda a reparar los tejidos dañados. Genera energía en el consumidor, sin embargo, no es recomendable consumirla en grandes cantidades debido a que puede provocar fatiga, el efecto adverso a lo esperado. Es muy útil para el funcionamiento del sistema nervioso central y para la salud de la próstata.

La L-glutamina es el aminoácido libre más abundante en los músculos del cuerpo. Es sintetizado internamente partiendo de otros aminoácidos, sin embargo, la producción natural del cuerpo no es suficiente cuando se le somete a rutinas de ejercicio con fines de desarrollo muscular. Algunas de sus principales características son la construcción de fibra muscular y el destacado efecto anabólico así como el mantener un balance positivo de nitrógeno en el cuerpo. Los deportistas lo deben tomar después de terminar su entrenamiento ya que evita el catabolismo muscular. Este aminoácido se encuentra, sobre todo, en los productos de origen animal, siendo el más BIODISPONIBLE el Whey Protein o Suero de Leche ya sea concentrado o en su forma AISLADA.

La histidina es importante para que el recubrimiento de mielina que protege las células nerviosas se conserve en buen estado, se requiere para la producción de glóbulos rojos y blancos de la sangre. La histidina también protege al organismo del daño ocasionado por la radiación, contribuye a eliminar los metales tóxicos del organismo. Este aminoácido es el responsable, junto con las vitaminas B3 (niacina) y B6 (piridoxina) de la síntesis de Histamina, que mejora la actividad sexual y el placer.

EXPRESIÓN GENÉTICA DE LOS ÁCIDOS NUCLEICOS

Las propiedades que debe cumplir el material encargado de portar la herencia biológica son principalmente tres: guardar información, permitir copiar fielmente

dicha información y posibilitar cierta capacidad de cambio, de alteración de la misma.

En 1944, Oswald Avery, C. MacLeod y M. McCarty proporcionaron la prueba de que ese factor transformante era el ácido desoxirribonucleico, es decir, que el material genético de la célula era el ADN.

Los ácidos nucleicos son grandes moléculas formadas por nucleótidos que realizan funciones esenciales en el metabolismo celular y los ácidos nucleicos aseguran la transmisión de la información genética de unas células a otras.

Los nucleótidos son las unidades que componen los ácidos nucleicos pero, a su vez, el nucleótido es una molécula compleja formada por la unión de moléculas diferentes: una base nitrogenada, un azúcar y uno o varios grupos fosfato.

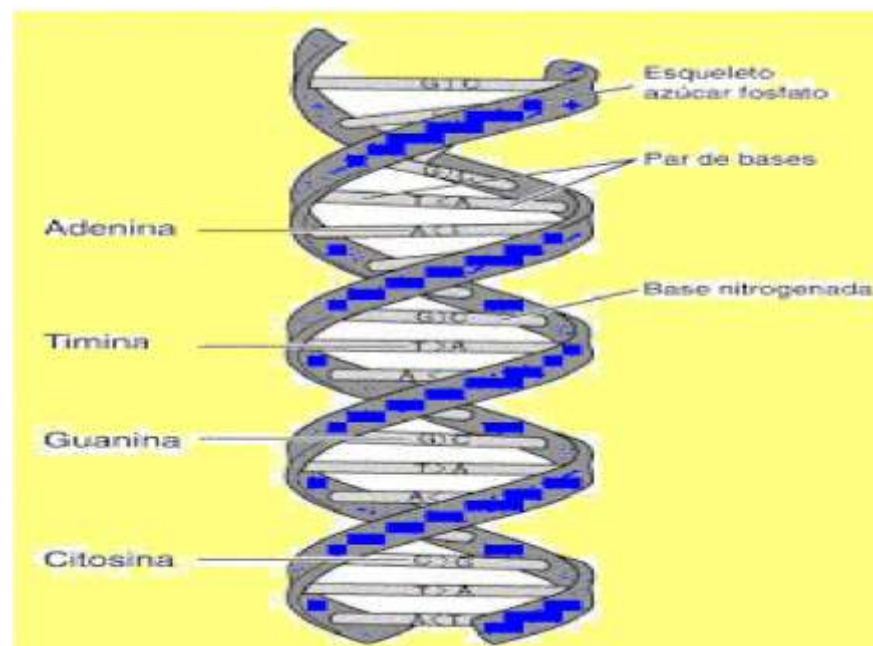


Figura 160. Par de cadenas de ADN

Los distintos nucleótidos difieren entre sí en el tipo de azúcar y en las bases nitrogenadas que presentan. el azúcar es una pentosa (5 átomos de carbono) que puede ser de dos tipos: ribosa o desoxirribosa (con un oxígeno menos que la ribosa).

Las bases nitrogenadas que se presentan en los nucleótidos son moléculas compuestas por carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno, que adoptan la estructura de anillo.

Existen dos tipos de bases en función del número de anillos que tengan. Las bases púricas tienen un anillo doble y a este grupo pertenecen la adenina (A) y la guanina (G). Las bases pirimidínicas presentan un solo anillo y son la

citocina (C), la timina (T) y el uracilo (U). Cada nucleótido toma el nombre de la base que contiene. El grupo fosfato que se une al azúcar puede ser un monofosfato, un difosfato o un trifosfato.

Los nucleótidos pueden funcionar como transportadores de energía química, siendo el principal el adenosíntrifosfato o ATP. Al añadir una molécula de agua al ATP, se separa un grupo fosfato obteniéndose como producto de la reacción una molécula de ADP (adenosíndifosfato), un grupo fosfato libre y energía.

La importancia especial de los nucleótidos estriba en que constituyen los elementos que componen los ácidos nucleicos, moléculas que almacenan la información biológica.

Existen dos tipos principales de ácidos nucleicos: el ácido ribonucleico o ARN, que contiene ribosa, y el ácido desoxirribonucleico o ADN, que contiene desoxirribosa. El ARN está formado por los nucleótidos A, U, G y C, y el ADN está formado por A, T, G y C. En la célula existen varias clases de ARNs, cada uno de ellos con una función diferente.

¿Qué camino conecta al genotipo con el fenotipo?, es decir, ¿cómo ocurre la expresión génica? El primer paso del flujo de la información hereditaria es la replicación del ADN. Pero tanto en eucariotas como en procariontes esa información tiene que dar dos pasos más para llegar a expresarse, que son la transcripción y la traducción.

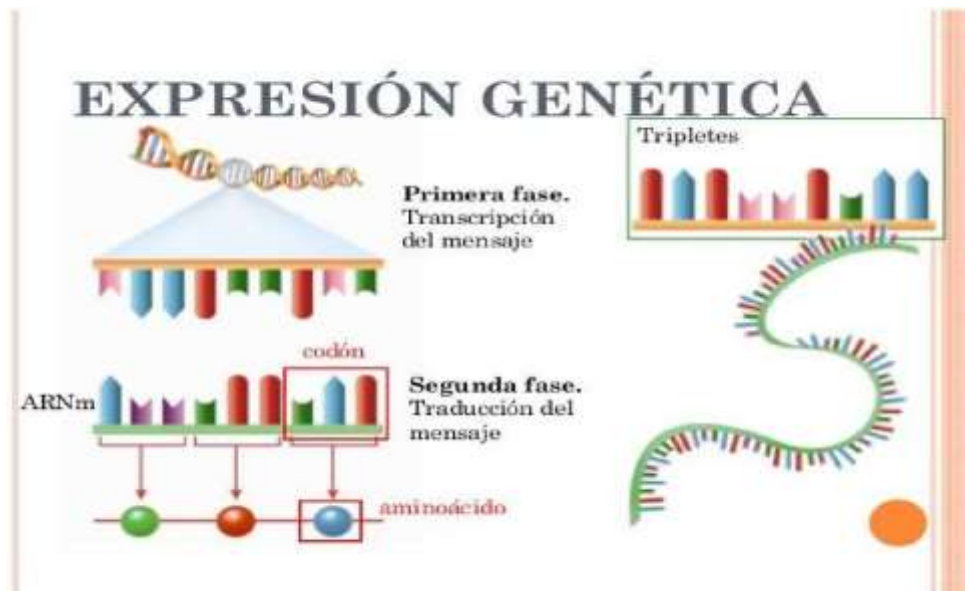


Figura 161. Expresión génica.

TRANSCRIPCIÓN

El ADN de los eucariotas se encuentra situado en el núcleo celular, mientras que la maquinaria necesaria para la síntesis de proteínas se halla en el citoplasma. El tamaño de la molécula de ADN y la importancia de la información que contiene hacen que el ADN no viaje hasta el citoplasma para transmitir las instrucciones necesarias para la síntesis proteica. Por ello, cada vez que es necesaria la producción de un determinado polipéptido, el gen que guarda la información acerca de su secuencia de aminoácidos es transcrito a un ácido ribonucleico. A este proceso se le denomina transcripción. El ARN formado es el que viaja hasta el citoplasma transportando la información (mensaje) para que el polipéptido en cuestión sea sintetizado. Por este motivo a ese ARN se le llama ARN mensajero (ARNm).

La transcripción

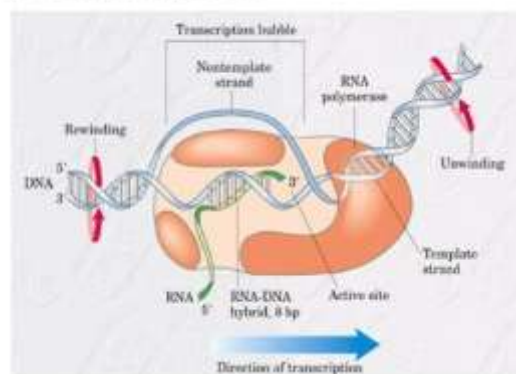


Figura 162. Transcripción del DNA en RNA

El proceso de transcripción es catalizado por un enzima perteneciente al grupo de las ARN polimerasas. Para ello, esta enzima se asocia a una región denominada promotor, que es un secuencia de ADN, rica en nucleótidos de timina y adenina, situada antes de la secuencia de nucleótidos que va a ser transcrita.

El promotor sirve para la unión de la enzima al ADN y es la zona en la que se separan las dos hebras del ADN para que la información pueda ser transcrita. Una vez abierta la molécula de ADN comienza la transcripción que avanza mediante la adición de nucleótidos a la cadena de ARN en crecimiento.

Este proceso sigue las reglas de complementariedad con la salvedad de que en vez de añadir un nucleótido de timina cuando en la hebra molde aparece uno de adenina, se añade un nucleótido de uracilo en la cadena de ARN en crecimiento, ya que los ARN no tienen nucleótidos de timina sino de uracilo.

Cuando la ARN polimerasa encuentra una señal de parada o secuencia terminadora en la hebra de ADN molde, el proceso de transcripción finaliza, la hebra de ARNm queda libre y la ARN polimerasa se separa del ADN pudiendo volver a unirse a otro promotor para iniciar una nueva transcripción.

No todas las secuencias de ADN guardan información referente a la estructura primaria de los polipéptidos. Otros segmentos de ADN se transcriben a ácidos ribonucleicos con funciones distintas a la del ARNm. Son los ácidos ribonucleicos ribosómicos (ARNr) y los de transferencia (ARNt).

MADURACIÓN DEL ARN.

Los ARNm experimentan una modificación de su estructura una vez sintetizados. El ARNm que produce la ARN polimerasa se denomina transcrito primario. Éste porta la secuencia que codifica el polipéptido, sin embargo esta secuencia no está colocada de forma continua en este ARNm, sino disgregada en varias secuencias a lo largo del transcrito primario separadas por segmentos no codificantes, denominados intrones (secuencias intercaladas) para diferenciarlas de las que sí guardan información, las secuencias codificantes, denominadas exones (las que se expresan).

En los eucariotas, los intrones representan un porcentaje mayor de la secuencia génica que el dedicado a los exones. A través de un proceso de corte y empalme denominado maduración o procesamiento del transcrito primario, se eliminan los intrones y se colocan secuencialmente los exones, obteniéndose un ARNm maduro que codifican un polipéptido funcional. ACL. Tema 4. 4 Hay transcritos primarios que tras su procesamiento codifican siempre el mismo polipéptido y otros que pueden experimentar varios tipos de maduración que originan polipéptidos distintos. Los ARN ribosómicos y de transferencia también experimentan procesamiento.

TRADUCCIÓN.

La traducción es el paso de la información transportada por el ARN-m a proteína. La especificidad funcional de los polipéptidos reside en su secuencia lineal de aminoácidos que determina su estructura primaria, secundaria y terciaria. De manera, que los aminoácidos libres que hay en el citoplasma tienen que unirse para formar los polipéptidos y la secuencia lineal de aminoácidos de un polipéptido depende de la secuencia lineal de ribonucleótidos en el ARN que a su vez está determinada por la secuencia lineal de bases nitrogenadas en el ADN.

Otra de las propiedades que debe cumplir el material genético es que pueda guardar información. El ADN tiene una característica estructural (es una secuencia de cuatro tipos distintos de nucleótidos) que le permite hacerlo. Pero la pregunta es, ¿cómo está codificada la información referente a la secuencia de aminoácidos de un polipéptido en el ADN y, por tanto, en el ARNm?

Resumen de la síntesis de proteína en una bacteria

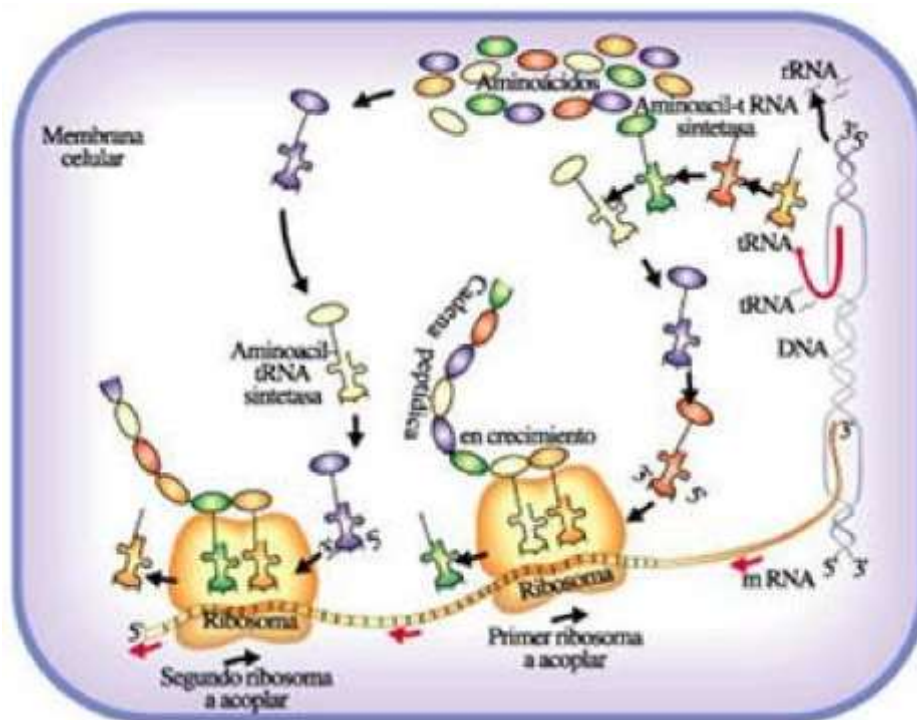


Figura 163. Traducción del RNAm en proteína. Crecimiento secuencial de una cadena peptídica en el ribosoma. Se representa aquí un ribosoma que está traduciendo en una cadena peptídica creciente de RNAm.

EL CÓDIGO GENÉTICO

El código genético es el conjunto de principios mediante los cuales se establece una relación entre la ordenación lineal de nucleótidos de la molécula de ADN y la ordenación lineal de aminoácidos de los polipéptidos.

Son 20 los distintos aminoácidos que pueden formar parte de la secuencia de un polipéptido y unos polipéptidos se diferencian de otros por el orden en que están unidos los aminoácidos que los constituyen.

En el ADN se guarda la información acerca de las secuencias de aminoácidos de todos los polipéptidos del organismo. Dado que la naturaleza del ADN y la de los polipéptidos es distinta, esa información debe ser guardada de forma cifrada de acuerdo con un código.

La base del código genético se encuentra en la secuencia de tres nucleótidos, denominada triplete (tripleto de bases) o codón, cuando nos referimos a ese triplete en el ARNm. Un codón especifica un aminoácido. El anticodón es una secuencia de tres nucleótidos complementaria del codón del ARNm. El código genético, además, tiene las siguientes características:

a) es redundante o degenerado: un aminoácido puede ser codificado por más de un codón.

b) es un código sin superposición: una base sólo pertenece a un triplete y no a varios.

c) la lectura es lineal y sin comas: se inicia en un punto y va avanzando leyendo de triplete en triplete, sin separación entre ellos.

d) es universal: prácticamente todos los seres vivos utilizan el mismo código para traducir el mensaje del ADN a proteínas.

| | U | C | A | G | | | | | |
|----------|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|----------|
| U | UUU | Phe | UCU | Ser | UAU | Tyr | UGU | Cys | U |
| | UUC | Phe | UCC | Ser | UAC | Tyr | UGC | Cys | |
| U | UUA | Leu | UCA | Ser | UAA | Term | UGA | Tem | A |
| | UUG | Leu | UCG | Ser | UAG | Term | UGG | Trp | |
| C | CUU | Leu | CCU | Pro | CAU | His | CGU | Arg | U |
| | CUC | Leu | CCC | Pro | CAC | His | CGC | Arg | |
| | CUA | Leu | CCA | Pro | CAA | Gln | CGA | Arg | A |
| | CUG | Leu | CCG | Pro | CAG | Gln | CGG | Arg | |
| A | AUU | Ile | ACU | Thr | AAU | Asn | AGU | Ser | U |
| | AUC | Ile | ACC | Thr | AAC | Asn | AGC | Ser | |
| | AUA | Ile | ACA | Thr | AAA | Lys | AGA | Arg | A |
| | AUG | Met | ACG | Thr | AAC | Lys | AGG | Arg | |
| G | GUU | Val | GCU | Ala | GAU | Asp | GGU | Gly | U |
| | GUC | Val | GCC | Ala | GAC | Asp | GGC | Gly | |
| | GUA | Val | GCA | Ala | GAA | Glu | GGA | Gly | A |
| | GUG | Val | GCG | Ala | GAC | Glu | GGG | Gly | |

Figura 164. Diccionario del código genético, los codones se leen de izquierda a derecha en la dirección 5'→3'. Los tres codones de terminación UAA, UAG y UGA están indicados como *term*.

Los 20 L-aminoácidos utilizados en la biosíntesis de proteína: Asp = Ácido aspártico, Glu = ácido glutámico, Ala = Alanina, Arg = arginina, Asn = asparagina, Cys = cisteína, Phe = fenilalanina, Gly = glicocola (glicina), Gln = glutamina, His = histidina, Ile = isoleucina, Leu = Leucina, Lys = Lisina, Met = metionina, Pro = prolina, Ser = serina, Tyr = tirosina, Thr = Treonina, Trp = triptófano, Val = valina.

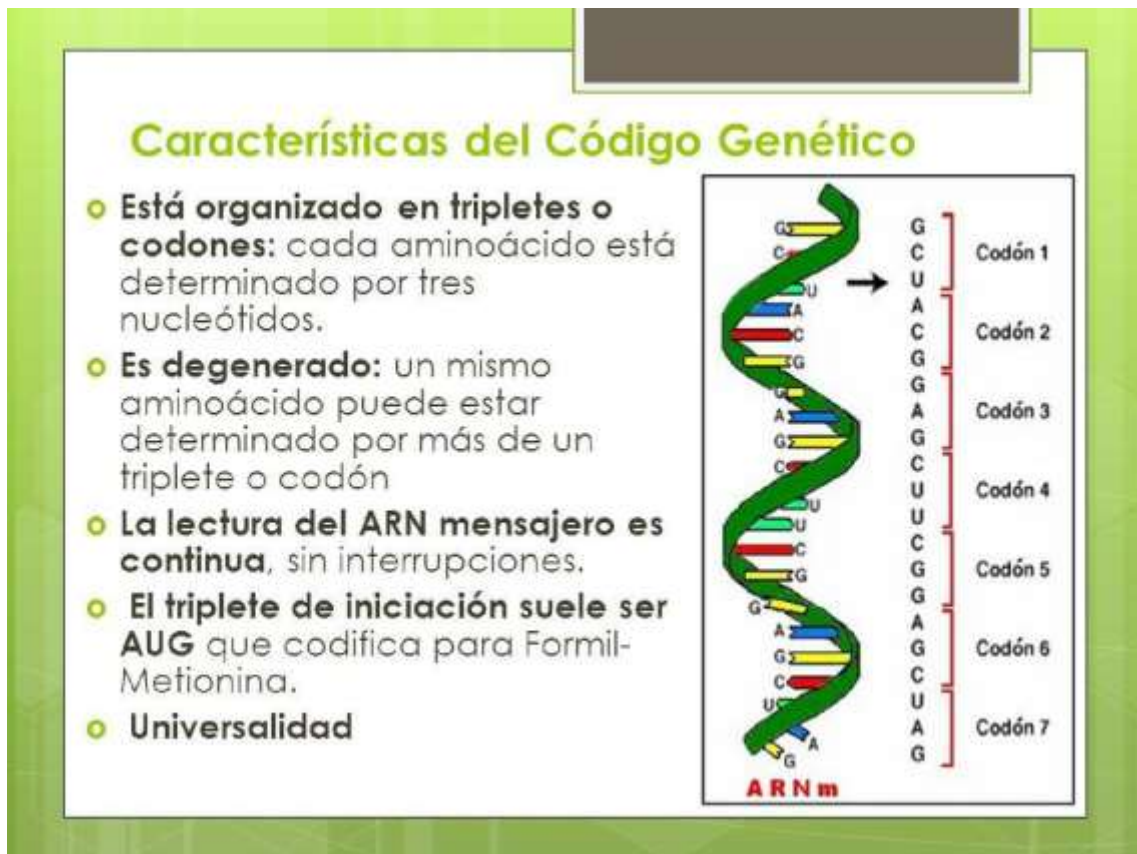


Figura 165. Características del código genético.

SÍNTESIS DE PROTEÍNAS

La traducción es el proceso mediante el cual la información contenida en el ARNm en un lenguaje de cuatro letras, es pasada al lenguaje de 20 letras de los polipéptidos, siguiendo los principios del código genético. Este proceso se efectúa en los ribosomas, estructuras citoplasmáticas en las que coinciden, para llevar a cabo la síntesis de proteínas, el ARNm y el ARNt. El ARNt es el encargado de transportar los aminoácidos hasta el ribosoma para formar la cadena polipeptídica y adquiere una forma de hoja de trébol.

La síntesis de proteínas transcurre en cuatro etapas:

a) Iniciación: todos los ARNm comienzan con el codón AUG, que corresponde al aminoácido metionina, sin embargo, la cadena polipeptídica final carece de este aminoácido en su extremo inicial debido a que este codón sirve realmente de señal de inicio de la traducción en todos los ARNm y una vez concluida, es desprendido de la cadena.

La síntesis de proteínas se inicia con la formación del denominada complejo de iniciación.

En el ribosoma existen dos regiones, la correspondiente al denominado sitio aminoacil (sitio A) y la correspondiente al sitio peptidil (sitio P). En el sitio P se

colocarán los ARNt con la cadena polipeptídica en crecimiento y en el sitio A, los ARNt ACL. Tema 4. 5 con el nuevo aminoácido que se vaya a incorporar a esa cadena. Al comienzo de la traducción, el ribosoma se posiciona colocando el sitio P en el codón de inicio del ARNm. Después, el ARNt se une por complementariedad al codón de inicio del sitio P.

b) Elongación: a continuación llega el siguiente ARNt con un anticodón complementario del codón del ARNm colocado en el sitio A. Una enzima específica se encarga de establecer el enlace peptídico entre ambos aminoácidos formándose un di péptido unido al ARNt del sitio A.

c) Translocación: el ribosoma se desplaza a lo largo del ARNm, de forma que el ARNt con el di péptido pasa al sitio P expulsando al ARNt vacío.

d) Terminación: el proceso de elongación y translocación se repite hasta que el codón de paro entra en el sitio A y es reconocido por un factor de liberación específico. La elongación finaliza y el complejo se disocia liberando el polipéptido.

A medida que el codón de inicio del ARNm queda libre, se puede formar otro complejo de iniciación con un nuevo ribosoma comenzándose de nuevo la traducción del ARNm. Esto permite hacer múltiples copias de un polipéptido a partir de una sola molécula de ARNm. El conjunto formado por un ARNm con varios ribosomas unidos a él se denomina polisoma. La cadena polipeptídica necesita, en ocasiones, experimentar procesos de maduración, llamados procesos pos traducción, para adquirir su conformación biológica activa.

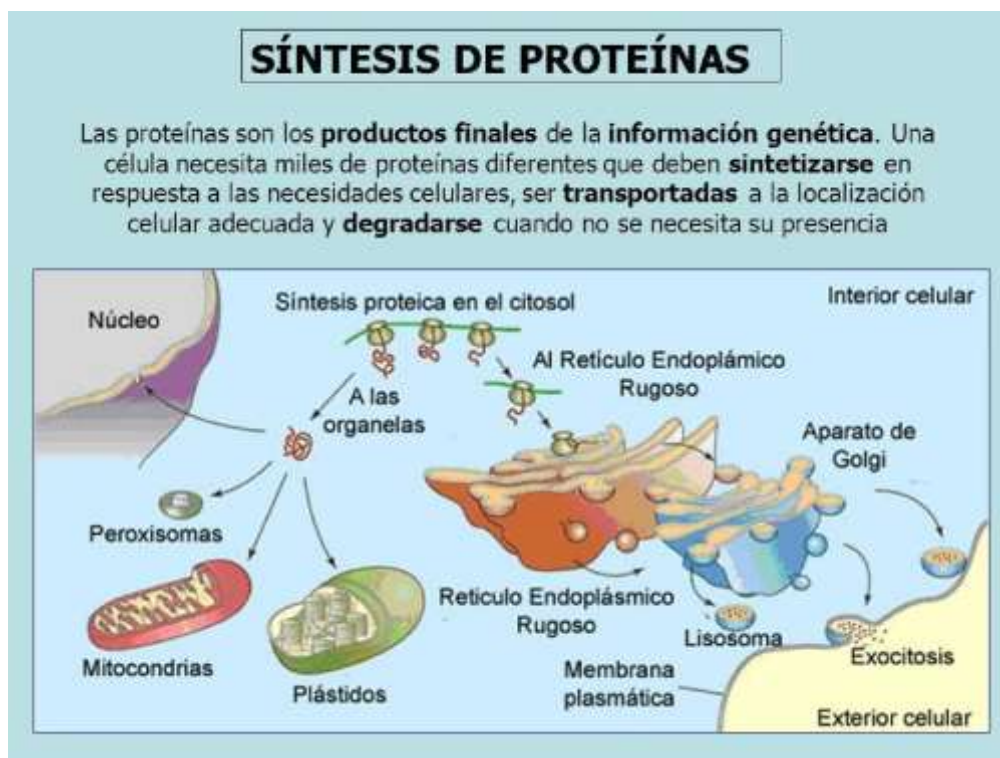


Figura 166. Síntesis de proteína en el citosol.

REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA.

Cada célula del organismo se ha originado por mitosis sucesivas de una única célula, el cigoto. La mitosis asegura un reparto completo y equitativo de la información genética. Por este motivo, todas las células de un individuo portan la misma información. Sin embargo, durante el desarrollo, las células toman destinos diferentes, formando distintos tipos de tejidos que, a su vez, adquieren conformaciones espaciales particulares dando origen a órganos y otras estructuras corporales.

Por otro lado, dentro de cada célula ya diferenciada, la actividad metabólica cambia en función de una serie de variables. Todos estos acontecimientos activan procesos controlados por enzimas. Todo ello pone de manifiesto que la expresión génica de cada célula está regulada de forma precisa, tanto durante las sucesivas etapas del desarrollo como a lo largo de su ciclo vital.

La regulación de la expresión se realiza a diversos niveles que comienzan en la propia transcripción y terminan en el procesamiento del polipéptido sintetizado. La regulación de la expresión génica a nivel de la transcripción es llevada a cabo de diversas formas, una de ellas implica a unas proteínas especiales denominadas proteínas reguladoras de genes. Estas proteínas se unen de forma selectiva a regiones específicas del ADN situadas al inicio de los genes y regulan así la expresión de los mismos. La especificidad de las regiones del ADN a las que se unen parece estar determinada por su secuencia de nucleótidos. Las proteínas reguladoras de genes se unen específicamente a esas regiones porque su estructura tridimensional es complementaria de ellas.

EL MODELO DEL OPERÓN

El modelo del operón es un ejemplo de regulación de la transcripción génica en procariontes. En concreto, de las enzimas que intervienen en el metabolismo de la lactosa.

Situado en las cercanías de los genes *lac*, se encuentra el denominado gen regulador, que codifica la secuencia de una proteína reguladora llamada represor. Esta proteína reconoce y se une a una secuencia específica del ADN, llamada operador, situada inmediatamente después del promotor de los genes *lac*. Ello impide que la ARN polimerasa se pueda acoplar al ADN y que la transcripción de los genes *lac* se lleve a cabo.

Cuando en el medio hay lactosa, una molécula actúa como inductor de la transcripción de los genes *lac*, ya que se une al represor, provocando un cambio conformacional en esta proteína y, con ello, que se rompa su unión con el operador. Al quedar el operador libre, la ARN polimerasa se puede acoplar al promotor y comenzar la transcripción de los genes *lac*. A medida que se degrade la lactosa desaparecerá el inductor, aparecerán represores libres que se unirán al operador y se bloqueará la transcripción de los genes *lac*. De esa forma, sólo cuando haya lactosa se creará la maquinaria para su metabolismo.



Figura 167. Modelo del operón.

REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA EN EUCARIOTAS.

El cromosoma eucariótico es mucho más complejo que el procariótico. No todo el ADN localizado en los cromosomas está relacionado con la síntesis de polipéptidos. Un 10% del total está compuesto por segmentos cortos de menos de 10 pb que se repiten millones de veces. Constituye el denominado ADN altamente repetitivo. Otro 20% del ADN consiste en segmentos de unos pocos centenares de pares de bases que se repiten más de mil veces; forman el ADN moderadamente repetitivo. El resto, el 70 %, son segmentos de copia única o escasamente repetitivo.

Una parte del ADN altamente repetitivo está relacionada con los centrómeros y los telómeros. Los primeros están implicados con el movimiento de los cromosomas durante la reproducción celular y los telómeros son secuencias situadas en los extremos de los cromosomas que marcan el final de éstos, le ayudan a estabilizarse y protegen sus extremos evitando con ello su tendencia a adherirse y que sean degradados por ex nucleasas. Todos los telómeros son secuencias repetidas de unas pocas bases. En nuestra especie, esa secuencia es TTAGGG, repetida entre 250 y 1.000 veces. Las secuencias teloméricas parecen ser añadidas al final de la replicación del ADN por una enzima llamada telomerasa relacionada con el envejecimiento celular.

Una parte del ADN moderadamente repetitivo está formada por secuencias que no se transcriben y sólo sirven como zonas de reconocimiento para la actuación de determinadas enzimas. Otra parte está constituida por genes que se encuentran en múltiples copias, como los del ARNr y una tercera parte está formada por genes de los que existen múltiples copias pero no idénticas.

Las secuencias de copia única o escasamente repetitivas son en su mayoría genes, es decir, secuencias que se transcriben y se les denomina genes estructurales. En nuestra especie se estima que existen unos 50.000-100.000, el conjunto de los cuales constituye el genoma.

Si bien algo más del 70% del ADN está relacionado con los genes, no todo el segmento asociado a un gen es traducido a proteínas. La mayor parte de los genes de eucariotas tienen intercalados segmentos de ADN, intrones, que no son secuencias que se transcriban. En humanos, se estima que realmente sólo un 1% del ADN es transcrito y traducido a cadenas polipeptídicas.

Parte de los segmentos no codificantes que no son intrones están relacionados con la regulación de la expresión génica y se denominan secuencias reguladoras.

Las proteínas reguladoras son el resultado de la expresión de genes reguladores que, a su vez, está relacionada con factores externos. Por ejemplo, existen determinados compuestos denominados factores de crecimiento que inducen en las células cambios relacionados con el desarrollo y división celular. Hay dos tipos de genes en relación con la regulación de la expresión génica. Los genes de respuesta rápida, cuya expresión se produce directamente en los siguientes quince minutos tras la entrada del factor de crecimiento en la célula, y los genes de respuesta lenta que no se inducen hasta transcurrida al menos una hora después.

Muchos de los genes de respuesta rápida son los llamados protooncogenes, cuya función es la regulación de la expresión de otros genes y que, mientras una mutación no altere su funcionamiento, ejercen una misión necesaria para el adecuado funcionamiento celular. Su nombre concreto va precedido de la letra c y no ACL. Transforman a las células en cancerígenas, sino que tienen una función compatible y necesaria para la supervivencia del organismo.

Un aspecto que diferencia a muchos eucariotas de los procariotas es su compleja organización pluricelular, consecuencia de elaborados procesos de desarrollo y diferenciación del organismo. Estos procesos también están regulados por genes, y se sabe que está implicada una gran familia de genes denominados de forma genérica homeogenes o genes Hox o genes —maestrosll.

Otros dos mecanismos implicados en la regulación de la expresión génica son la metilación y la condensación del ADN. La metilación es una reacción catalizada enzimáticamente mediante la cual se inserta un grupo metilo (-CH₃) en la base nitrogenada de los nucleótidos, sobre todo en los de citosina. Esta alteración impide la actuación de la ARN polimerasa y, por tanto, que se transcriban los genes afectados. Con respecto al grado de condensación del ADN parece ocurrir lo mismo y es un mecanismo mediante el cual se regula la expresión de grandes cantidades de genes, estableciéndose una relación directa entre el grado de condensación de la cromatina y la ausencia de transcripción.

La metilación y la condensación parecen provocar inactivaciones permanentes de los genes afectados ya que, tanto las zonas del ADN metiladas, como las altamente condensadas, se heredan de unas células a otras. Un ejemplo de esta herencia lo representa la inactivación del cromosoma X. Una vez inactivado uno de los dos cromosomas X, todas las células descendientes presentan inactivado el mismo cromosoma X.

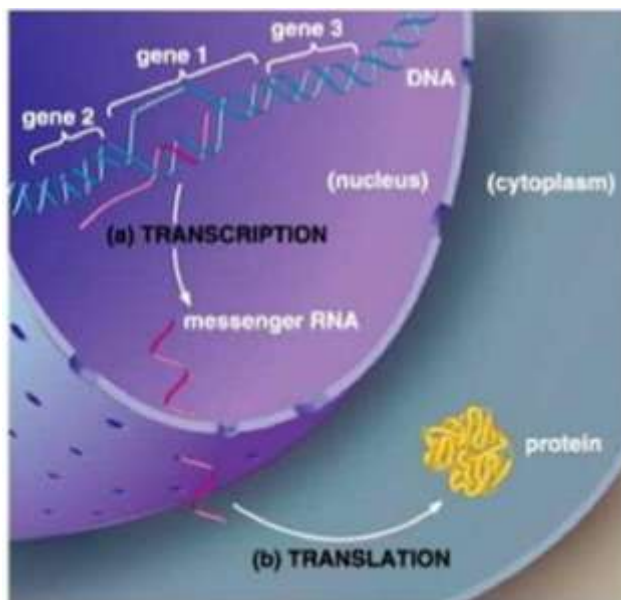


Figura 168. Transcripción del DNA y traslado desde el núcleo del RNAm.

La producción de proteínas debe ser regulada tanto en cantidad como en tiempo y espacio. Todas las células de un ser pluricelular tienen todos los genes iguales, excepto las células gaméticas y alguna otra, según los seres. Genes constitutivos (continuamente) y genes facultativos (en determinadas ocasiones).

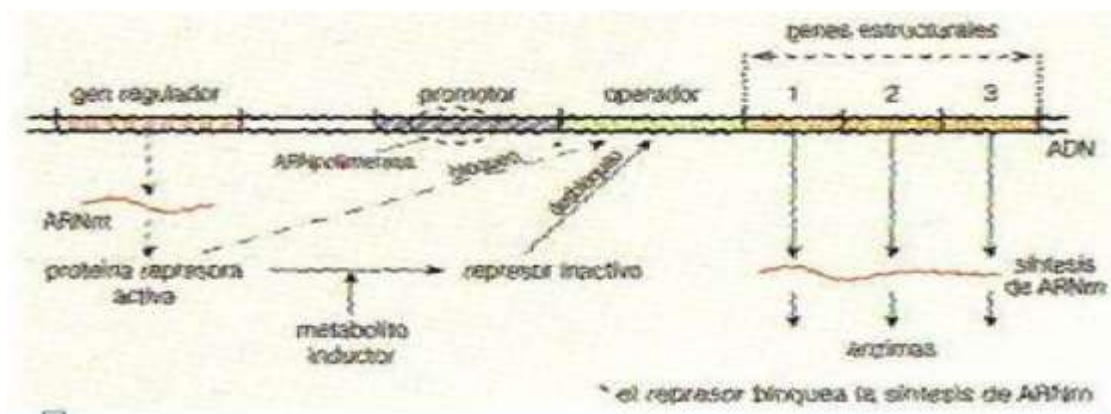


Figura 169. En procariontes: alteraciones del ADN (superenrollamientos, metilaciones...) cambios en las ARN polimerasas y regulación de la transcripción: Operón (descrita por: Jacob y Monod en 1961 en *Escherichia coli*).

EL ARN de interferencia

El ARN de interferencia "constituye uno de los hallazgos científicos más importantes en los últimos años", La Interferencia por ARN se emplea con frecuencia en la investigación para evitar que los genes produzcan proteínas, con lo cual pueden entenderse los efectos de su carencia y las funciones que realiza la célula.

El dogma central de la Biología describe cómo la información genética contenida en el núcleo celular en forma de ADN es copiada a ARN mensajero (ARNm), transportada al citoplasma y, posteriormente, usada para producir proteínas. El estudio y caracterización de los diferentes mecanismos que controlan este proceso es uno de los objetivos fundamentales de la ciencia moderna. El descubrimiento del mecanismo de regulación de la expresión génica mediante ARN constituye el ARN de interferencia (ARNi).

Antes del descubrimiento del ARNi un fenómeno denominado silenciamiento génico había sido descrito en plantas transgénicas. En experimentos diseñados para potenciar el color de las petunias, en donde el número de copias del gen responsable de la pigmentación había sido aumentado mediante ingeniería genética, se observó que se producía el resultado contrario, originándose una flor blanca. En los años siguientes este fenómeno fue descrito en otras plantas transgénicas y en otros organismos modelo. Aunque se identificó que este efecto era producido por la inhibición de la expresión del gen que se intentaba potenciar y que el ARN tenía un papel fundamental en ello, la explicación molecular del proceso no vio la luz hasta el descubrimiento de Fire y Mello.

En 1998 estos investigadores estaban buscando un modo eficiente de silenciar genes como estrategia para estudiar su función en el desarrollo del nematodo *C. elegans*. Para ello, inyectaron moléculas de ARN complementario al ARNm del gen que querían silenciar (antisense) en las células del gusano. Esta técnica era por lo general muy inconsistente y los efectos producidos muy modestos. En sus experimentos, ni el uso de antisense ni el de la secuencia complementaria a éste (sense) produjeron efecto alguno. Inesperadamente, una mezcla de sense y antisense, en donde estas dos ACL. Tema 4. 8 especies moleculares de cadena sencilla habían hibridado formando un ARN de doble cadena (ARNdc), produjo la ablación casi completa de la expresión del gen diana.

En su artículo original, Fire y Mello demuestran que es posible el silenciamiento específico de un gen mediante la introducción en la célula de ARNdc que contiene la secuencia homóloga. Además, proponen que este fenómeno es mediado por un mecanismo endógeno natural, que tiene como consecuencia la degradación del ARNm y que es usado por la célula para controlar la expresión génica. Finalmente, sugieren una conexión entre este mecanismo y el fenómeno descrito en plantas.

La publicación de este estudio tuvo una excepcional repercusión en la comunidad científica. En menos de un año se documentó la presencia de ARNi en una gran diversidad de organismos modelo, incluyendo la mosca del vinagre, tripanosomas, planaria, hidra y pez-cebra. Los estudios en mamíferos

sufrieron unos años de retraso debido a que la introducción de fragmentos ARNdc mayores de 30 nucleótidos en estas células activa una reacción fisiológica que origina la muerte celular. Finalmente, el descubrimiento de que secuencias más cortas inducen ARNi sin producir toxicidad demostró la generalidad de este fenómeno entre los organismos eucariotas, siendo la única notable excepción la levadura.

Durante los años siguientes, una gran parte de la maquinaria celular básica relacionada con el ARNi fue identificada. Ahora sabemos que el ARNdc es procesado por la enzima Dicer en fragmentos pequeños, de 19 a 21 nucleótidos, y que estos fragmentos se unen a un complejo de proteínas denominado RISC (del inglés RNA Induce Silencing Complex) que reconoce y degrada el ARNm homólogo al ARNdc.

Paralelamente a la caracterización de sus componentes, también se han desvelado algunas de las funciones naturales que el ARNi ejerce en la célula. Así, se ha identificado una clase de ARNdc producidos de forma endógena, los microARNs, que regulan los niveles de expresión génica de, al menos, el 30% de todo el genoma. Además, el ARNi ha sido implicado en la respuesta defensiva de la célula tras una infección viral y en el mantenimiento de la estabilidad genómica mediante el silenciamiento de los elementos genéticos móviles (transposones).

Este descubrimiento ha posibilitado el desarrollo de herramientas genéticas con la capacidad de silenciar cualquier gen del genoma que se desee.

Tras la secuenciación completa de varios genomas, incluido el humano, nos encontramos ante el reto de asignar una función a todos los genes identificados. La tecnología derivada del ARNi ha revolucionado la forma en que la función génica es analizada. De una manera sencilla y eficiente ahora podemos realizar estudios denominados de pérdida de función en donde ARNdc diseñados artificialmente son introducidos en la célula para silenciar un gen determinado. Esta tecnología representa una oportunidad única para identificar genes implicados en cualquier proceso biológico o enfermedad. Además, debido a su sencillez, estos estudios pueden ser realizados en miles de genes a la vez, dándonos una perspectiva global del problema biológico que se estudia. Aparte de su incuestionable relevancia como herramienta de investigación, esta tecnología está empezando a ser aplicada a la biomedicina, en donde está levantando una gran expectación.

Bibliografía:

- ❖ <http://pendientedemigracion.ucm.es/info/genetica/grupod/Traduccion/traduccion.htm>
- ❖ [https://es.wikipedia.org/wiki/Traducci3n\(gen3tica\)](https://es.wikipedia.org/wiki/Traducci3n(gen3tica))
- ❖ Devlin, T. M. 2004. *Bioquímica* 4ª edición
- ❖ Reverté, Barcelona. ISBN 84-291-7208-4
- ❖ https://es.wikipedia.org/wiki/Expresi3n_g3nica
- ❖ <https://www.lsi.us.es/docs/doctorado/memorias/Memoria-Invest-DMateosGarcia.pdf>

METABOLISMO SECUNDARIO

INTRODUCCIÓN

El metabolismo es el conjunto de reacciones químicas que realizan las células de los seres vivos para sintetizar sustancias complejas a partir de otras más simples, o para degradar las complejas y obtener las simples.

En las plantas, organismos autótrofos, el **Metabolismo primario** está involucrado en la fotosíntesis que comprende la energía y la conversión de la energía en azúcares, proteínas, lípidos ácidos nucleicos y la respiración. Además del metabolismo primario presente en todos los seres vivos, poseen un metabolismo secundario que les permite producir y acumular compuestos de naturaleza química diversa, vías ácido Shiquímico, ácido acético, malónico, ácido mevalónico, (involucran varios compuestos involucrados en el crecimiento y desarrollo y varios no esenciales a las plantas), producidos de acuerdo a un grupo, familia, género y especie y la interacción con elementos bióticos como insectos, hongos bacterias y otros y la planta.

Estos compuestos derivados del metabolismo secundario se denominan metabolitos secundarios, se distribuyen diferencialmente en grupos taxonómicos, presentan propiedades biológicas, muchos desempeñan funciones ecológicas y se caracterizan por sus diferentes usos y aplicaciones como medicamentos, insecticidas, herbicidas, perfumes o colorantes, entre otros. Reciben también la denominación de productos naturales.

El conjunto de reacciones químicas que tienen lugar en un organismo constituye el metabolismo. La mayor parte del carbono, del nitrógeno y de la energía termina en moléculas comunes a todas las células, necesarias para su funcionamiento y el de los organismos. Se trata de aminoácidos, nucleótidos, azúcares y lípidos, presentes en todas las plantas y desempeñando las mismas funciones, se denominan **metabolitos primarios**. Pero a diferencia de otros organismos, las plantas destinan una cantidad significativa del carbono asimilado y de la energía a la síntesis de una amplia variedad de moléculas orgánicas que no parecen tener una función directa en procesos fotosintéticos, respiratorios, asimilación de nutrientes, transporte de solutos o síntesis de proteínas, carbohidratos o lípidos, y que se denominan metabolitos secundarios (también denominados productos secundarios, productos naturales).

Los metabolitos secundarios además de no presentar una función definida en los procesos mencionados, difieren también de los metabolitos primarios en que ciertos grupos presentan una distribución restringida en el reino vegetal, es decir, no todos los metabolitos secundarios se encuentran en todos los grupos de plantas.

Se sintetizan en pequeñas cantidades y no de forma generalizada, estando a menudo su producción restringida a un determinado género de plantas, a una familia, o incluso a algunas especies.

Funciones de los compuestos secundarios

1. Interacción insecto/planta, animal herbívoros/planta (Prevención de predación).
Interacción planta/planta → alelopatía.
2. Resistencia a infección por patógenos (hongos, bacterias y virus). Ej. Compuestos fenólicos para evitar infección.
3. Atracción de polinizadores, principalmente flavonoides. Atracción de dispersores de semillas.
4. Hombre. Drogas medicinales, venenos e insecticidas, aromatizantes (aceites esenciales), industria de materiales (caucho).

Clases de componentes secundarios según la ruta metabólica



Figura 170. Ruta e biosíntesis de los metabolitos secundarios.

Cabe aclarar que las rutas de los metabolitos secundarios no son tan generales y talvés no sean activadas durante algunos estadios particulares del crecimiento y desarrollo, o en períodos de estrés causadas por limitaciones nutricionales o ataque microbiológico (Mann, 1987). Aun embargo las reacciones bioquímicas no ocurren independientemente de un mismo productor. Alteraciones en el primero pueden afectar profundamente el segundo. Hay algunos casos en que metabolitos secundarios son convertidos en primarios. Muchos metabolitos secundario son formados por secuencias de

reacciones análogas a aquellas del metabolismo primario. Por lo tanto la línea divisoria entre metabolismo primario y secundario no es nítida.

Algunos metabolitos secundarios derivan no apenas de una de esas intermediarios, sino son resultante de la combinación de una unidad de ácido shiquímico y una o más unidades de acetato o derivados de este como es el caso de las antraquinonas, de los flavonoides y de ñps taninos condensados.

Los derivados del acetato pueden ser clasificados en:

- Vía del ácido cítrico
- Vía mevalonato
- Productos de la condensación del acetato

Además de eso, los metabolitos secundarios pueden ser encontrados en la forma libre. Siendo denominados genéricamente de agliconas, o estar ligados a una o más unidades de azúcar, formando lo que se denomina heterosídeos.

Los polisacáridos, producto de la polimerización de unidades de azúcar, constituyen una importante clase de productos naturales de origen vegetal, conforman un grupo independiente (Ver en Bruneton, (1993), Mann (1987), Robbers et al. (1996) y Samuelson (1992)

El ácido shiquímico es formado por la condensación aldólica de dos metabolitos de la glucosa: El fosfoenolpiruvato y la eritrosa-4-fosfato. Una vez formado, el ácido shiquímico puede ser metabolizado en ácido corísmico o ácido gálico. Como el pH relevante en la planta torna los ácidos ionizados, se podría designar esos metabolitos como shiquimato, corismato y galato respectivamente.

El ácido corísmico es resultante de una molécula de ácido shiquímico y una de fosfoenolpiruvato, por su vez, origina los aminoácidos aromáticos, precursores de varios tipos de alcaloides.

Esa biosíntesis que forma los aminoácidos aromáticos, están presente en plantas, hongos y bacterias, pero no son **encontrados en animales. Por eso, los aminoácidos aromáticos, fenilalanina y triptófano son considerados nutrientes esenciales en la dieta de los animales**, en cuanto a tirosina solo no es considerada esencial porque puede ser formada a partir de fenilalanina.

Estructuras secretoras

(Ver en Células y Estructuras secretoras Mauseth, 1988).

Toda célula vegetal es secretora: de sales, hormonas, nitrogenados, sulfonitrogenados. En la pared de la epidermis se encuentra, la cutícula cutícula

conformada por suberina y lignina. En la secreción participan el retículo endoplasmático, dictiosomas.

Secreción y excreción

1. Sistema secretor involucrado con la necesidad metabólica fundamental de la planta. Ej. Glándulas de sal, hidatodos.
2. Sistemas secretores que facilitan mucho la interacción planta organismos. Ej. Nectario, osmóforos, células mirosina (ideoblastos). Mirosina es enzima.

Métodos de clasificación

Artificiales.- tricomas glandulares, canales ductos. Puede ser piligrosa si es confundida con análogas Ej. Glándulas laticíferas con tricomas. Se debe tener cuidado con su utilización.

Naturales.- Estudios muy específicos de algunas familias y géneros. Ej. Nectarios extra florales maracuyá. Mirtaceae, Clusaceae, Lecitidaceae, Euforbiaceae, Rutaceae.

Productos secretados

Naturaleza de los productos de secreción:

1.- Nectarios. Nectar (sustancia azucarada), H₂O + fructosa, sacarosa, glucosa, aminoácidos, ácidos orgánicos. Dentro de pétalos fuera de pétalos, puede haber extraflorales (hoja), o ser muy próximos a la flor. Ej. Nectario floral de *Euphorbia pulcherrima* (pico de papagallo), Ej. De nectario extra floral de *Passiflora sp* (maracuyá), *passiflora glandulosa*. Pulvínulo *Acacia sp*. Glandulas en Piperaceas. *Lonicera japónica*

2.- Hidatodos. Puede haber pequeñas cantidades de sales como el Género *Cissus*, luego de la gutación. *Tropaeolum majus*. *Equisetum*, *Atriplex* (tiene tricoma secretora de sal). *Avicena sp* tiene glandula de sal (semilla germina, el fruto queda preso en la planta, radícula cae, desciende engruesa y fija en el suelo). *Tamarix aphylla* tiene glándula secretora de sal.

3.- Glándulas, tricoma de sal, terpeno volátiles, sustancias oleosas. Ej. Tricomas en las hojas de *Mentha piperita*

4.- Osmóforo. Terpenos volátiles, sustancias oleosas, aminos y amonio, exalan olores que favorece la polinización, Ej. *Asclepias*.

5.- Glándulas digestivas. En plantas carnívoras e insectívoras, tricomas secretoras de enzimas digestivas. Ej. *Nepenthes*, *Drosera*, *Helianphora*, *Dionaea*, *Cleome*

6.- Células adhesivas. Las plantas parásitas semillas y haustorios presentan moléculas de adhesión celular que son proteínas transmembranales.

7.- Canales o ductos resiníferos.- En coníferas, forman espacios de secreción por separación celular (esquizógeno), rompimiento de célula (lisígeno) y esquizolisígeno. Predominan resinas, terpenos, proteínas, (goma arábiga de *Litaraea sp* y *Anacardium occidentale: Anacardaceas*). Hay presencia de idioblastos productor de polisacáridos, e idioblastos productores de tanino, cloruro férrico, aceites esenciales (son células que producen determinada secreción, o células buliformes encargadas de enrollar las hojas de gramíneas ante la pérdida de agua). Los litocistos son idioblastos presentes en la epidermis que contiene un cistolito. Idioblasto es la célula de diferente forma, tamaño, contenido o función, o en varias de estas, a las que están a su alrededor. El cistolito es la concreción de carbonato cálcico que aparece fundamentalmente en las células epidérmicas de algunas especies. Las células de plantas acuáticas que producen cristal de CO_3Ca .

8.- Aceites. De bajo peso molecular son volátiles (terpenos, hidrocarburos). En *Cymbopogón citratus* (citronela), boldo y romero se encuentran aceite esencial de la siguiente manera: efectuando corte transversal de la hoja, clarificando con cándida (hipoclorito de sodio 20%), aplicando sudán IV, montando luego entre lámina y laminilla con agua, poniendo en luna de reloj y observando tricoma.

De elevado peso molecular son líquidos o sólidos. Sus funciones son defensa de la planta, producción de biomasa. Es afectado por fases lunares. *Lippia alva*, *Urtica sp* tienen tricomas secretoras y tectores en la lámina foliar.

9.- Mucílagos. Es agua + polisacáridos (arabinosa, fructosa, galactosa, ácido galacturónico, cuya función es de lubricación y retención de agua. Se encuentran en saquitos o glándulas peroladas, tejidos idioblastos y canales (Cactaceae).

10.- Gomas. Es más parecido a resinas, surge como respuesta de ataque de patógenos e insectos ante la desintegración de las paredes.

11.- Células de Crucíferas. Con tioglucosidos, isotiocianato en la vacuola

12.- Gases. O_2 , CO_2 , eteno.

13.- Laticíferos (látex). Hay casos de canales no articulados como del género *Jatropha* y los articulados que acompañan al crecimiento meristemático como *Ficus*, *Hevea*, *Canavis*, *Papaver*, *Carica*, *Compuestas*, *Toraxacum*, *Phyllanthus*.

En el *Citrus limón* (Rutáceae). En las cavidades secretoras se encuentran carbohidratos, ácidos orgánicos, sales, alcaloides, lípidos, enzima (papaína), mucílagos, terpenos, taninos, caucho, proteínas, vitaminas, flavonoides, aceites, granos de almidón, alcanfor.

La verificación de alcaloide en *Datura* y *Coffea* (café) es con reactivo Lugol.

La verificación de tanino en guayaba y planta de plátano es con Cloruro férrico.

La verificación de mucílago en Aloe y Sechum es con el reactivo rojo de rutenio.

14.- Flavonoides. En la epidermis inferior de *Tradescantia sp* se observa antocianina (flavonoide) en la vacuola. Y otros lugares en el órganos.

Estudios de biosíntesis se realizan con:

- Isótopos: rastreando con isótopos radiactivos. Hay radioisótopos de ^3_1H , $^{14}_6\text{C}$, $^{32}_{15}\text{P}$... Isótopos estables ^2_1H , $^{13}_6\text{C}$, $^{15}_7\text{P}$ (RMN...)
- Bloqueo enzimático

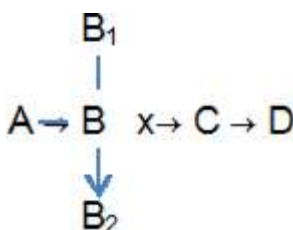


Figura 171. Lugar bloqueo enzimático

(x). Preparación para la Ruta Fitoquímica

- a. Escojer planta
 - b. Clasificar (Taxonomía)
 - c. Metodología de extracción:
 1. Solventes orgánicos: maceración → Soxflex → lixiviación o percolación
 2. Destilacion por arrastre de vapor. hidrodestilación, ampliamente utilizado en la extracción de sustancias volátiles; aceites esenciales.
 3. Enfleurage. Técnica utilizada ppara extraer aromas delicados de flores que no proveen de aceites mediante la destilación, aprisionando en grasas. Ej. Jasmín, violeta, etc.
 4. Prensaje. Utilizado para extracción de aromas de frutos. Ej. Aceite esencial de naranja.
- Luego se emplea el soxflex, para extracción con fluidos supercríticos. Y Enflurage que tiene una columna de captura y se retira la columna y extrae la sustancia en solventes.

Luego pasar por cromatografía gaseosa → equipo de 2000 \$ USA.

Que trabaja a presiones diferentes: \cong 70 atm hasta 700 atm.
 Temperatura de 16°C, solventes: CO₂ fracciona el extracto por diferencia de presión, pasa por matris vegetal, no tiene residuos, consigue fraccionar productos vegetales.

Ej. En manzanilla → se extrae 3% de aceites para formár Vitamina A. Contiene: β - Farneseno, α - bisabolol, Camasaleno, matricina.

También se usa cromatografía de masa. En el jengibre que no se arrastra por vapor al α - felandreno, curcumeno, β - sesquifelandreno, α - zingibereno, farneseno, shogaol, ginerol (antioxidante de sabor picante). Es usado en Aceite esencial.

Una pregunta cultural: ¿La copaiba, tiene aceite y resina?

5. Métodos de separación e identificación

- Cromatografía en capa delgada (CCDC)
- Cromatografía por absorción
- Cromatografía líquida de alta eficiencia (CLAE o HPLC)
- Cromatografía gaseosa

6. Métodos de identificación

- Ultra violeta (UV)
- Infrarojo (IR)
- Resonancia magnética nuclear de hidrógeno (RMN de ^1H)
- Resonancia magnética nuclear de carbono-13 (RMN de ^{13}C)
- Espectrometría de masas (EM).

La clorofila fue la primera sustancia separada por cromatografía

Uso de solventes

- Eter de petróleo (que se recicla)
- Etanol (que no se recicla)
- Metanol (que no se recicla)

1 equipo cromatográfico cuesta 4,700 \$ USA

El Equipo cromatográfico completo cuesta 60,000 – 70,000 \$ USA (6 veces mas que el primer avión que cruzo el atlántico por Carlos Linber).

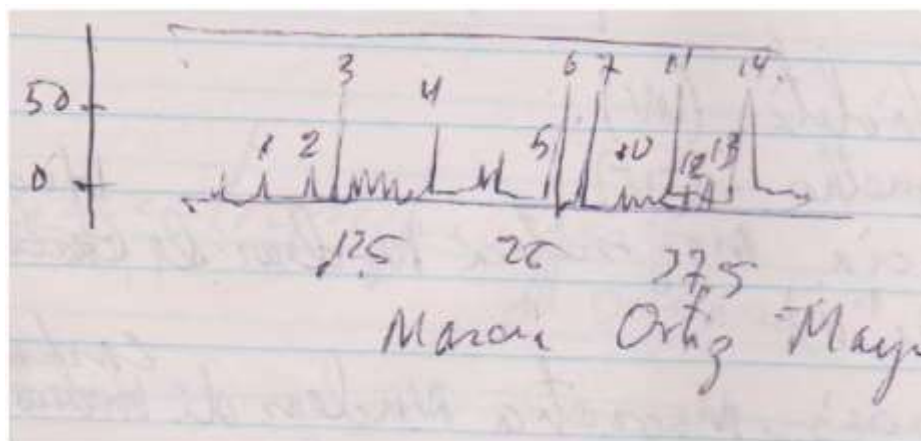


Figura 172. Cada pico una sustância diferente, la molécula se quebra en partes. Según Marcia Ortiz May Marquez –UNESP 2000- Sao Paulo.

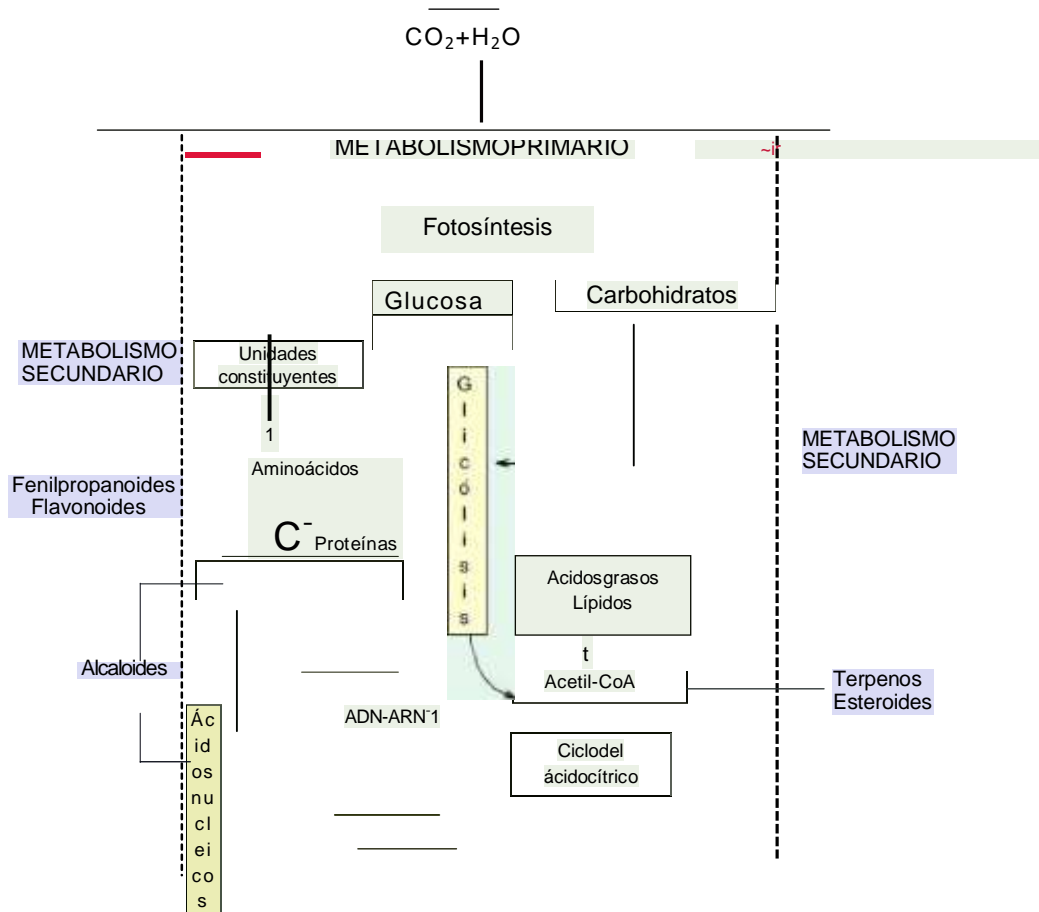


Figura 173. Elementos básicos del metabolismo primario y en relación con el metabolismo secundario de plantas.

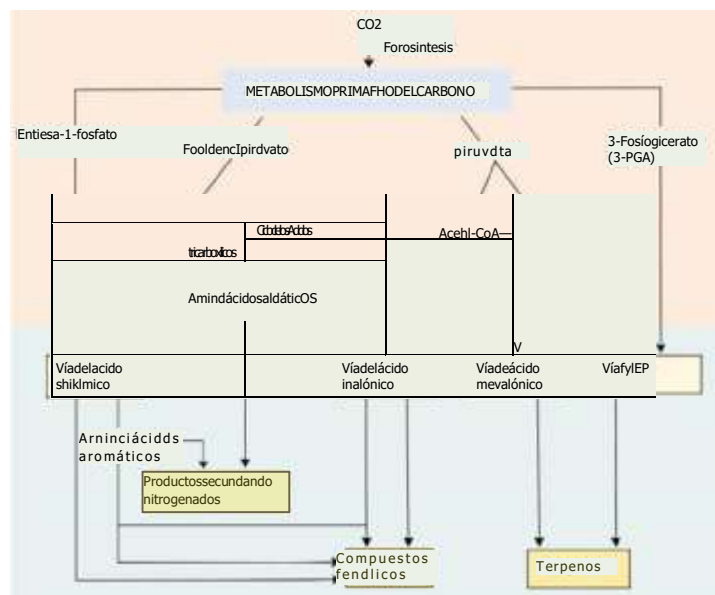


Figura 174. Metabolismo secundario del carbono.

Algunos productos del metabolismo secundario tienen funciones ecológicas específicas como atrayentes o repelentes de animales. Muchos son pigmentos que proporcionan color a flores y frutos, jugando un papel esencial en la reproducción atrayendo a insectos polinizadores, o atrayendo a animales que van a utilizar los frutos como fuente de alimento, contribuyendo de esta forma a la dispersión de semillas.

Otros compuestos tienen función protectora frente a predadores, actuando como repelentes, proporcionando a la planta sabores amargos, haciéndolas indigestas o venenosas. También intervienen en los mecanismos de defensa de las plantas frente a diferentes patógenos, actuando como pesticidas naturales.

La estructura química entre unos y otros a veces es muy parecida. Es el caso del ácido kaurenico y la prolina, metabolitos primarios, mientras que los ácidos abiético y piperónico, compuestos muy relacionados estructuralmente con ellos, son metabolitos secundarios.

Por otro lado, la distinción entre ambos tipos es difusa en ocasiones si tenemos en cuenta que las biosíntesis de muchos de ellos comparten numerosos intermediarios que derivan de las mismas rutas metabólicas. Por lo tanto, la diferenciación entre metabolitos primarios y secundarios puede no ser del todo adecuada. Las principales rutas de biosíntesis de metabolitos secundarios derivan del metabolismo primario del carbono.

Es importante destacar que también reciben la denominación de productos naturales y tienen un importante y significativo valor medicinal y económico, derivado éste último de su uso en la industria cosmética, alimentaria, farmacéutica.

Un gran número de estos productos naturales, que ya se usaban en la medicina antigua como remedios para combatir enfermedades, se utilizan en la actualidad como medicamentos, resinas, gomas, potenciadores de sabor, aromas, colorantes, etc.

Se agrupan en cuatro clases principales.

- a. Terpenos: Entre los que se encuentran hormonas, pigmentos o aceites esenciales.
- b. Compuestos fenólicos: Cumarinas, flavonoides, lignina y taninos.
- c. Glicósidos: Saponinas, glicósidos cardíacos, glicósidos cianogénicos y glucosinolatos.
- d. Alcaloides.

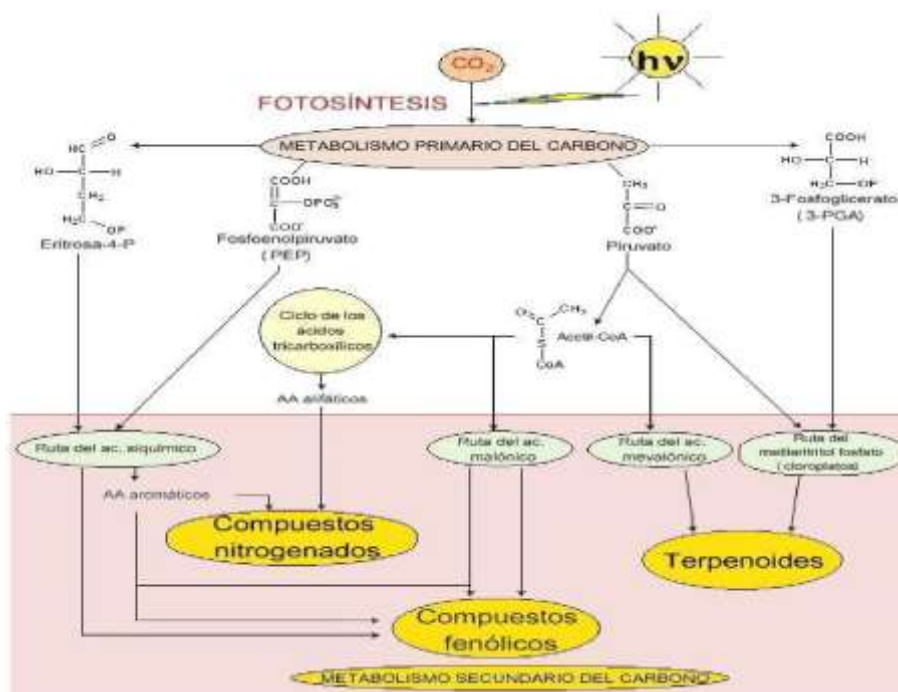


Figura 175. Elementos del metabolismo del carbono en relación con las rutas de síntesis de metabolitos secundarios.

Metabolismo secundario, este término agrupa a todas las reacciones bioquímicas y productos (metabolitos secundarios) que no son indispensables para la supervivencia del ser vivo. A diferencia del primario, que se halla casi invariable en toda la naturaleza, el secundario presenta una gran variabilidad. En el siguiente esquema simplificado se muestra la interconexión existente entre el metabolismo primario y secundario, en este caso los metabolitos secundarios se dividen a grandes rasgos y considerando únicamente los grupos de mayor importancia, en tres grupos: compuestos terpenicos, compuestos fenólicos y compuestos con nitrógeno.

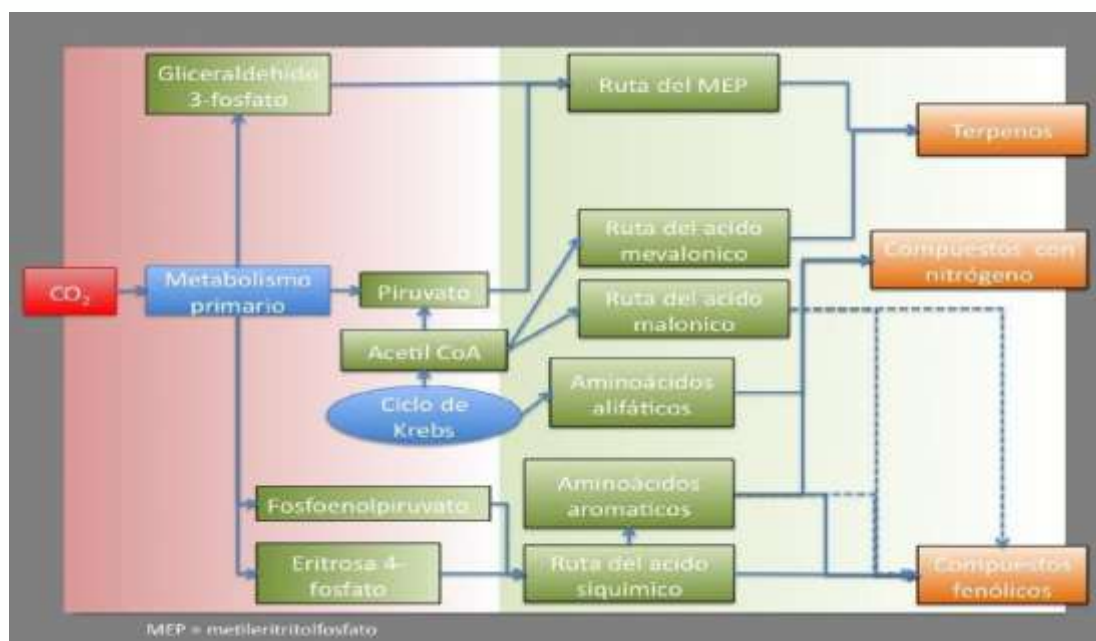


Figura 176. Metabolismo secundario.

En él también puede distinguirse que las siguientes rutas: ruta del MEP (metileritritolfaosfato), ruta del MVA (ácido mevalónico), ruta del ácido malónico y la ruta del ácido siquímico (en inglés shikimico). Es igual de importante la participación de aminoácidos tanto alifáticos como aromáticos, ya que son la fuente biosintética principal de nitrógeno.

Cada una de estas vías está relacionada de la siguiente manera con el metabolismo primario:

La ruta del ácido siquímico, es originada por el fosfoenolpiruvato y la eritrosa-4-fosfato, su vez este ácido es precursor de los aminoácidos aromáticos.

Los aminoácidos alifáticos son obtenidos a partir del ciclo de krebs (ciclo del ácido cítrico).

Las rutas malónica y mevalónica, a partir de la Acetil-CoA.

La ruta MEP se origina del piruvato y del gliceraldehido-3-fosfato.

Las relaciones existentes entre estas rutas y los grupos de metabolitos secundarios son las siguientes:

Los compuesto terpenoides se biosintetizan por las rutas MEP o MVA.

Los compuestos fenólicos por la ruta del ácido siquímico, a partir los aminoácidos aromáticos o por la ruta del ácido malónico. Estas vías pueden actuar solas o combinarse de las siguientes maneras: ruta ácido siquímico-aminoácidos aromático y aminoácidos aromáticos-ruta ácido malónico.

Los compuestos de nitrógeno fundamentalmente provienen de los aminoácidos aromáticos y/o alifáticos.

En el siguiente esquema se muestra de manera más detallada los metabolitos secundarios y las rutas metabólicas que le dan origen. Sin embargo, en este caso ya se detallan algunos ejemplos de grupos de metabolitos, los cuales desarrollare detalladamente en futuras entradas.

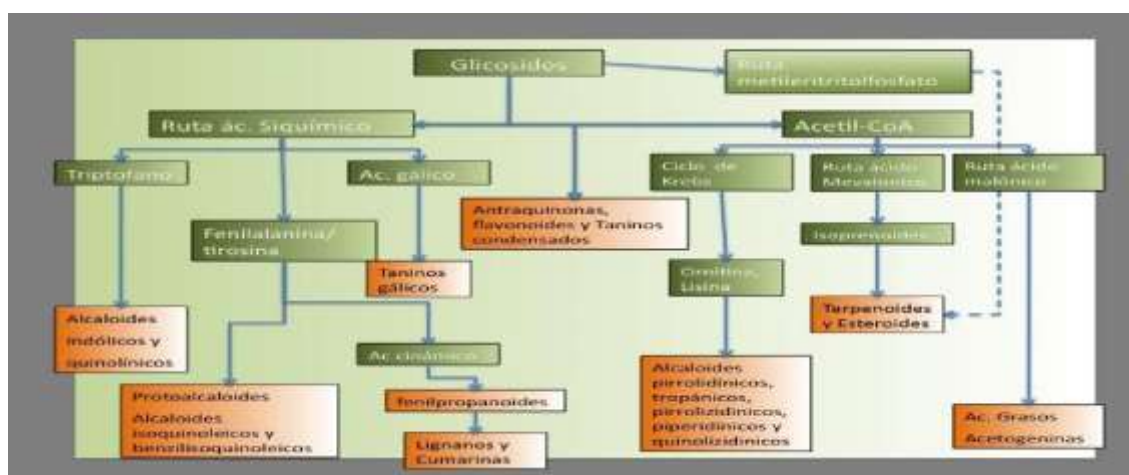


Figura 177. Rutas metabólicas de los metabolitos secundarios.

Ahora ya es posible distinguir como aminoácidos alifáticos precursores al triptófano, lisina y a la ornitina y como aminoácidos aromáticos a la fenilamina y a la tirosina. A la par ya podemos reconocer nuevos intermediarios como el ácido gálico, ácido cinámico y los isoprenoides.

Ahora bien, los grupos de metabolitos secundarios que ahora se presentan de manera más detallada pueden ser reordenados según la clasificación anterior de la siguiente manera:

Compuestos terpenoides: **Terpenos y esteroides.**

Compuestos fenólicos: **fenilpropanoides, lignanos, cumarinas, taninos gálicos, antraquinonas, flavonoides y taninos condensados.**

Compuestos con nitrógeno: **alcolides indólicos, quinolínicos, pirrolidínicos, tropánicos, pirrodizilínicos, piperidínicos y quinolizidínicos; protoalcaloides isoquinoleicos y benzilisoquinoleicos.**

Adicionalmente, no todos los grupos se ajustan a esta clasificación, un ejemplo de ello son las acetogeninas.

TERPENOS O TERPENOIDES. Son grupos de 5C

Los **terpenoides**, algunas veces referidos como **isoprenoides**, son una vasta y diversa clase de compuestos orgánicos similares a los terpenos. El nombre proviene de que los primeros miembros de esta clase fueron derivados del aguarrás ("turpentine" en inglés, "terpentin" en alemán). Los terpenoides pueden verse como formados por unidades de 5-carbono isopreno (pero el precursor es el isopentenil difosfato), ensambladas y modificadas de muchas maneras diferentes, siempre basadas en el esqueleto del isopentano. La mayoría de los terpenoides tiene estructuras multicíclicas, las cuales difieren entre sí no sólo en grupo funcional sino también en su esqueleto básico de carbono. Los monómeros generalmente son referidos como "unidades de isopreno" porque la descomposición por calor de muchos terpenoides da por resultado ese producto; y porque en condiciones químicas adecuadas, se puede inducir al isopreno a polimerizarse en múltiplos de 5 carbonos, generando numerosos esqueletos de terpenoides. Por eso se relaciona a los terpenoides con el isopreno, si bien se sabe ya desde hace más de 100 años que el isopreno no es el precursor biológico de esta familia de metabolitos.

Estos lípidos se encuentran en toda clase de seres vivos, y son biosintetizados en las plantas, donde son importantes en numerosas interacciones bióticas (Goodwin 1971). En las plantas los terpenoides cumplen muchas funciones primarias: algunos pigmentos carotenoides son formados por terpenoides, también forman parte de la clorofila y las hormonas giberelina y ácido abscísico. Los terpenoides también cumplen una función de aumentar la fijación de algunas proteínas a las membranas celulares, lo que es conocido como isoprenilación. Los esteroides y esteroles son producidos a partir de terpenoides precursores.

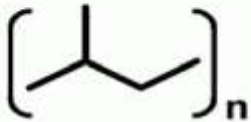
Los terpenoides de las plantas son extensamente usados por sus cualidades aromáticas. Juegan un rol importante en la medicina tradicional y en los remedios herbolarios, y se están investigando sus posibles efectos antibacterianos y otros usos farmacéuticos. Están presentes, por ejemplo, en las esencias del eucalipto, los sabores del clavo y el jengibre. También en el citral, mentol, alcanfor, y los cannabinoides.

La biosíntesis de los terpenoides en las plantas es a través de la vía del ácido mevalónico. Los terpenos son hidrocarburos que pueden verse como una combinación de numerosas unidades isopreno, por lo general unidas de forma cabeza-cola, pero también pueden darse combinaciones cabeza-cabeza y algunos compuestos están formados por uniones cabeza-medio. Los terpenoides pueden ser considerados como terpenos modificados donde grupos metilo han sido reacomodados o removidos, o a los que se les han añadido átomos de oxígeno. Algunos autores usan el término terpeno para referirse a los terpenoides.

La clasificación de los terpenoides según su estructura química, es similar a la de los terpenos, los cuales son clasificados en base al número de unidades isopreno presentes y en el caso de los triterpenoides, si están ciclados. Se los clasifica en:

Clasificación:

- Hemiterpenoide (5) Isopreno
- Monoterpenos (10C) -> aceites esenciales
- Sesquiterpenos (15C) -> aceites esenciales
- Diterpenos (20C) -> giberelinas -
- Triterpenos (30C) -> esteroides
- Tetraterpenos (40C) -> carotenoides
- Politerpenos -> caucho

| ISOPRENOID = Terpenoid | | | |
|---|-----|----------------|--|
|  | | | |
| n | | | |
| 1 | C5 | Hemiterpene: | Isoprene |
| 2 | C10 | Monoterpene: | Essences of flowers, herbs, spices |
| 3 | C15 | Sesquiterpene: | Side chain of chlorophyll, vitaminE, phytohormone (gibberellin), taxol |
| 4 | C20 | Diterpene: | Essential oils |
| 6 | C30 | Triterpene: | Phytosterols, Brassinosteroids |
| 8 | C40 | Tetraterpene: | Carotenoids |
| >8 | >40 | Polyterpene: | Ubiquinone, Rubber, Dolichol |
| | | Meroterpene: | Cytokinins, Prenylated proteins |

Los terpenos, o terpenoides, constituyen el grupo más numeroso de metabolitos secundarios (más de 40.000 moléculas diferentes). La ruta biosintética de estos compuestos da lugar tanto a metabolitos primarios como secundarios de gran importancia para el crecimiento y supervivencia de las plantas. Entre los metabolitos primarios se encuentran hormonas (giberelinas, ácido abscísico y citoquininas), carotenoides, clorofilas y plastoquinonas (fotosíntesis), ubiquinonas (respiración) y esteroides (de gran importancia en las estructuras de membranas).

Suelen ser insolubles en agua y derivan todos ellos de la unión de unidades de isopreno (5 átomos de C) (Fig. 5). De esta forma, los terpenos se clasifican por el número de unidades de isopreno (C₅) que contienen: los terpenos de 10 C contienen dos unidades C₅ y se llaman monoterpenos; los de 15 C tienen tres unidades de isopreno y se denominan sesquiterpenos, y los de 20 C tienen cuatro unidades C₅ y son los diterpenos. Los triterpenos tienen 30 C, los tetraterpenos tienen 40 C y se habla de politerpenos cuando contienen más de 8 unidades de isopreno.

□ **Hemiterpenoides.** Los terpenoides más pequeños, con una sola unidad de isopreno. Poseen 5 carbonos. El hemiterpenoide más conocido es el isopreno mismo, un producto volátil que se desprende de los tejidos fotosintéticamente activos.

Se sintetizan a partir de metabolitos primarios por dos rutas: la del ácido mevalónico, activa en el citosol, en la que tres moléculas de acetil-CoA se condensan para formar ácido mevalónico que reacciona hasta formar isopentenil difosfato (IPP), o bien la ruta del metileritritol fosfato (MEP) que funciona en cloroplastos y genera también IPP. El isopentenil bifosfato y su isómero dimetilalil difosfato (DMAPP) son los precursores activados en la biosíntesis de terpenos en reacciones de condensación catalizadas por prenil transferasas para dar lugar a prenil bifosfatos como geranil difosfato (GPP), precursor de monoterpenos, farnesil difosfato (FPP) precursor de sesquiterpenos y geranylgeranyl difosfato (GGPP) precursor de diterpenos.

El grupo de los terpenos, como antes se menciona, incluye hormonas (giberelinas y ácido abscísico), pigmentos carotenoides (carotenos y xantofilas), esteroides (ergosterol, sitosterol, colesterol), derivados de los esteroides (glicósidos cardiacos), latex y aceites esenciales (proporcionan el olor y el sabor característico de las plantas).

Aunque las citoquininas y las clorofilas no son terpenos, contienen en su estructura una cadena lateral que es un terpeno. A la vista de esta variedad de compuestos, es evidente que muchos terpenos tienen un importante valor fisiológico y comercial.

Muchos terpenoides son comercialmente interesantes por su uso como aromas y fragancias en alimentación y cosmética, o por su importancia en la calidad de productos agrícolas. Otros compuestos terpenoides tienen importancia medicinal por sus propiedades anti carcinogénicas, antiulcerosas, antimalaricales, antimicrobianas, etc.

Muchas plantas (limón, menta, eucalipto o tomillo) producen mezclas de alcoholes, aldehídos, cetonas y terpenoides denominadas aceites esenciales, responsables de los olores y sabores característicos de estas plantas, algunos de los cuales actúan como repelentes de insectos o insecticidas.

□ **Monoterpenoides.** Terpenoides de 10 carbonos. Llamados así porque los primeros terpenoides aislados del aguarrás en los 1850s, fueron considerados la unidad base, a partir de la cual se hizo el resto de la nomenclatura. Los monoterpenos son mejor conocidos como componentes de las esencias volátiles de las flores y como parte de los aceites esenciales de hierbas y especias, en los que ellos forman parte de hasta el 5% en peso de la planta seca.

Los terpenos que se encuentran en los aceites esenciales son generalmente **monoterpenos**, como el limoneno y el mentol, principales monoterpenos constituyentes de los aceites de limón y menta, respectivamente. El merol, geraniol, limoneno, mentol, pineno, (tienen interacción planta/planta = alelopatía). Un terpeno es el Isopentenil Pirofosfato (IPP).

En cítricos se produce pineno, limoneno y citronelol, que inhiben el crecimiento de *amaranthus setiflorus*.



Figura 178. Estructura química de los monoterpenos limoneno y mentol.

El insecto que come solo a *Himatantus sucuuba* (Bellaco caspi) produce terpenos para defensa del animal.

Los piretroides de hojas flores de crisantemo tienen acción insecticida

Por otra parte, la resina de ciertas coníferas contiene monoterpenos tales como pineno, limoneno, mirceno que actúan como insecticidas. Más aún en el caso

de los metabolitos pineno y piretrina. Hortela, limón, salvia y otros tienen aceites esenciales volátiles que repelen insectos) los aceites se concentran en pelos glandulares.

- **Sesquiterpenoides.** Terpenoides de 15 carbonos (es decir, terpenoides de un monoterpenoide y medio). Como los monoterpenoides, muchos sesquiterpenoides están presentes en los aceites esenciales. Además muchos sesquiterpenoides actúan como fitoalexinas, compuestos antibióticos producidos por las plantas en respuesta a la aparición de microbios, y como inhibidores de la alimentación ("antifeedant") de los herbívoros oportunistas. La hormona de las plantas llamada ácido abscísico es estructuralmente un sesquiterpeno, su precursor de 15 carbonos, la xantosina, no es sintetizada directamente de 3 unidades isopreno sino producida por un "cleavage" asimétrico de un carotenoide de 40 unidades.

El **ácido abscísico** es un sesquiterpeno que actúa como hormona vegetal, inhibiendo el crecimiento, induciendo la dormancia de yemas y semillas, actuando en el estrés hídrico.

Las lactonas son agentes antiherbivoras, de sabor amargo.

Gossipol, en el algodón confiere resistencia a virus, hongos y bacterias.

- **Diterpenoides.** Terpenoides de 20 carbonos. Entre ellos se incluye el fitol, que es el lado hidrofóbico de la clorofila, las hormonas giberelinas, los ácidos de las resinas de las coníferas y las especies de legumbres, las fitoalexinas, y una serie de metabolitos farmacológicamente importantes, incluyendo el taxol, un agente anticáncer encontrado en muy bajas concentraciones (0,01% de peso seco) en la madera del tejo ("yew"), y forskolina, un compuesto usado para tratar el glaucoma. Algunas giberelinas tienen 19 átomos de carbono por lo que no son consideradas diterpenoides porque perdieron un átomo de carbono durante una reacción de "cleavage".

Las giberelinas y el fitol, son diterpenos, el fitol es de cadena abierta que forma parte de la estructura de las clorofilas. Las giberelinas inducen el alargamiento celular, la floración y la germinación de semillas. También hay resinas como el ácido abiético en leguminosas arbóreas → agentes anti-herbívoros. Forbol en Euforbiáceas que es irritante a la piel. Taxol → del *Taxus brevifolia* que es una conífera nativa del noroeste del Pacífico en Norteamérica, que es anticancerígeno.

- **Triterpenoides.** Terpenoides de 30 carbonos. Son por lo general generados por la unión cabeza-cabeza de dos cadenas de 15 carbonos, cada una de ellas formada por unidades de isopreno unidas cabeza-cola. Esta gran clase de moléculas incluye a los brassinoesteroides, componentes de la membrana que son fitoesteroles, algunas fitoalexinas, varias toxinas y "feeding deterrents", y componentes de las ceras de la superficie de las plantas, como el ácido oleanólico de las uvas.

Tetraterpenoides. Terpenoides de 40 carbonos (8 unidades de isopreno). Los tetraterpenos más prevalentes son los pigmentos carotenoides accesorios que cumplen funciones esenciales en la fotosíntesis. Carotenoides (Xantofilas que poseen uno o más átomos de oxígeno en su estructura y carotenos). Son precursores de Vitamina A. son de color amarillo, naranja, anaranjada. Son moléculas que actúan como antenas en la fotosíntesis.

Entre los **Triterpenos** se encuentran esteroides y esteroles derivados de escualeno, una molécula de cadena lineal de 30 C de la que derivan todos los triterpenos cíclicos, los esteroides que contienen un grupo alcohol, y es el caso de casi todos los esteroides vegetales, se denominan esteroles. Los más abundantes en plantas son el estigmasterol y el sitosterol, que sólo difiere del estigmasterol en la ausencia del doble enlace entre C 22 y C 23.

La principal función de los esteroles en plantas es formar parte de las membranas celulares y determinar su viscosidad y su estabilidad. Algunos esteroles tienen funciones protectoras frente a insectos como en el caso de la ecdisoma aislada del helecho común. Inhiben la entrada de sustancias pequeñas (afecta la permeabilidad).

Los Brasinoesteroides son hormonas vegetales que estimulan el crecimiento vegetal, la elongación celular aumentando la actividad de auxinas, promoviendo la actividad de auxinas.

Fitoalexinas → semejante a hormonas de los insectos, compite por el mismo sitio de acción de hormonas de los insectos, pueden llevar a la muerte de esos insectos.

Limonoides. Sabor amargo → en frutos de cítricos.

Cardenolideos.- Contra herbívoros vertebrados. ↑dosis es tóxico para el hombre. ↓dosis tienen efectos farmacológicos. Activan bomba de Na^+/K^+ ATPasa del músculo cardíaco regulando las palpitaciones cardiacas.

Digitalideos. De planta digitalis. Un aumento de dosis mata y parece muerte natural.

Yamogenina. De la planta Inhame (Dioscoreáceae), a partir del cual se sintetiza compuestos de progesterona, se fabrica anticonceptivos.

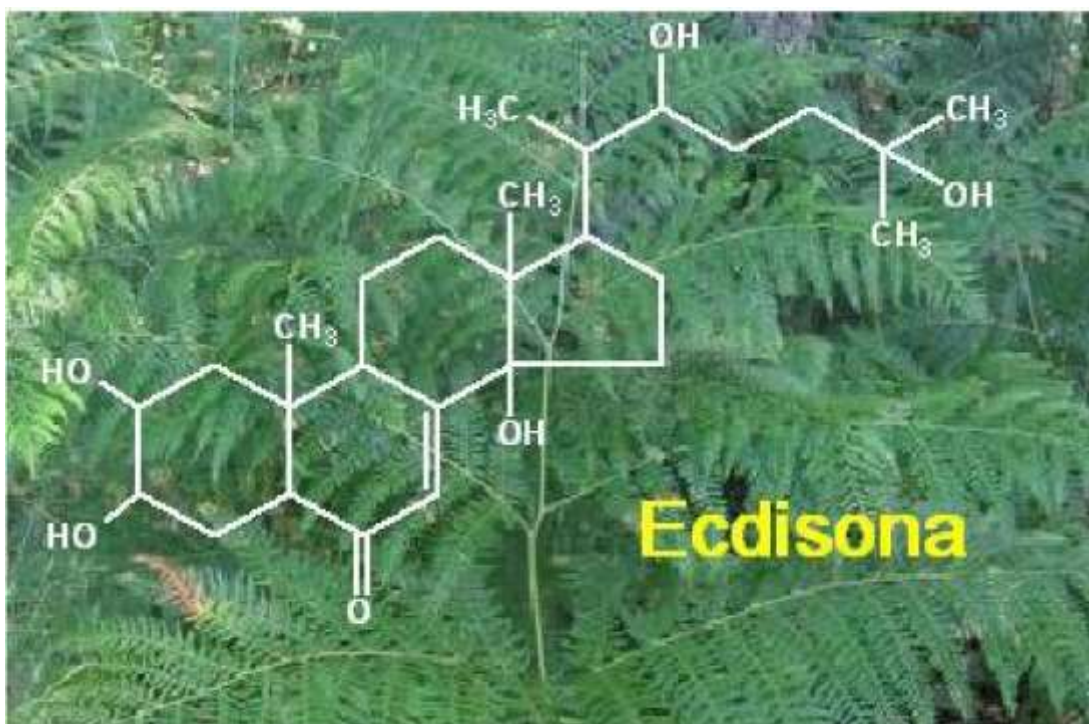


Figura 179. Estructura química de la ecdisona.

Los limonoides también son triterpenos, las sustancias amargas de los cítricos que actúan como antiherbívoros. Un limonoide de los más poderosos repelentes de insectos es la azadiractina que se usa en la industria alimentaria y en agronomía para el control de plagas.

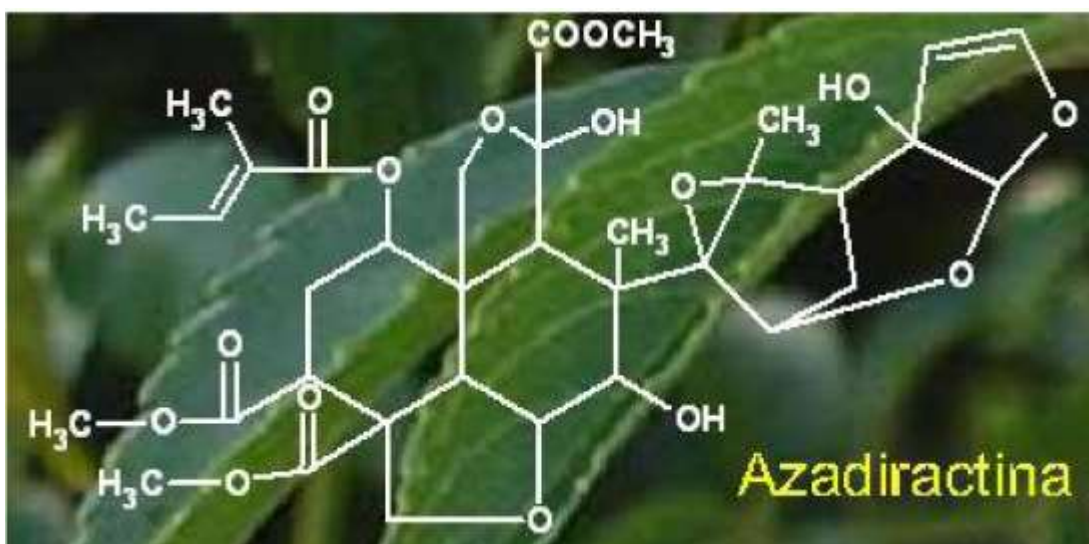


Figura 180. Estructura química de la azadiractina.

Entre los triterpenos se encuentran algunos esteroides en forma de glicósidos. Estos glicósidos esteroideos, con importantes funciones en medicina y en la industria (cardenólidos y saponinas), se consideran más adelante en el apartado de glicósidos.

□ **Politerpenoides**, que contienen más de 8 unidades de isopreno, incluyen a los "prenylated quinone electron carriers" como la plastoquinona y la ubiquinona, también poliprenoles de cadena larga relacionados con las reacciones de transferencia de azúcares (por ejemplo el dolicol), y también la enormemente largos polímeros como el "rubber" o —caucholl, usualmente encontrado en el látex.

Los terpenos de mayor tamaño son **politerpenos**, entre los que se encuentran los hidrocarburos de alto peso molecular caucho y gutapercha (politerpenos o poliisoprenoides).

El caucho (cis-1,4-poliisopreno), constituido por entre unos 1500 y 60000 residuos de isopreno (unidades de Isopentenilpirofosfato) aproximadamente y la gutapercha (guta, la misma estructura del caucho, algo menor de tamaño, y con los dobles enlaces en configuración trans,) se acumulan en forma de partículas en el látex cuya composición es 30-40% caucho, 50% agua resultando una mezcla compleja de terpenos, resinas, proteínas y azúcares. Es una molécula muy grande. Se us para cicatrización de heridas, defensa contra herbívoros.

En la mayoría de las plantas el látex se produce en el floema y se acumula en vasos largos e interconectados denominados laticíferos. La escisión de la corteza permite la exudación del látex. La principal fuente de caucho para fines comerciales es *Hevea brasiliensis* (árbol nativo del bosque tropical amazónico). La principal fuente de guta es el arbusto desértico *Parthenium argentatum*, el cual no almacena el látex en laticíferos sino en vacuolas del tallo y las raíces.

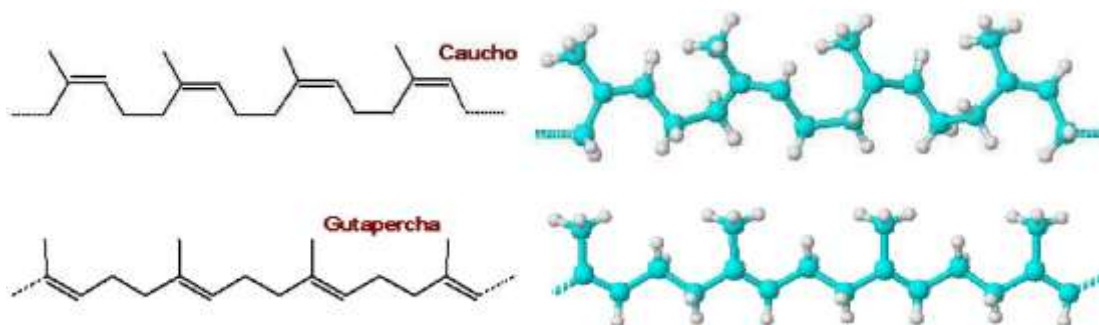


Figura 181. Estructura química del caucho y la guta.

□ **Meroterpenoides**. Así se llama a los metabolitos secundarios de las plantas que tienen orígenes sólo parcialmente derivados de terpenoides. Por ejemplo, tanto las citokininas como numerosos fenilpropanoides contienen cadenas laterales de un isoprenoide de 5 carbonos. Algunos alcaloides, como las drogas anticáncer vincristina y vinblastina, contienen fragmentos terpenoides en sus estructuras. Además algunas proteínas modificadas incluyen una cadena lateral de 15 o 20 carbonos que es un terpenoide, que es el que ancla la proteína a la membrana.

• **Esteroides.** Triterpenos basados en el sistema de anillos ciclopentanoperhidrofenantreno ("cyclopentane perhydro-phenanthrene ring system"). Buchanan *et al.* no los consideran terpenoides.

Origen biosintético

- Etapa 1: Síntesis del isopentenilpirofosfato (IPP): Vía ácido mevalónico (MVA) o vía no de ácido mevalónico o vía de 1-desoxi-D-xilosa-5-fosfato (DOXP).
- Etapa 2: Isomerización del IPP a dimetilalilpirofosfato (DMAPP), adición repetitiva de IPP y DMAPP.
- Etapa 3: Elaboración de moléculas de prenilpirofosfato.
- Etapa 4: Modificaciones enzimáticas de los esqueletos.

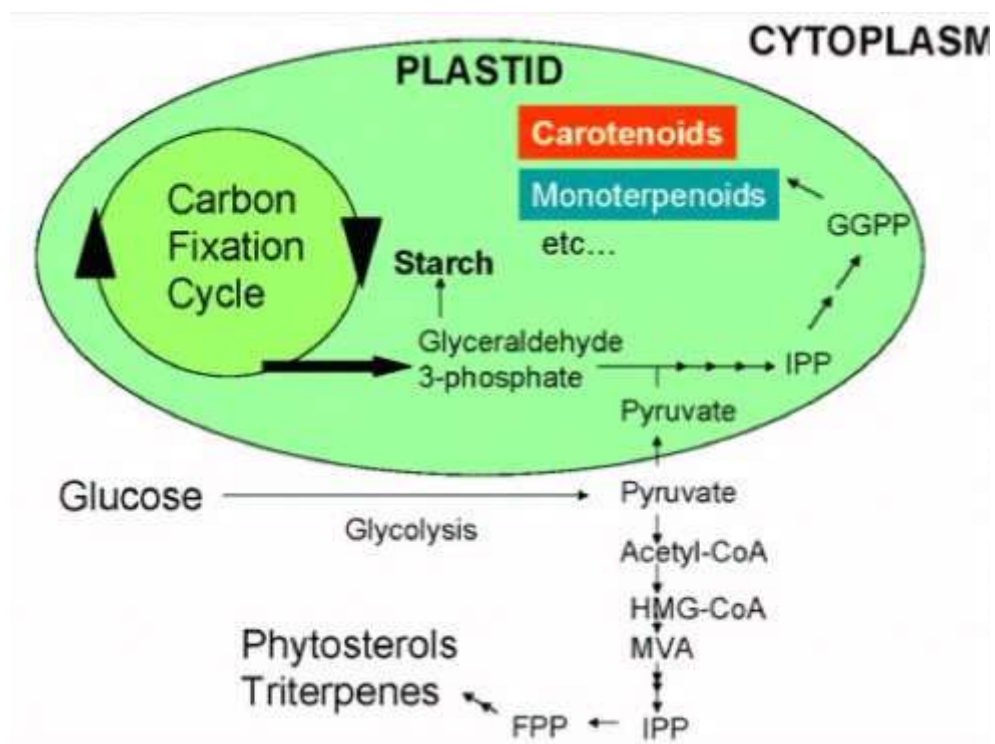


Figura 182. Etapa 1: Síntesis del isopentenilpirofosfato (IPP) vía ácido mevalónico (MVA).

- **Ruta del ácido mevalónico (MVA):** Esta vía opera en el citosol y en el retículo endoplasmático de las plantas y se encuentra también en animales, levaduras, bacterias, hongos, algas y protozoos.

- **Ruta de la 1-desoxi-D-xilulosa-5-fosfato (DOXP):** Se presenta sólo en bacterias, algas verdes, cloroplastos de las plantas y parásitos plasmodium.

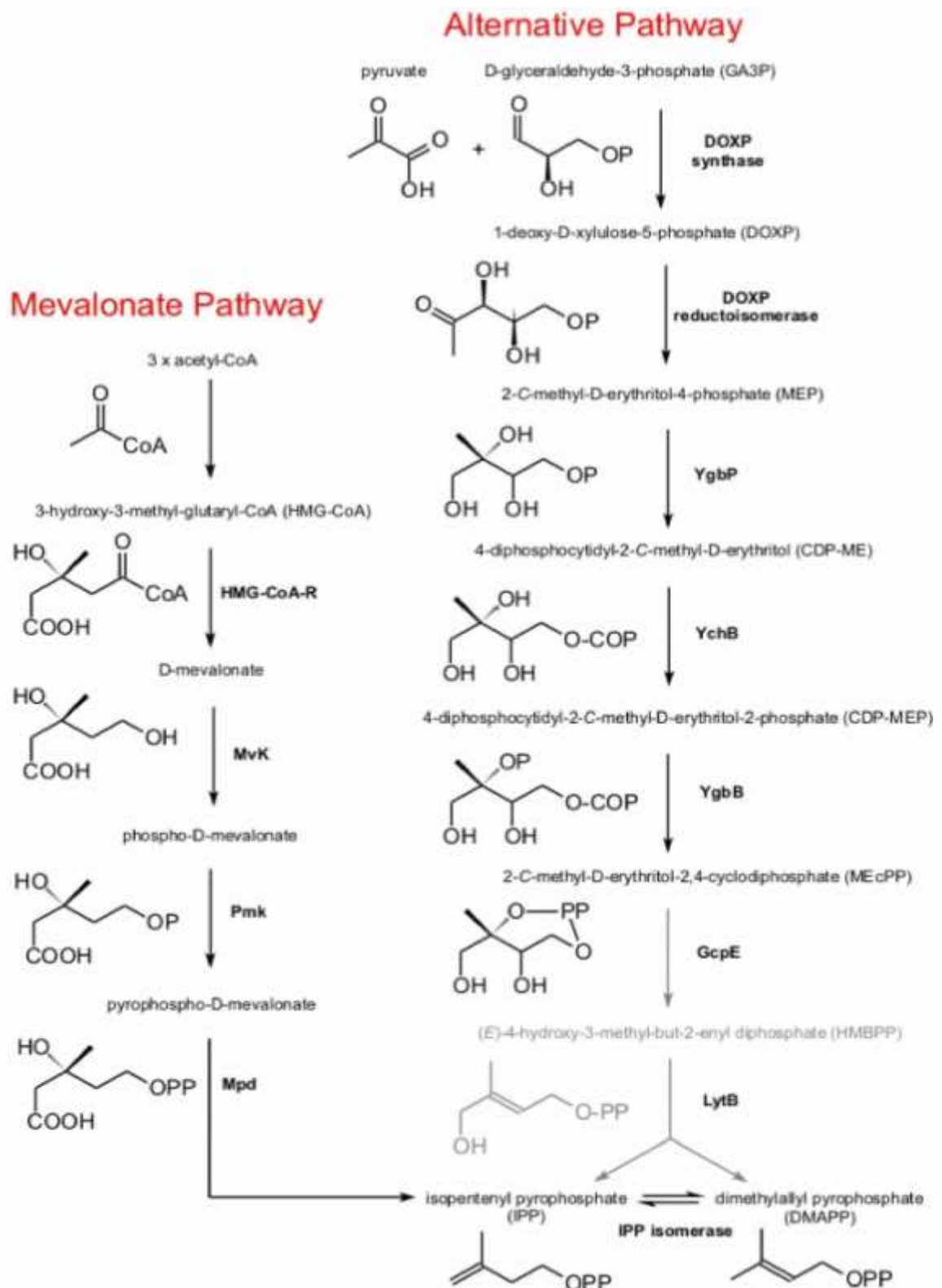


Figura 183. Etapa 2: Isomerización del IPP a dimetilalilpirofosfato (DMAPP), adición repetitiva de IPP y DMAPP.

La IPP isomerasa convierte IPP en DMAPP, éste acepta sucesivos residuos de IPP para formar geranyl pirofosfato (GPP), farnesil pirofosfato (FPP), geranyl geranyl pirofosfato (GGPP). Una prenil transferasa cataliza la transferencia de IPP en un receptor de grupo prenilo vía una sustitución nucleofílica. La isomerización de IPP a DMAPP crea un doble enlace alílico, a partir del cual se generan carbocationes estabilizados por resonancia. La adición repetitiva de IPP a DMAPP tiene lugar mediante diferentes prenil transferasas y esta adición puede ocurrir por reacciones cabeza-cola, cabeza-cabeza o cabeza-centro.

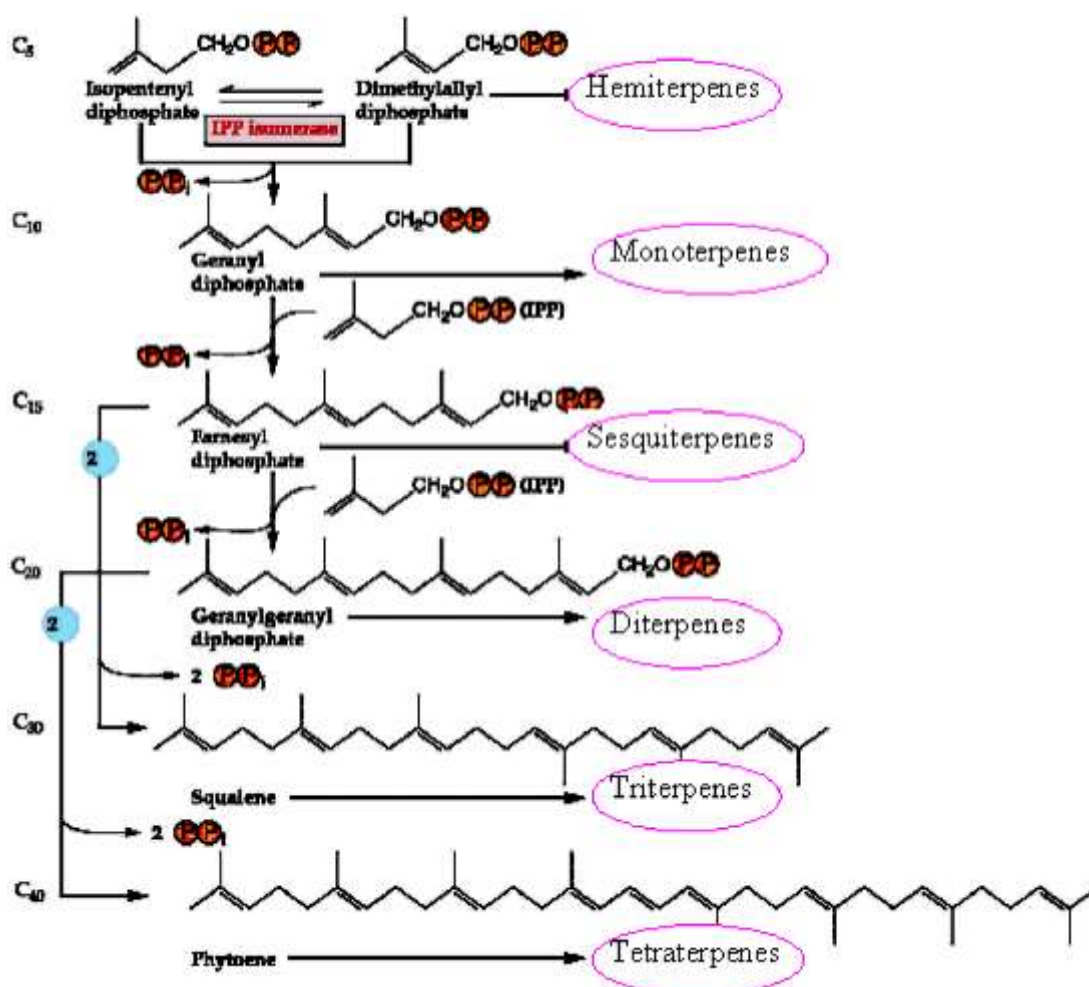


Figura 184. Etapa 3: Elaboración de moléculas de prenilpirofosfato.

Una gran familia de sintetasas es responsable de la conversión de GPP, FPP y GGPP en unidades de isoprenilo que posteriormente darán lugar a todos los terpenoides mediante la intervención de otras sintetasas y ciclasas.

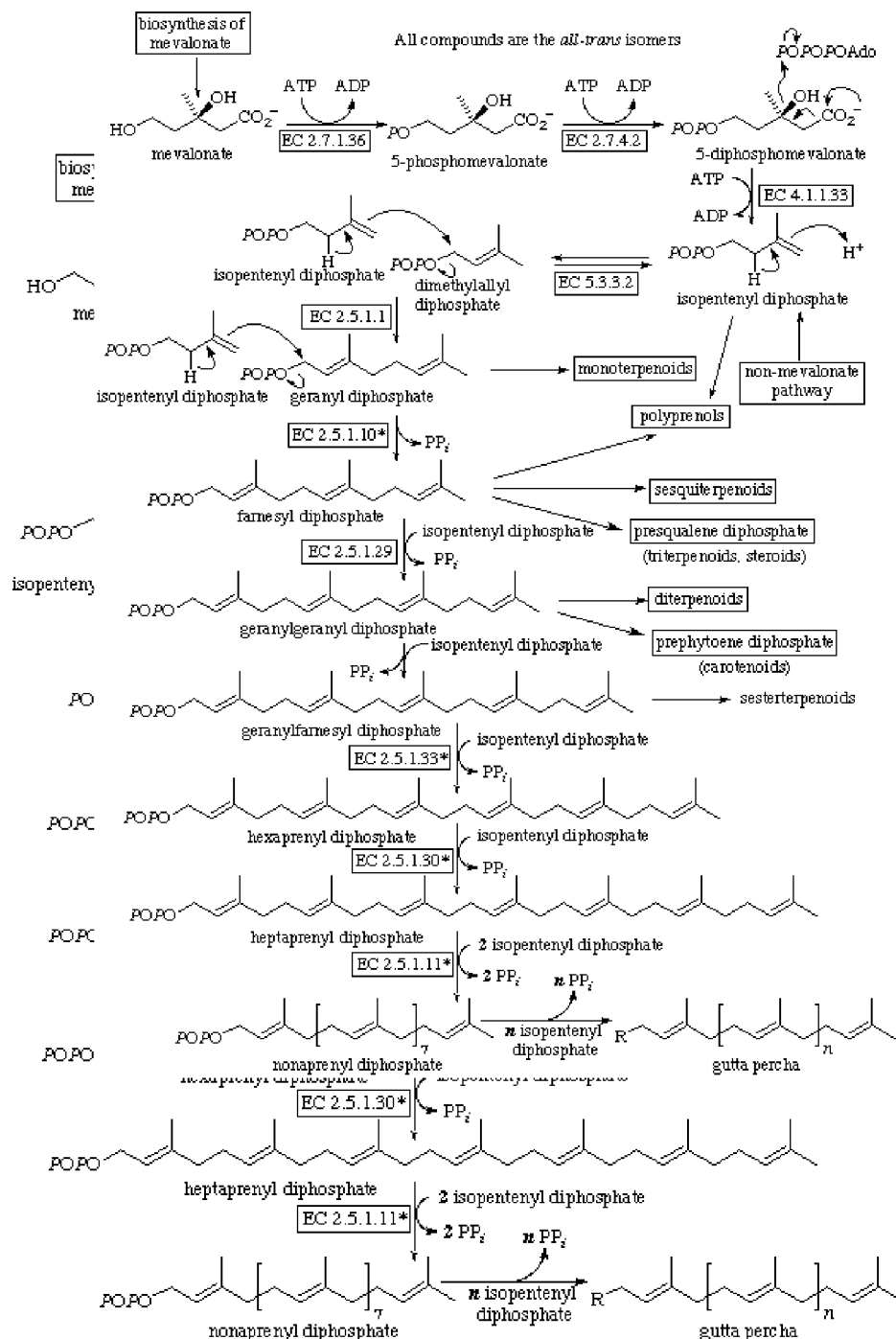


Figura 185. Etapa 4: Modificaciones enzimáticas de los esqueletos.

Monoterpenos (C-10): Los hay como moléculas de cadena abierta y con forma cíclica; se dan por ciclación de GPP mediante la intervención de las monoterpeno sintetasas y en este grupo de productos naturales son frecuentes las excepciones a la regla de unión cabeza-cola (piretrinas).

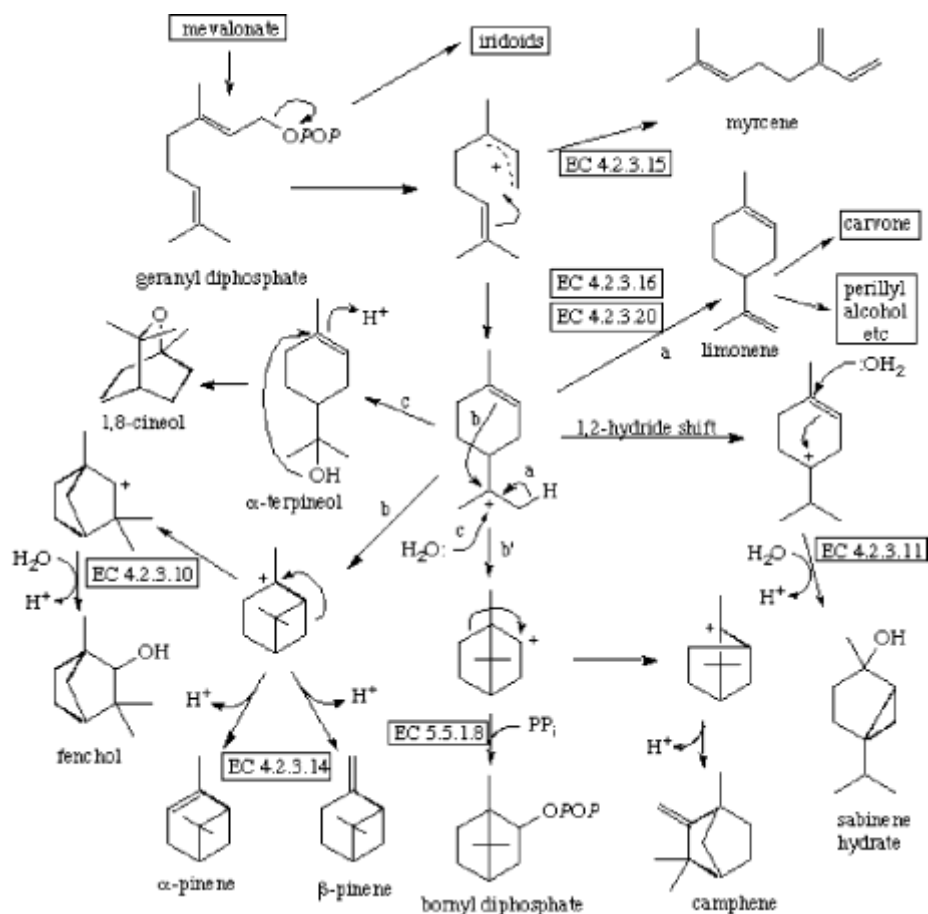


Figura 186. Así aparecen esqueletos monoterpénicos como: mirceno (cadena abierta), cineol, terpineol, fenhol, carveol, etc.

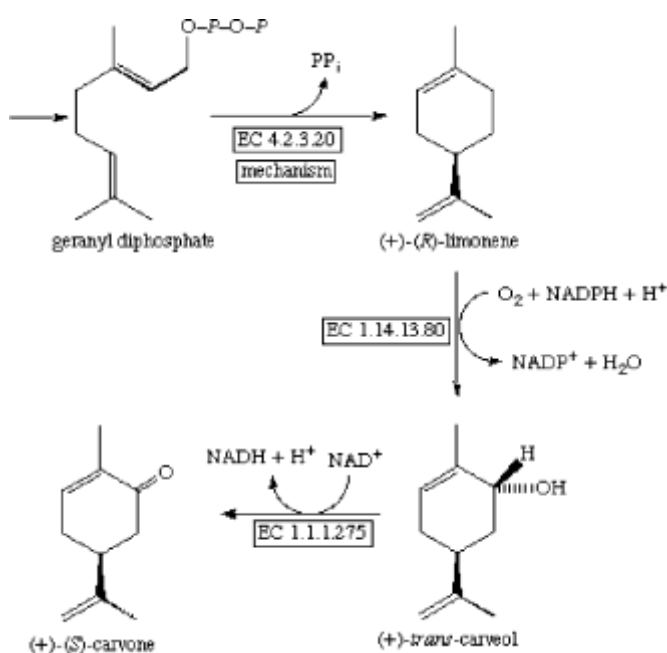


Figura 187. Así aparecen esqueletos monoterpénicos como: mirceno (cadena abierta), cineol, terpineol, fenhol, carveol, etc.

Sesquiterpenos (C-15): Es un amplio grupo de terpenoides que presenta más de 200 estructuras cíclicas diferentes; las ciclación del FPP ocurre por el mismo mecanismo que la ciclación del GPP; los cinco carbonos y el doble enlace adicional permiten un aumento de la flexibilidad de la cadena y la formación de un mayor número de estructuras esqueléticas; muchos de estos sesquiterpenos tienen funciones de defensa en plantas y algunas sesquiterpeno sintetasas con capaces de dar lugar a más de 25 productos diferentes.

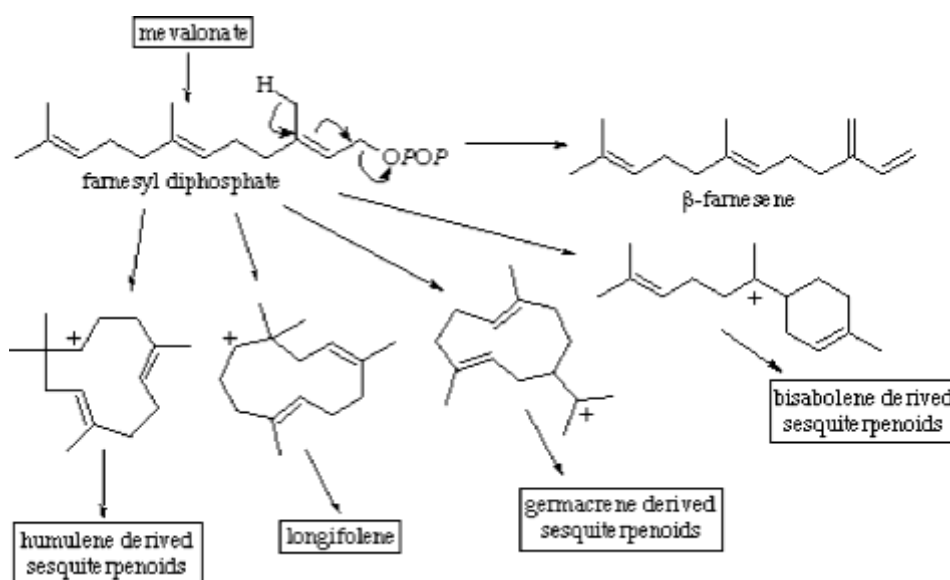


Figura 188. Los esqueletos más frecuentes de sesquiterpenos que se obtienen son: farneseno (cadena abierta), humuleno, longifoleno, germacreno y bisaboleno.

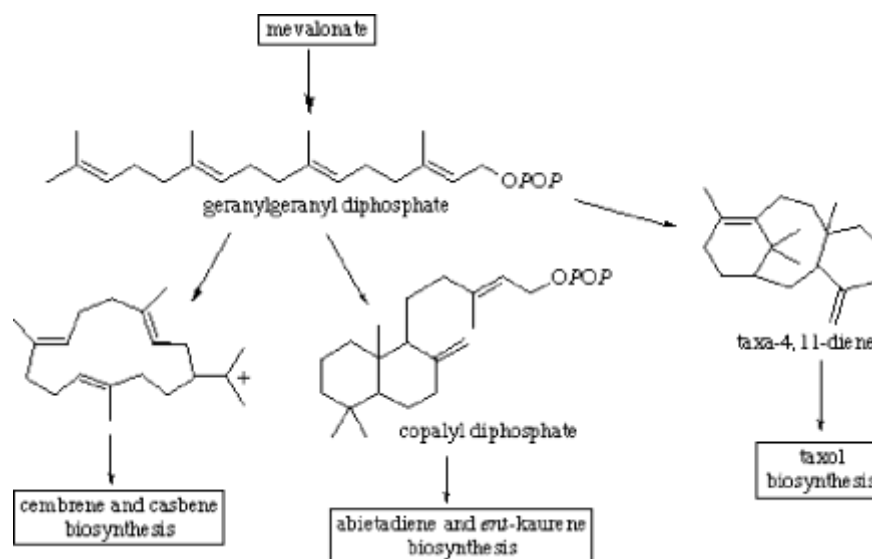


Figura 189. En este grupo de terpenoides se incluyen compuestos con esqueletos de cembreno, casbreno, gibano, abietadieno, ent-kaureno, taxadieno y taxol.

Triterpenos (C-30): Para su formación hay oxidación y uniones cabeza-cabeza; el esquema general será: FPP + FPP \rightarrow escualeno \rightarrow óxido escualeno \rightarrow triterpenos; existen diferentes mecanismos de ciclación y directamente relacionados con ellos se encuentran los esteroides, las hormonas y las sapogeninas.

Tetraterpenos (C-40): Los mecanismos son similares a los de síntesis de triterpenos y su formación ocurre mediante la intervención de la fitoeno sintetasa y el siguiente esquema general: GGPP + GGPP \rightarrow fitoeno \rightarrow carotenoides.

Formación de otros Esqueletos de Isoprenoides

Las terpeno sintetasas dan lugar a esqueletos básicos parentales; raramente las fenil transferasas y las terpenos sintetasas dan productos que sean funcionalmente diferentes. Hay transformaciones secundarias como: oxidación, reducción, isomerización, conjugación, hidroxilación, epoxidación, desmetilación, hidratación etc.

La nomenclatura los diferentes enzimas que catalizan las reacciones biogénicas de los productos naturales viene establecida por el NC-IUBMB (Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology), junto con la normativa para dicha descripción y los nombres de los distintos enzimas que intervienen en los procesos biogénicos que se detallan.

En este apartado final de la biogénesis de isoprenoides se detalla la formación de los compuestos superiores que en muchos casos conlleva la variación de esqueletos.

Epoxidación del escualeno. Biogénesis de lanosterol y cicloartenol: Este proceso comienza con la ciclación del escualeno cuando hay presentes oxígeno molecular, NADPH y las fracciones soluble y microsomal de hígado. La epoxidación del escualeno comienza con la incorporación de oxígeno molecular y es catalizada por una monooxigenasa, concretamente, la escualeno epoxidasa. En la segunda reacción, que ocurre en animales y hongos, interviene la lanosterol sintetasa, una ciclasa que cataliza la ciclación conduce al triterpeno lanosterol. Esta segunda reacción, en plantas transcurre por una vía diferente, es catalizada por la cicloartenol sintetasa y se obtiene el triterpeno cicloartenol.

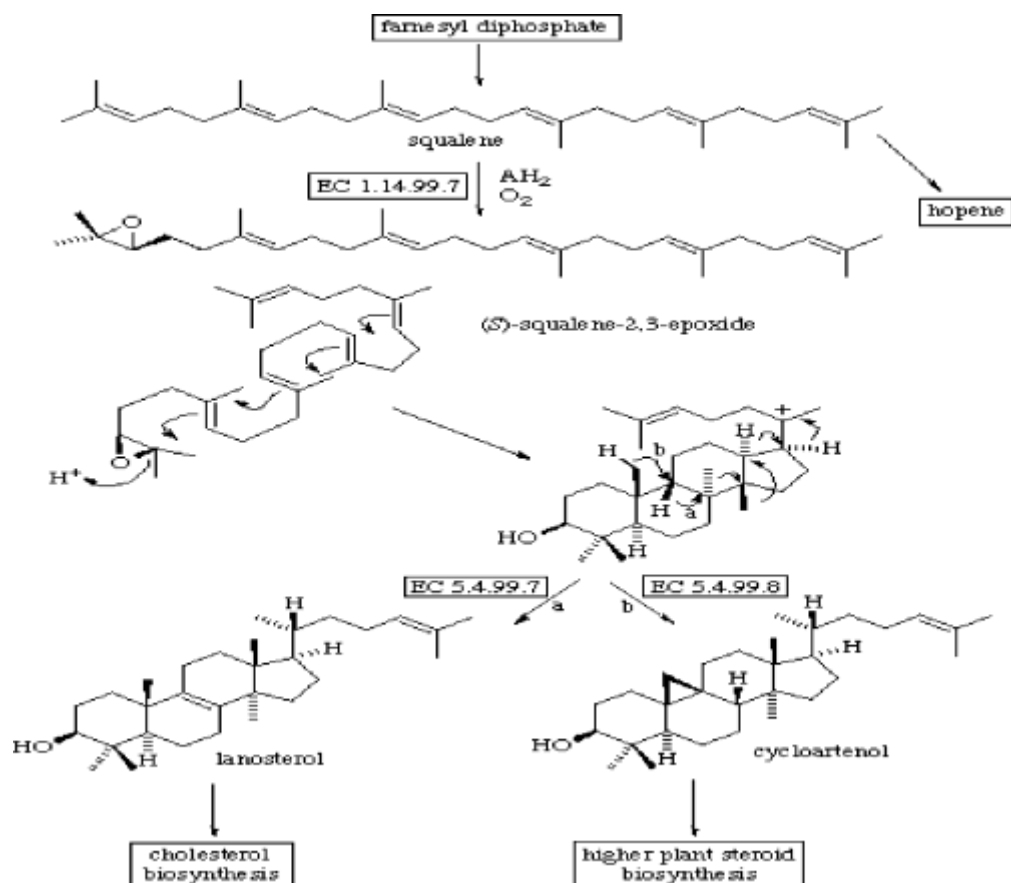


Figura 190. Biogénesis de los distintos esqueletos de triterpenos.

Partiendo del escualeno y por ciclación se forman los diferentes anillos del triterpeno. Así ocurre, por ejemplo para la formación del esqueleto de hopaeno.

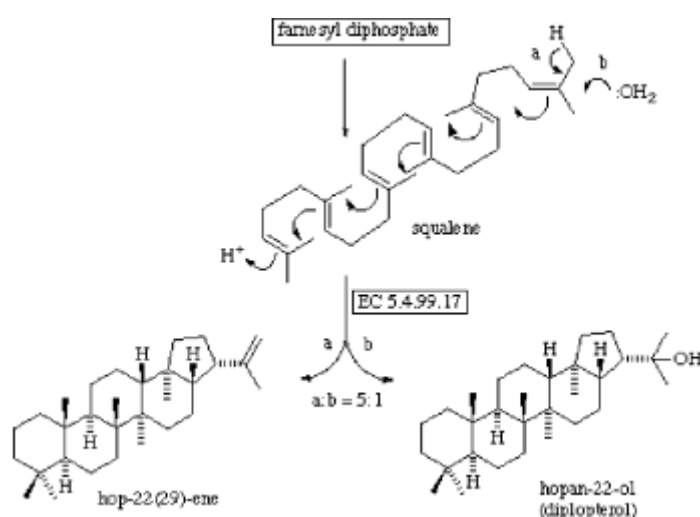


Figura 191. En sendos esquemas se aprecia, además de la formación de otros esqueletos a partir del escualeno, la interrelación entre los diferentes esqueletos triterpénicos.

□ **Biogénesis de colesterol:** El esquema general de la biosíntesis del colesterol parte del acetil-CoA y llega hasta el lanosterol por los esquemas biogénicas antes comentados.

Desde el lanosterol ocurren las siguientes de reacciones que conducen hasta el colesterol: desmetilación, descarboxilación, migración y reducción de dobles enlaces. Esto supone unas modificaciones sobre el esqueleto de lanosterol, se pueden dividir en tres partes diferentes: anillo A, los anillos B, C y D, y en la cadena lateral.

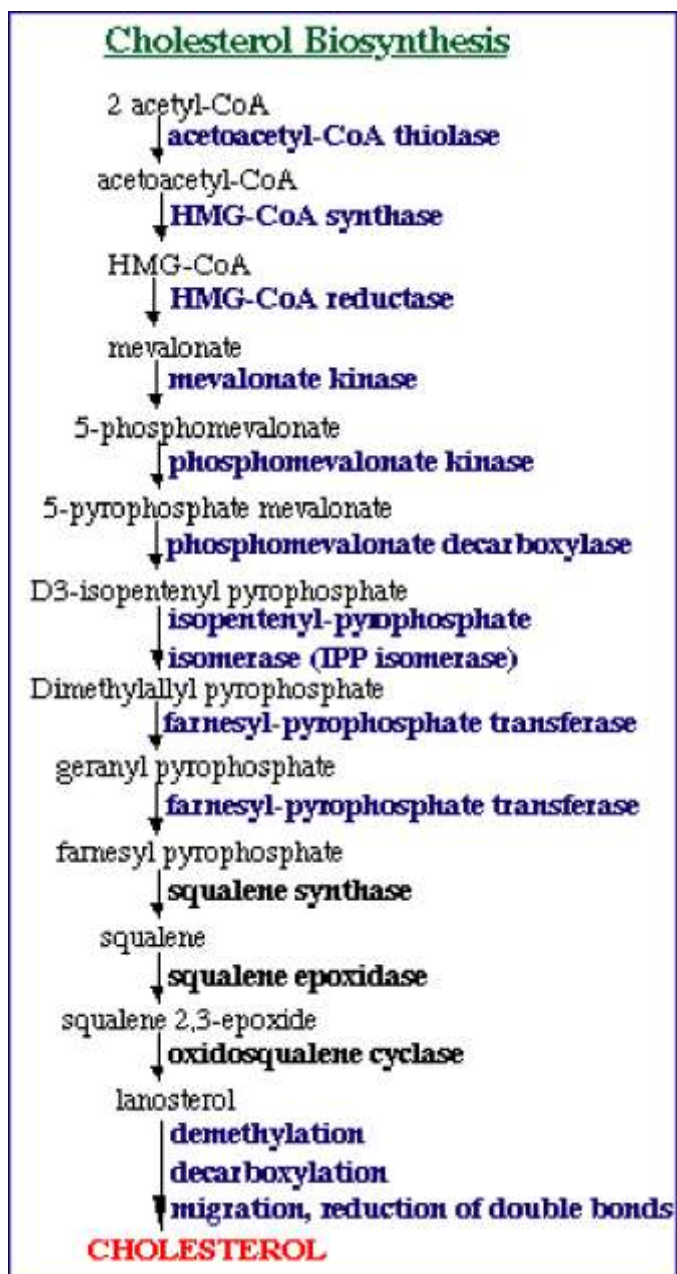


Figura 192. Biosíntesis de colesterol.

- **Biogénesis de esteroides:** Existen tres etapas básicas para la formación de esteroides, la primera, y ya comentada, es la formación de colesterol a partir de acetato, la segunda incluye la producción de compuestos que son precursores inmediatos para formar los esteroides, y la etapa final consiste en ligeras alteraciones para producir los esteroides.

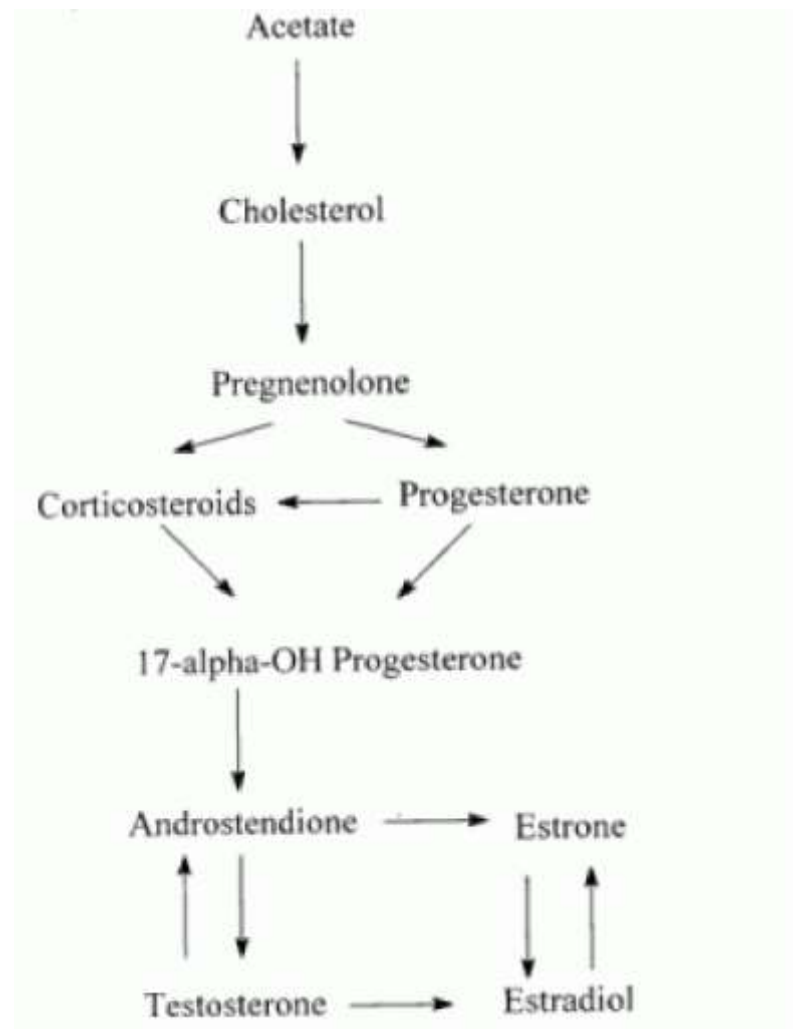


Figura 193. Ruta de síntesis de Testosterona y Estradiol.

El esquema general de la formación de esteroides comienza en el acetato, llega al colesterol y a partir de aquí se forman los estrógenos, los andrógenos y los corticoides adrenales.

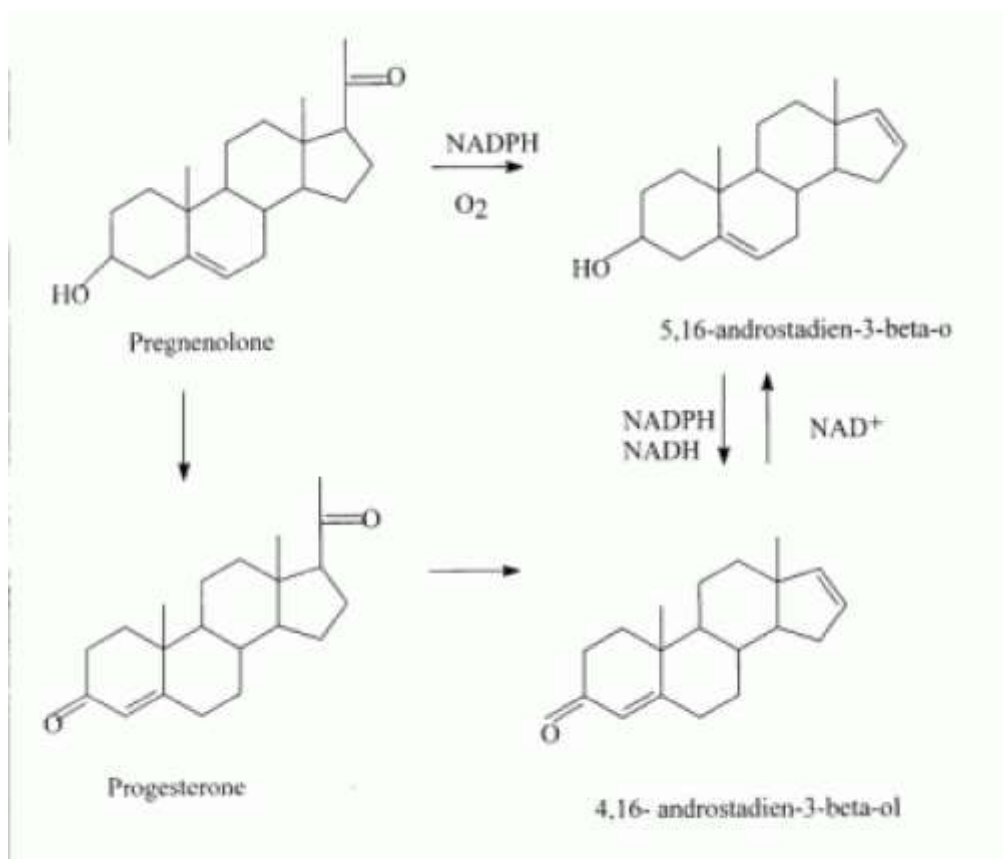


Figura 194. Ruta metabólica de progesterona.

Biogénesis de carotenoides: Los carotenoides son tetraterpenos originados por las vías de mevalonato o de la desoxyxilulosa fosfato y la biogénesis de los diferentes tipos de ello se hace a través de un esquema general. La primera etapa en la vía que conduce a los carotenoides es la formación de fitoeno por la enzima fitoeno sintetasa y a partir de aquí, a través de otros intermedios, que son isomerizados hasta llegar al todo-trans licopeno. Desde este carotenoide todo abierto, se producen ciclaciones y funcionalizaciones que conducen a otros carotenoides como alfa, y delta-caroteno, luteína, crocetina, etc. La formación de retinal, vitamina A, responsable del proceso de visión, tiene lugar a partir los carotenoides por intervención de una beta-caroteno monooxigenasa que divide a la molécula de 40 carbonos mediante una oxidación central.

Funciones

La formación de terpenoides en plantas, animales y microorganismos es hecha por enzimas muy similares, pero hay importantes diferencias en los procesos. En particular, las plantas producen una variedad muchísimo mayor que la que producen los animales o los microbios, y esta diferencia está reflejada en la compleja organización de la biosíntesis de los terpenoides de las plantas al nivel del tejido, celular, subcelular, y genético. La biosíntesis de los terpenoides está compartimentalizada, como también lo está la formación de su precursor el IPP.

La producción de grandes cantidades de terpenoides así como su subsecuente acumulación, emisión o secreción es casi siempre asociada con la presencia de estructuras anatómicamente altamente especializadas. Por ejemplo los tricomas glandulares y las cavidades secretorias de las hojas, y la epidermis glandular de los pétalos generan y almacenan o emiten terpenoides que son aceites esenciales importantes para la polinización por insectos.

Los conductos y ampollas de resina de las coníferas producen y acumulan una resina defensiva consistente en aguarrás ("turpentine", o "monoterpene olefins") y rosina (ácidos resinosos diterpenoides). Las ceras superficiales triterpenoides son formadas y excretadas por una epidermis especializada, y los laticíferos producen ciertos triterpenos y politerpenos como el "rubber". Estas estructuras especializadas secuestran a los metabolitos secundarios lejos de los procesos metabólicos sensibles y así previenen la autotoxicidad. Muchas estructuras de este tipo son no fotosintéticas y por lo tanto dependen de células adyacentes para suplirse del carbono y la energía necesarios para biosintetizar los terpenoides.

Rol de los terpenoides en Botánica Sistemática

Algunos tipos de terpenoides fueron extensamente utilizados en Botánica Sistemática para establecer relaciones de parentesco entre taxones de organismos.³ Algunos de ellos son:

- Los aceites esenciales son característicos de los Magnoliales, Laurales, Austrobaileyales, y Piperales, y también de otros clados poco emparentados con éstos, como Myrtaceae, Rutaceae, Apiaceae, Lamiaceae, Verbenaceae y Asteraceae.
- Las lactonas sesquiterpénicas son conocidas principalmente en las Asteraceae, pero también están presentes en otras familias, como Apiaceae, Magnoliaceae y Lauraceae.
- La betulina es un triterpenoide presente en *Betula papyrifera* y especies relacionadas.
- Las saponinas triterpénicas están presentes en las Apiaceae y Pittosporaceae.
- Los limonoides y cuasinoides son derivados de triterpenoides presentes en Rutaceae, Meliaceae y Simaroubaceae de los Sapindales.

- Los cardenólidos son glicósidos de un esteroide, están presentes en las Ranunculaceae, Euphorbiaceae, Apocynaceae, Liliaceae y Plantaginaceae.
- Los iridoides son derivados de monoterpenoides 9-carbonados o 10-carbonados, y usualmente están presentes como glicósidos. Los secoiridoides están presentes en muchas familias del clado de las astéridas, como Gentianales, Dipsacales, y muchas familias de Cornales y Asterales. Los iridoides carbocíclicos son característicos de los Lamiales, excepto por Oleaceae, Tetrachondraceae y Gesneriaceae.

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANAS DE ALGUNOS TERPENOIDES:

El uso de las plantas con fines terapéuticos en la medicina tradicional es un importante legado que han dejado generaciones anteriores y una parte de la cultura de los pueblos. Existen innumerables sustancias químicas vegetales que pueden considerarse fármacos y son empleados en uno o más países, de las cuales el 74 % fue descubierto a partir de su empleo en medicina tradicional.

Esto nos brinda la oportunidad de encontrar nuevos agentes activos desde el punto de vista farmacológico, a partir de una fuente de materia prima más económica y natural: las Plantas medicinales.

Actualmente es enorme la difusión y popularidad de las terapias vegetales en el mundo. Se aconsejan ya no como alternativas en los servicios de salud, sino como primera intención para diversas afecciones, antes de pasar a otros medicamentos más agresivos.

En este contexto podemos referirnos a numerosos estudios sobre los aceites esenciales, en los cuales se destaca su gran utilidad en diversas áreas tales como la fabricación de los perfumes, productos cosméticos, saborizantes, en la industria farmacéutica, etc. Varios estudios reportan sobre las diferentes actividades biológicas que presentan los aceites esenciales, tales como insecticidas, antioxidante, y efecto antibacteriano.⁶

Si profundizamos un poco podemos mencionar trabajos sobre el aceite esencial de Menta (*Mentha piperita*), Orégano (*Origanum* sp.), Salvia (*Salvia fruticosa*) donde los autores enumeran propiedades tales como carminativo, antiinflamatorio, antiespasmódico, antiemético, analgésico, emenagogo, estimulante, anticatarral, etc. Pero cabe destacar que estos trabajos fueron llevados a cabo utilizando los aceites esenciales y diversos extractos de ellos, es decir, que la actividad biológica no se puede atribuir a un compuesto en particular. Esta actividad biológica de la que hablamos puede variar desde la inhibición completa o parcial del crecimiento microbiano hasta la acción bactericida o fungicida.

Sin embargo según estudios realizados se ha encontrado que la actividad antimicrobiana presentada por los aceites esenciales es debida, en gran medida a la presencia de un tipo de compuestos denominados "terpenoides".

Por otro lado varios estudios han demostrado que los terpenoides son los principales contribuyentes de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales, siguiendo en orden de actividad los terpenoides que contienen grupos alcoholes, luego los que poseen aldehídos y por último los que tienen grupos cetónicos. Por ejemplo, podemos mencionar que el aceite esencial de Lemon grass posee cantidades considerables de α -citral, β -citral, citronelol, citronelal, linalool y geraniol los cuales han mostrado poseer actividad antimicrobiana ante *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aureus*. Otro ejemplo lo presenta el aceite esencial del *Melaleuca alternifolia* (Tea tree) el cual está compuesto, entre otras cosas, por α -terpineol, linalool y terpinen-4-ol y demuestran tener efectiva actividad antimicrobiana.

Sin embargo el mecanismo de acción específico de estos compuestos aún hoy no ha sido claramente caracterizado. Aunque actualmente se propone como posible sitio de acción la membrana celular donde los terpenoides surtirían efecto desencadenando una serie de procesos que podrían arribar a la muerte bacteriana.

Es de mencionar también que en la actualidad la resistencia de los microorganismos a los fármacos existentes tiende a incrementarse, razón por la cual se mantiene el ímpetu en la búsqueda de nuevos agentes antimicrobianos para combatir las infecciones y superar los problemas de resistencia bacteriana y los efectos secundarios de algunos agentes disponibles actualmente.

En tal sentido, lograr que la población disponga de fitofármacos rigurosamente estudiados, es un propósito de muchos investigadores, por ello, en este trabajo se decidió probar la actividad antimicrobiana *in vitro* de un grupo de terpenoides frente a microorganismos gram-positivos y gram-negativos que son causantes de diversas patologías en el hombre. Esto podría llevarnos al desarrollo, a partir de plantas aromáticas, de diferentes formas farmacéuticas con actividad farmacológica definida y colaborar con la gran demanda social de nuevos agentes antibacterianos.

Las bacterias utilizadas fueron *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*.

Para llevar a cabo esta tarea se usó el método de difusión radial en agar utilizando discos embebidos con el potencial antibacteriano dado que éste es un método usado en forma rutinaria para bacterias de rápido crecimiento.

Materiales y Métodos

El grupo de 17 terpenoides usados para los ensayos se presentan en la Tabla 1. Los microorganismos usados para la evaluación biológica fueron aislamientos clínicos provistos por la Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia de Tucumán. Estos aislamientos fueron conservados en viales con medio agarizado en heladera de 3°-5°C aproximadamente y fueron mensualmente subcultivados en caldo de triptosa soya.

En el trabajo se usó una batería de 3 microorganismos: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*.

Para la activación de las bacterias almacenadas se prepararon suspensiones a partir de cada uno de ellas y se incubaron a 37°C hasta alcanzar la fase logarítmica de crecimiento (aproximadamente 2 hs para *Escherichia coli*, 4 hs para *Staphylococcus aureus* y 8 hs para *Pseudomonas aeruginosa*).

Para evaluar la sensibilidad de estos microorganismos a los terpenoides se empleó el método de difusión radial en medio agarizado (BHI agarizado) según recomendaciones del National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) utilizando para ello discos embebidos con 2µl del compuesto. Esta técnica estandarizada por la NCCLS está basada en el conocido método de Kirby-Bauer.

Este método de difusión se basa en que el compuesto a estudiar difundirá por el medio agarizado produciendo un gradiente de concentración, entonces si el compuesto es efectivo contra el microorganismo probado se formará una zona de inhibición alrededor del disco embebido en el compuesto. El tamaño de la zona de inhibición proporciona indicios de la relativa actividad de la sustancia, en nuestro caso del terpenoide.

Para la preparación del inóculo se tomó una ansada de la bacteria en estudio (previamente activada) y se suspendió en una porción de caldo Triptosa Soya, hasta lograr una turbidez comparable al patrón de turbidez 0,5 Mc Farland, esta comparación se llevó a cabo visualmente utilizando un fondo blanco con líneas negras contrastantes y fuente de luz adecuada. De este inóculo se tomó una alícuota de 100µl lo que corresponde a 1×10^8 unidades formadoras de colonias/ml (ufc/ml) y se colocaron en las placas estériles con BUT agarizado. Estas placas se prepararon con 15 ml cada una del medio agarizado.

Para la distribución uniforme del inóculo en las placas se utilizó la técnica de escobillado, para lo cual se aplicó sobre la superficie de la placa el inóculo y luego con un asa de Digralski se efectuó un barrido en por lo menos tres direcciones, girando la placa a 90° grados.

A continuación se aplicaron en cada placa, con la ayuda de una pinza estéril y ejerciendo una ligera presión sobre la superficie del medio, 3 discos de papel de 5,5 mm de diámetro embebidos con 2µl de terpenoide cada uno. Después de 10 minutos pero antes de 15 minutos de aplicados los discos, se comenzó la incubación a 35-37°C, durante 12 horas, al cabo de las cuales se leyeron los resultados.

Para la interpretación de los resultados se consideraron 3 categorías:

inhibición del crecimiento, a todo halo translúcido detectado alrededor del disco, es decir que la bacteria es sensible al compuesto.

No inhibición del crecimiento, es decir que no se forma halo y la bacteria no es sensible. Se presenta en la tabla como (NI) Inhibición del crecimiento en forma

irregular, es decir que se observa una inhibición pero el halo no adopta la forma esperada. Se presenta en la tabla como (II)

Las soluciones de terpenoides utilizadas para embeber los discos poseen un grado de pureza del 99%.

Discusión de Resultados

En los resultados obtenidos del ensayo de sensibilidad bacteriana se observa que 14 de los terpenoides estudiados poseen actividad antimicrobiana contra alguna de las bacterias ensayadas y solo 3 de ellos (α -terpineno, para-cimeno y mirceno) manifiestan no tener actividad alguna sobre las bacterias estudiadas. Estos resultados pueden traducirse en que el 82% de los compuestos probados constituyen una potencial fuente de agentes antimicrobianos, destacándose que los terpenoides presentan mayor actividad sobre la bacteria *Escherichia coli*.

Otra observación que se puede hacer de las placas es que algunos terpenoides producen zonas de inhibición, pero que estas zonas no tienen una forma circular ni bordes definidos, pero si provocaban un área de inhibición relativamente grande; por lo tanto consideramos a estos casos como compuestos que producen inhibición irregular y serán vueltos a analizar.

Las medidas de la zona de inhibición se presentan en la Tabla 1. En ella se observa que las bacterias gram-negativas son las que presentan mayor sensibilidad a los compuestos y además las que muestran zonas de inhibición más grandes, en cambio la gram-positiva manifestó clara sensibilidad solo a 5 compuestos con un tamaño de zona de inhibición intermedio.

Esto se puede fundamentar por el hecho de que uno de los principales mecanismos de acción propuestos para los terpenoides consiste en la disrupción de la membrana celular bacteriana mediante 3 posibles vías: aumentando la permeabilidad de la membrana a iones pequeños, afectando la estabilidad estructural de la membrana y desestabilizando el empaquetamiento de la bicapa lipídica, cualquiera de estos 3 efectos produce la muerte en la célula bacteriana.

Entonces podríamos considerar que el hecho de que las bacterias gram-negativas presenten mayor sensibilidad, entre otras cosas, puede deberse a su pared celular menos compleja dado que tiene una capa simple (red de mureína delgada), mientras que en las gram-positiva es una estructura de multicapa (red de mureína muy desarrollada y llega a tener hasta 40 capas). Un ejemplo lo presenta el aceite esencial de *Melaleuca alternifolia* (Tea tree) que se ha encontrado que causa la filtración de iones K^M en la membrana de la *Escherichia coli* con lo cual estimula su autólisis.

También cabe mencionar que pueden existir discrepancias entre los resultados presentados en este trabajo y otras investigaciones, por ejemplo con respecto a la actividad del mirceno; que es reportada por Shane Griffin como positiva y en este trabajo no produjo zona de inhibición con ninguna de las bacterias.

Estas discrepancias pueden encontrar su razón en la variedad de métodos usados para evaluar la actividad antimicrobiana. Por otro lado también se conoce que el medio de cultivo es un factor importante en el ensayo de actividad, dado que sus constituyentes pueden reaccionar con los aceites esenciales, activándolos o inactivándolos.

Asimismo existen varios factores que influyen sobre los resultados tales como: el volumen y tipo de medio de cultivo, la concentración y edad del inóculo, las condiciones de incubación, etc.

Además es muy importante destacar que existen propiedades físicas de los terpenoides que afectan negativamente la realización de los ensayos tal como lo es la baja solubilidad de éstos en los medios de cultivo, lo cual nos lleva a considerar si el gradiente de concentración que se produce alrededor del disco es uniforme, entre otras cosas.

Conclusiones

Las bacterias Gram-negativas, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, fueron más sensibles a los terpenoides en comparación con la gram-positiva, *Staphylococcus aureus*. Esto puede tener su causa en la diferencia que presentan estas bacterias en cuanto a su pared celular, lo cual determinará la penetración o no del terpenoide a la célula bacteriana para que produzca su acción.

De esta manera se sigue sumando evidencia sosteniendo que los terpenoides, como componentes mayoritarios de los aceites esenciales, son una buena fuente natural y disponible que posibilitará desarrollar diferentes formas farmacéuticas con actividad farmacológica definida.

Por otro lado, estos resultados nos pueden servir para comenzar a entender las razones del extenso uso de los aceites esenciales ya sean en la medicina tradicional o en la aromaterapia. Al mismo tiempo podemos acercarnos cada vez más a la utilización de las plantas aromáticas, que contienen aceites esenciales, y esto a su vez a los terpenoides, como terapia complementaria de las convencionales.

Por otro lado es importante mencionar que la continuidad inmediata de este trabajo nos lleva a la determinación experimental de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima bactericida (CMB) de los compuestos. En este aspecto es importante mencionar el inconveniente que se presenta con la escasa solubilidad acuosa de los terpenoides, dado que se convierte en un gran desafío a la hora de realizar la determinación de concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima bactericida (CMB), pero actualmente nos encontramos trabajando en los ajustes de una técnica que nos permite lograr una emulsión entre el medio de cultivo y el terpenoide mediante el uso de un emulgente.

COMPUESTOS FENÓLICOS:

En el contexto del metabolismo, los aminoácidos aromáticos se pueden dirigir tanto al metabolismo primario como al metabolismo secundario. Las plantas sintetizan una gran variedad de productos secundarios que contienen un grupo fenol. Estas sustancias reciben el nombre de compuestos fenólicos, polifenoles o fenilpropanoides y derivan todas ellas del fenol, un anillo aromático con un grupo hidroxilo.

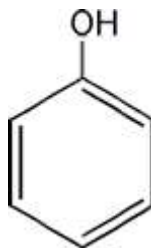


Figura 195. Estructura química del fenol.

Desde el punto de vista de la estructura química, son un grupo muy diverso que comprende desde moléculas sencillas como los ácidos fenólicos hasta polímeros complejos como los taninos y la lignina. En el grupo también se encuentran pigmentos flavonoides. Muchos de estos productos están implicados en las interacciones planta herbívoro.

Existen dos rutas básicas implicadas en la biosíntesis de compuestos fenólicos: la ruta del ácido si químico y la ruta del ácido malónico.

La ruta del ácido malónico es una fuente importante de fenoles en hongos y bacterias, pero es poco empleada en plantas superiores.

La ruta del ácido si químico es responsable de la biosíntesis de la mayoría de los compuestos fenólicos de plantas. A partir de eritrosa-4-P y de ácido fosfoenolpirúvico se inicia una secuencia de reacciones que conduce a la síntesis de ácido si químico y, derivados de éste, aminoácidos aromáticos (fenilalanina, triptófano y tirosina). La mayoría de los compuestos fenólicos derivan de la fenilalanina. Esta ruta está presente en plantas, hongos y bacterias, pero no en animales.

La fenilalanina y el triptófano se encuentran entre los aminoácidos esenciales para los animales que se incorporan en la dieta. La tirosina no es esencial en el sentido de que los animales pueden sintetizarla por hidroxilación de fenilalanina.

La enzima fenilalanina amonio liasa (PAL) cataliza la formación de ácido cinámico por eliminación de una molécula de amonio de la fenilalanina. Esta enzima está situada en un punto de ramificación entre el metabolismo primario y secundario por lo que la reacción que cataliza es una importante etapa reguladora en la formación de muchos compuestos fenólicos (Fig. 17). Las reacciones posteriores a la catalizada por PAL son básicamente adiciones de más grupos hidroxilo y otros sustituyentes. Los ácidos trans-cinámico y p-cumárico se metabolizan para formar ácido ferúlico y ácido

caféico cuya principal función es ser precursores de otros derivados más complejos: cumarinas, lignina, taninos, flavonoides e isoflavonoides.

La lignina es un compuesto fenólico derivado de la fenilalanina.

Compuestos fenólicos

- Ácidos fenólicos
- Flavonoides
- Cumarinas

Síntesis: vía ácido shiquímico y vía ácido malónico

La Fenil alanina (PAL) estimula la producción de fenólicos. Alta actividad de PAL, sea por alta o baja temperatura, radiación roja y ultravioleta, bajos niveles de minerales, heridas, infecciones por hongos, ácido abscísico y etileno, relación IAA/CK (1IAA/CK -> actividad enzima PAL).

Enzimas: corisnato mutasa y antranilato sintetasa controla (feed back = retroalimentación, es sinónimo de reacción).

Ácidos Fenólicos

- Ácido salicílico -> Aspirina -> obtenido del árbol Salix, que sirve para bajar la fiebre, también es usado como aspirina, en vasos con agua y flores colocadas en el vaso son agua, durante un buen tiempo para que duren más. Clean descubrió que ena hormona que estimula la floración. Otros investigadores descubrieron que ciertas plantas crecían más y se tornaban más verdes cuando eran tratados con ácido salicílico o con aspirina. Según Laque-Saavedra (Mexico), verificó que las células guardas cierran los estomas sobre el efecto de la aspirina. Zistschr. Pflanzenphys. V. 93, p371), cuando aspegió aspirina en plantaciones de maíz, se mostraron mucho más resistentes a la seca. (New Scientist, 23-Set. 198: Why plants need aspirin – Paul Simons).
- Ácido P-hidroxibenzoico
- Ácido cafeico
- Ácido ferúlico
- Ácido gálico
- Ácido clorogénico
- Ácido sinápico
- Ácido O-cumárico

Los ácidos fenólicos también se dividen en:

- Orto – dihidroxi e trihidroxifenólicos.- Inhiben la síntesis de IAA-oxidada (inactivación de IAA, t [IAA] endógeno).

Ej. El ácido clorogénico, ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido gálico, estimulan el alargamiento celular y estimulan el enraizamiento de estacas.

- Monohidroxifenólicos.- estimulan el sistema IAA-oxidasa \rightarrow \downarrow [IAA] endógeno.

Ej. El ácido salicílico, ácido cumárico, ácido hidroxibenzoico, inhiben el alargamiento celular, inhiben el enraizamiento de estacas.

El ácido fenólico interactúa con la auxina, en casos de alelopatía.

Ej. Inhibición del crecimiento, inhibición de la germinación de semillas. Plantas dañinas: ácido cafeico y ácido ferúlico, inhiben el crecimiento y la germinación de semillas. Ej. *Cyperus rotundus* (coquito), libera mucho ácido ferúlico y cafeico. El extracto de esta hierba estimula el enraizamiento, según época, estado de desarrollo, hora de extracción, tipo, estratificación, fases lunares. No es igual al final del verano que a inicio. Al final del verano disminuye la giberelina y aumenta el ABA.

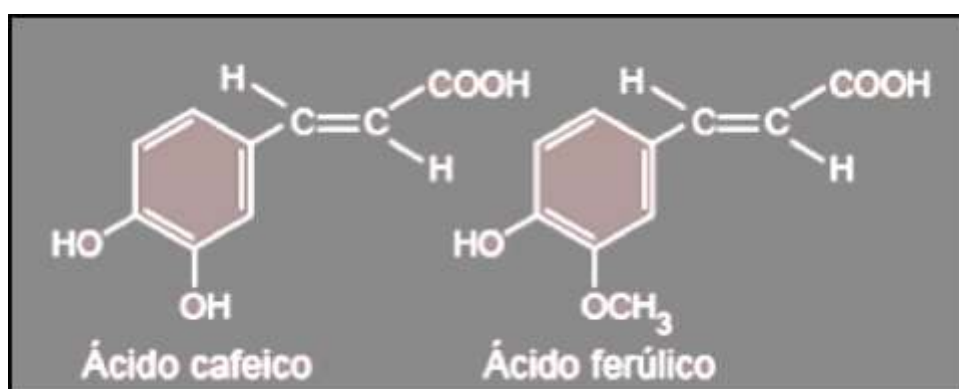


Figura 196. Estructura química de los ácidos cafeico y ferúlico.

Los **ácidos cinámico y cumárico**, así como sus derivados, son compuestos fenólicos simples llamados fenilpropanoides por contener un anillo de benceno (C₆) y una cadena lateral de tres carbonos (C₃).

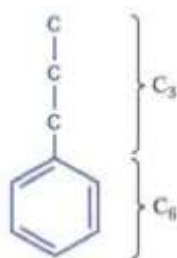


Figura 197. Estructura C₆C₃ básica de los ácidos cinámico y cumárico.

Las cumarinas

Son antiginerelina

- Escopoletina
- Esculetina
- Umbeliferona

La furanocumarina, activa la ligación en la doble hélice del DNA, impidiendo la transcripción, luego viene la muerte, mata animales también. Ej. Familia Umbeliferáe.

Son una amplia familia de lactonas, más de 1500 identificadas en más de 800 especies de plantas, que actúan como agentes antimicrobianos y como inhibidores de germinación. Algunas muestran foto toxicidad frente a insectos (es el caso del psoraleno) (Fig. 20) tras activarse por luz UV, acción llevada a cabo por bloqueo de la transcripción y de la reparación de DNA, provocando la muerte celular.



Figura 198. Estructura química del psoraleno.

La cumarina más simple es la que se encuentra como constituyente en el aceite de bergamota, un aceite esencial que aporta aroma al tabaco de pipa, el té y a otros productos. Las más tóxicas son producidas por hongos, por ejemplo, la **aflatoxina** producida por *Aspergillus flavus* (puede infectar cacahuete o maíz), quizá el carcinogénico más potente de las toxinas naturales.

Entre los compuestos fenólicos también se encuentran los derivados del ácido benzoico que tienen un esqueleto formado por fenilpropanoides que han perdido un fragmento de dos carbonos de la cadena lateral. Ejemplos de estos derivados son la vainillina y el ácido salicílico (actúa como regulador del crecimiento vegetal, implicado en la resistencia de la planta frente a patógenos).

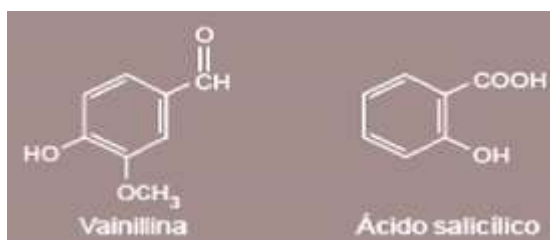


Figura 199. Estructura química de la vainillina y del ácido salicílico.

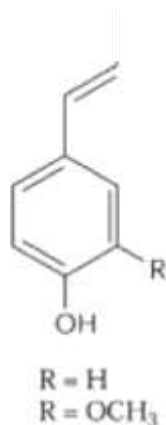


Figura 200. Estructura química de los alcoholes cumarílico y coniferílico (R=H, alcohol cumarílico; R=OCH₃, alcohol coniferílico).

La lignina

Es un polímero altamente ramificado de fenilpropanoides. Después de la celulosa, es la sustancia orgánica más abundante en las plantas. Se encuentra covalentemente unida a la celulosa y a otros polisacáridos de la pared celular.

Es insoluble en agua y en la mayoría de los solventes orgánicos lo que hace muy difícil su extracción sin degradarla. Desempeña un papel estructural fundamentalmente, su naturaleza química es la base de su dureza mecánica y de su rigidez que se manifiesta en los tallos lignificados, los troncos de los árboles, imprimiendo su carácter a la madera.

Se encuentra en la pared celular de varios tejidos de soporte y de transporte, en traqueadas y en los vasos de la xilema. Principalmente se deposita en la pared secundaria, fortalece los tallos y tejidos vasculares permitiendo el crecimiento vertical y la conducción de agua y minerales a través de la xilema.

Se forma a partir de tres derivados fenilpropanoides: los alcoholes coniferílico, cumarílico y sinapílico, de manera que cada uno de ellos puede formar numerosos enlaces y ramificaciones haciendo que cada lignina pueda ser única.

También tiene función protectora dado que su resistencia mecánica evita que las plantas sean alimento para animales y, además, su naturaleza química hace que sea difícil digerirla por los herbívoros.

Los Flavonoides

Los flavonoides son compuestos fenólicos constituyentes de la parte no energética de la dieta humana. Se encuentran en vegetales, semillas, frutas y en bebidas como vino y cerveza. Se han identificado más de 5.000 flavonoides diferentes. Aunque los hábitos alimenticios son muy diversos en el mundo, el valor medio de ingesta de flavonoides se estima como 23 mg/día, siendo la quercitina el predominante con un valor medio de 16 mg/día.

En un principio, fueron consideradas sustancias sin acción beneficiosa para la salud humana, pero más tarde se demostraron múltiples efectos positivos debido a su acción antioxidante y eliminadora de radicales libres. Aunque diversos estudios indican que algunos flavonoides poseen acciones prooxidantes, éstas se producen sólo a dosis altas, constatándose en la mayor parte de las investigaciones la existencia de efectos antiinflamatorios, antivirales o antialérgicos, y su papel protector frente a enfermedades cardiovasculares, cáncer y diversas patologías.

Su esqueleto carbonado contiene 15 carbonos ordenados en dos anillos aromáticos unidos por un puente de tres carbonos. Se clasifican en función del grado de oxidación del puente de tres carbonos, siendo las principales antocianinas (pigmentos), flavonas, flavonoles e isoflavonas.

Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la polución ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc. El organismo humano no puede producir estas sustancias químicas protectoras, por lo que deben obtenerse mediante la alimentación o en forma de suplementos. Los flavonoides se denominaron en un principio vitamina P (por permeabilidad) y también vitamina C₂ (porque se comprobó que algunos flavonoides tenían propiedades similares a la vitamina C)². Sin embargo, el hecho de que los flavonoides fueran vitaminas no pudo ser confirmado, y ambas denominaciones se abandonaron alrededor de 1950.

Estructura química

Los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común de difenilpiranos (C₆-C₃-C₆), compuesto por dos anillos de fenilos (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano (heterocíclico). Los átomos de carbono en los anillos C y A se numeran del 2 al 8, y los del anillo B desde el 2' al 6'¹² (fig. 1). La actividad de los flavonoides como antioxidantes depende de las propiedades redox de sus grupos hidroxifenólicos y de la relación estructural entre las diferentes partes de la estructura química.

Entre sus funciones se encuentra la defensa y la pigmentación. En la ruta de biosíntesis de flavonoides, la primera etapa consiste en la condensación de 3 moléculas de malonil-CoA con una molécula de p-cumaril-CoA. Esta reacción está catalizada por calcona sintasa y da lugar a naringerina calcona, precursor de los flavonoles y antocianinas.

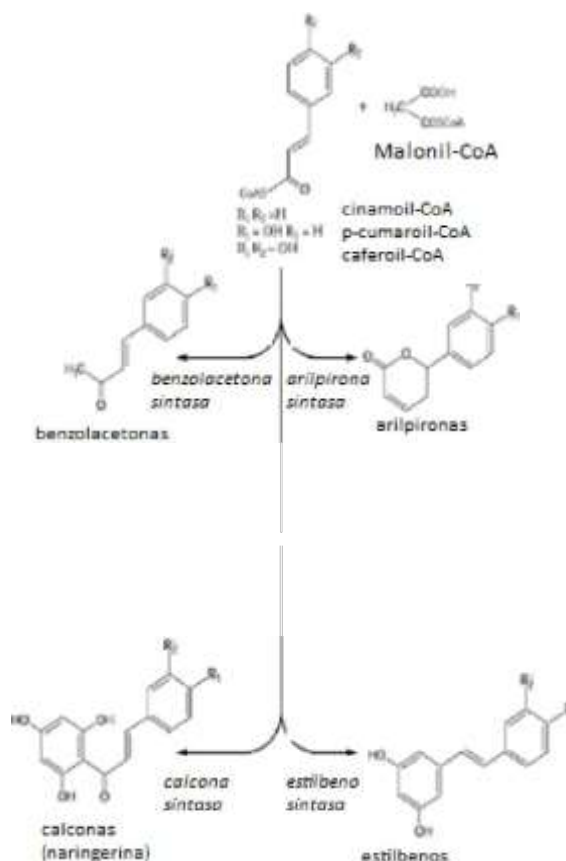


Figura 201. Biosíntesis de flavonoides.

La misma condensación catalizada por la estilbena sintasa conduce a la formación de estilbenos implicados en mecanismos de defensa de plantas frente a patógenos. Las antocianinas son flavonoides pigmentados responsables de la mayoría de los colores de las flores y los frutos. Por ello son importantes en la polinización y en la dispersión de semillas.

Son glicósidos con un azúcar en posición 3. Cuando las antocianinas carecen de azúcar se denominan antocianidinas.

El color de las antocianinas depende del número de grupos hidroxilo y metoxilo en el anillo B y del pH de las vacuolas en las que se almacenan. Algunos ejemplos son pelargonidina (rojo-naranja), cianidina (rojo púrpura) y delphinidina (azul púrpura).

Tipos y fuentes de flavonoides

Los flavonoides se encuentran en frutas, verduras, semillas y flores, así como en cerveza, vino, té verde, té negro y soja, los cuales son consumidos en la dieta humana de forma habitual y también pueden utilizarse en forma de suplementos nutricionales, junto con ciertas vitaminas y minerales. Los flavonoides se encuentran también en extractos de plantas como arándano,

gingko biloba, cardo, mariano o crataegus. Desempeñan un papel importante en la biología vegetal; así, responden a la luz y controlan los niveles de las auxinas reguladoras del crecimiento y diferenciación de las plantas. Otras funciones incluyen un papel antifúngico y bactericida, confieren coloración, lo que puede contribuir a los fenómenos de polinización y tienen una importante capacidad para fijar metales como el hierro y el cobre. Los flavonoides se ubican principalmente en las hojas y en el exterior de las plantas, apareciendo sólo rastros de ellos en las partes de la planta por encima de la superficie del suelo. Una excepción son los tubérculos de cebolla, que contienen una gran cantidad de quercitina 4'-D-glucósidos. El vino tiene un alto contenido en compuestos polifenólicos, aproximadamente se conocen unos 500, la mayoría de los cuales provienen de la uva y del proceso fermentativo. En la uva estas moléculas se localizan en la piel, especialmente en las células epidérmicas, y en las pepitas. Su cantidad y tipo depende principalmente de la variedad de la vid, del clima, del terreno y de las prácticas de cultivo. La cerveza también contiene importantes cantidades de flavonoides entre los que destacan los polihidroxi flavanos (catequina y epicatequina), los antocianógenos (leucocianidina o leucopelargonidina) y los flavonoles (grupo de quercitinas: kaempferol o mirecitina).

Se han identificado más de 5.000 flavonoides, entre los que se pueden destacar:

- a. **Citroflavonoides:** quercitina, hesperidina, rutina, naranjina y limoneno. La quercitina es un flavonoide amarillo-verdoso presente en cebollas, manzanas, brócoles, cerezas, uvas o repollo rojo. La hesperidina se encuentra en los hollejos de las naranjas y limones. La naranjina da el sabor amargo a frutas como la naranja, limón y toronja, y el limoneno se ha aislado del limón y la lima.
- b. **Flavonoides de la soja o isoflavonoides:** están presentes en los alimentos con soja tales como porotos, tofu, tempeh, leche, proteína vegetal texturizada, harina, miso. Los dos más conocidos son la genisteína y la daidzeina.
- c. **Proantocianidinas** se localizan en las semillas de uva, vino tinto y extracto de corteza del pino marino.
- d. **Antocianidinas:** son pigmentos vegetales responsables de los colores rojo y rojo-azulado de las cerezas.
- e. **Ácido elágico:** es un flavonoide que se encuentra en frutas como la uva y en verduras.
- f. **Catequina:** el té verde y negro son buenas fuentes.
- g. **Kaempferol:** aparece en puerros, brócoles, rábano, endibias y remolacha roja.

Grupos más importantes:

- Antocianinas
- Flavonas
- Flavonoles
- Fitoalexinas: Dan Resistencia a la planta ante ataques de patógenos (hongos, bacterias o virus), son antibióticos, emzi-patógeno → señal y síntesis de fitoalexinas, previene la expansión del patógeno. Ej. Los rotenoides, tienen acción insecticida. Otros tienen efecto anti-estrógeno que produce infertilidad en mamíferos.

Principales flavonoides:

- Epigenina - Naringenina
- Genisteína
- Quercitina - Rutina
- Campferol
- Eridictiol

Los flavonoides también se dividen:

- Dihidroflavonoides. Inhiben sistema de IAA-oxidasa. Ej. Quercitina, rutina, ↑[IAA], estimulan el alargamiento celular.
- Monohidroflavonoides. Estimulan sistema de IAA-oxidasa. Ej. Naringenina, epigenina, campferol. ↓[IAA]final. Inhiben la elongación celular.

Antocianinas

Responsable de a coloración de los vegetales: rojo, rosa, púrpura y azul. Flores y frutos. También hay interacción insecto/planta, interacción animal/planta. Más atracción de los polinizadores y dispersores de semillas. El hombre fabrica colorantes, antioxidantes y filtros ultravioleta con las antocianinas.

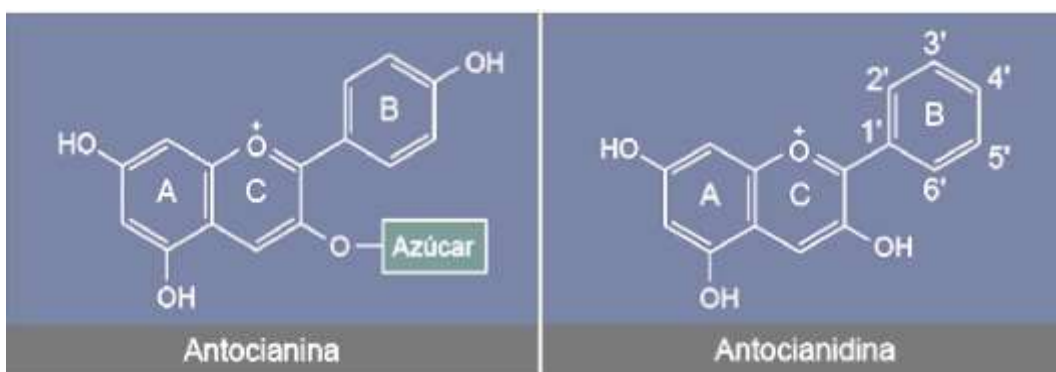


Figura 202. Estructura química de antocianinas y antocianidinas.

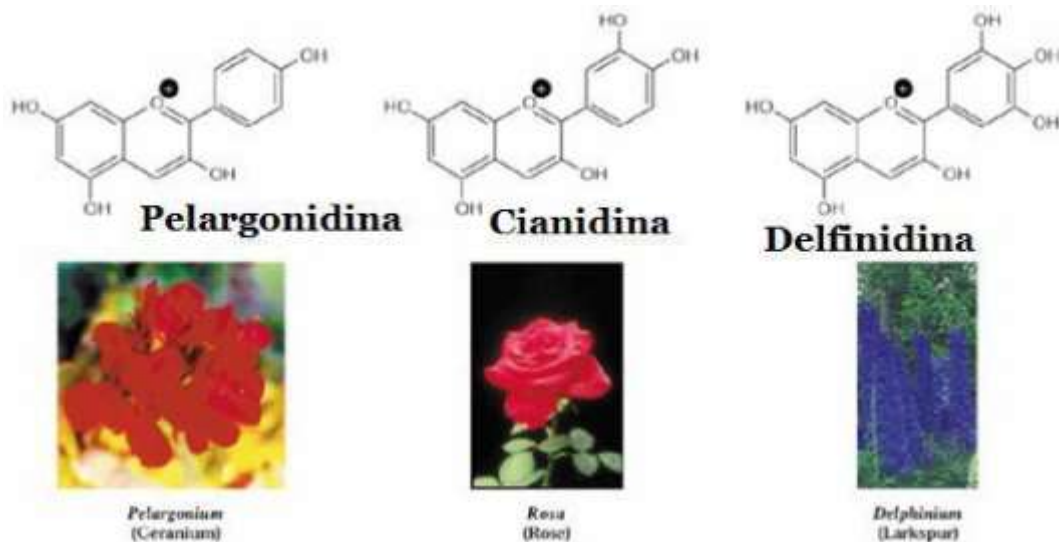


Figura 203. Pelargonidina, cianidina y delfinidina presentes en los géneros Geranium, Rosa y Delphinium, respectivamente.

Clasificación de flavonoides glycones de acuerdo al estado de oxidación de C3 residuo de la unidad fenilpropano.

| Clase | Estructura | Ejemplo nos indica posición de grupo hidroxyl en el traslado de la molécula. |
|-------|------------|--|
|-------|------------|--|

Flavones

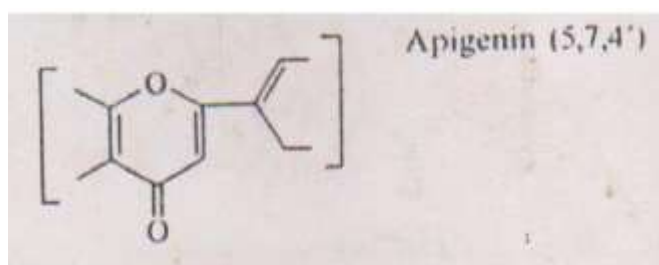


Figura 204. Apigenin (5,7,4')

Flavonols

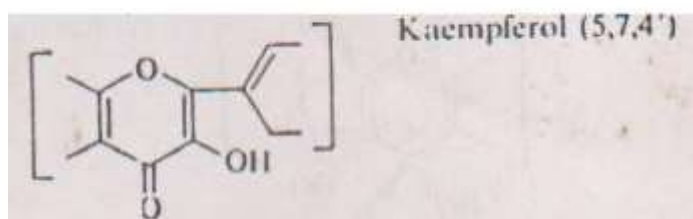


Figura 205. Kaempferol (5,7,4')

Catequin

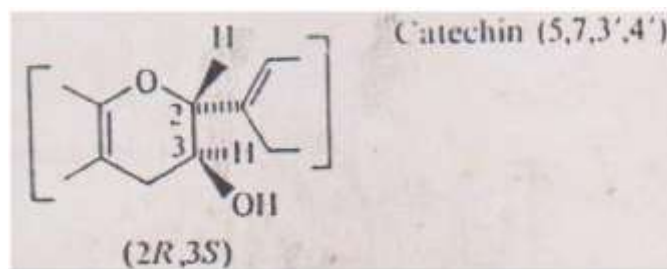


Figura 206. Catechin (5,7,3',4')

Catequin flavan-3-ol

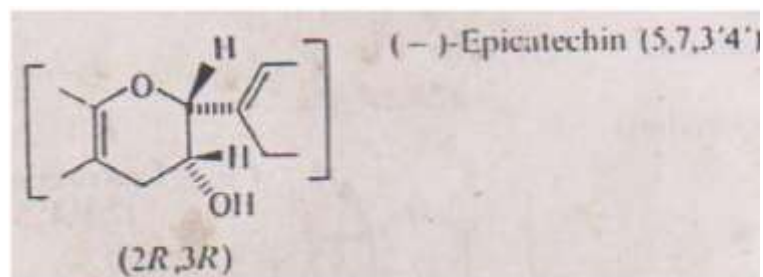


Figura 207. (-)-Epicatechin (5,7,3',4')

Epicatequin

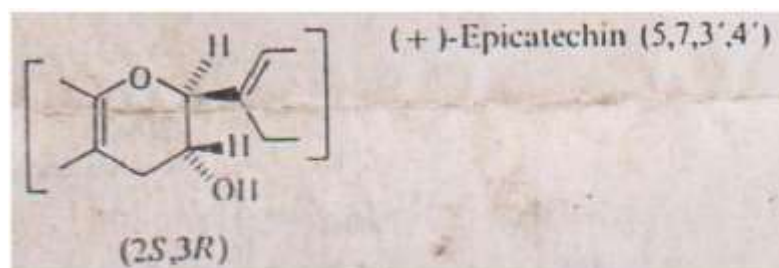


Figura 208. (+)-Epicatechin (5,7,3',4')

Flavanones

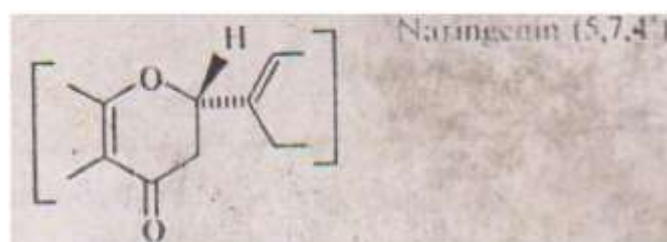


Figura 209. Naringenin (5,7,4')

Dihydroflavonoid

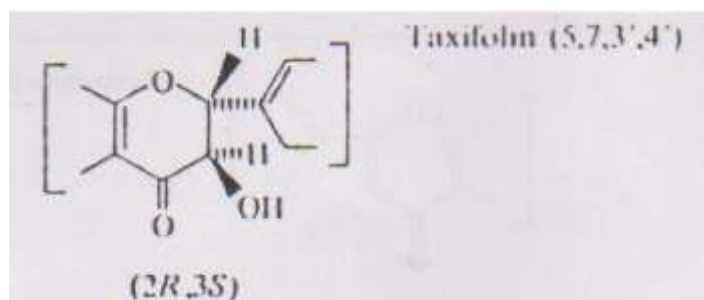


Figura 210. Taxifolin (5,7,3',4')

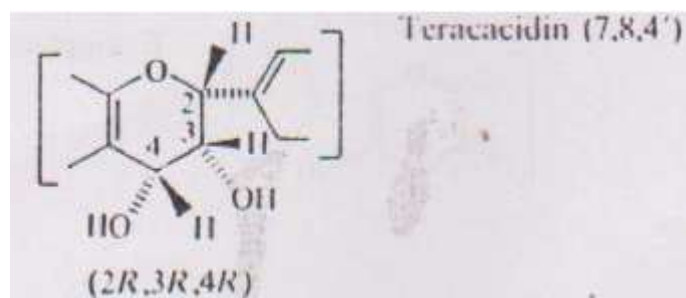


Figura 211. Teracacidin (7,8,4')

Flavan-3,4-diols

Proanthocyanidins

O Leucoanthocyanidins

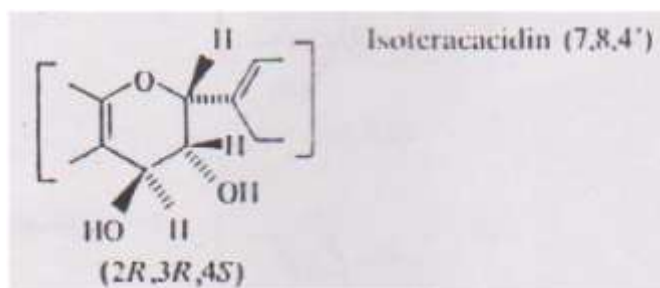


Figura 212. Isoteracacidin (7,8,4')

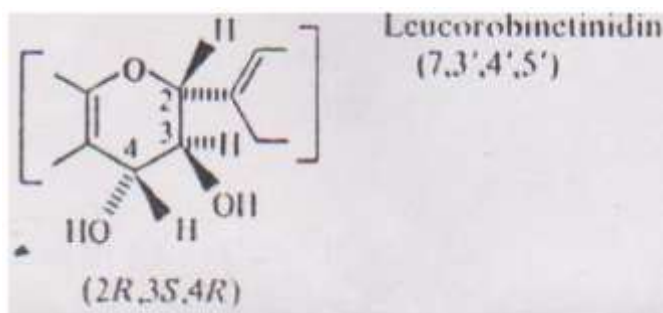


Figura 213. Leucorobinetinidin (7,3',4',5')

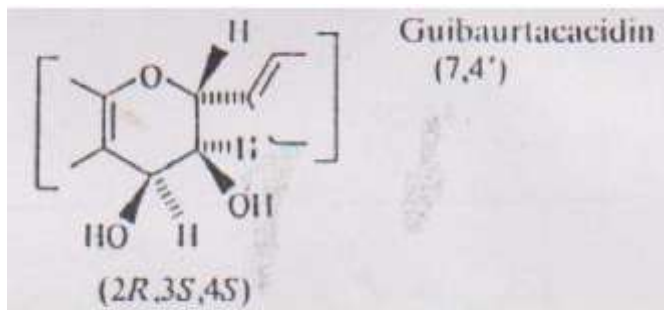


Figura 214. Guibaurtacacidin (7,4')

Anthocyanidins

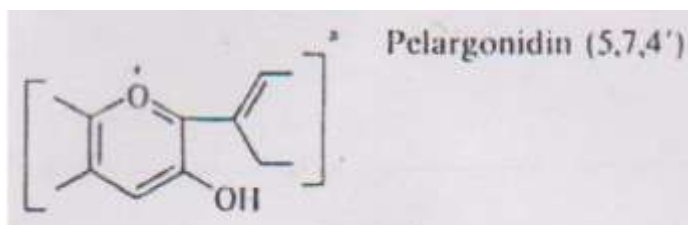


Figura 215. Pelargonidin (5,7,4')

Este es uno de los elementos que influyen en la estructura de los cationes flavylum

Isoflavones

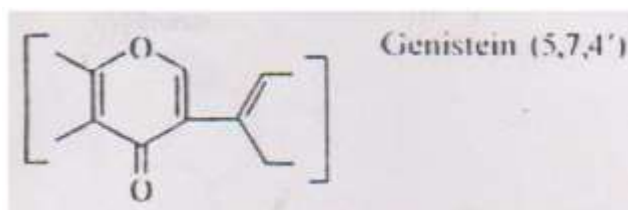


Figura 216. Genistein (5,7,4')

Neoflavones

(4-Phenylcoumarins)

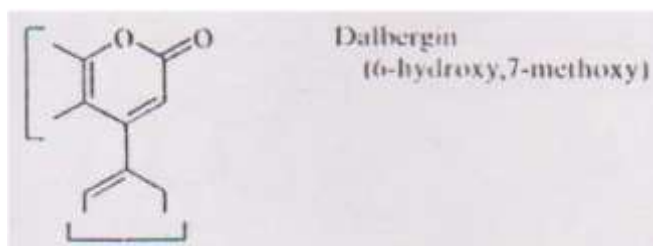


Figura 217. Dalbergin (6-hydroxy,7-methoxy)

Chalconas

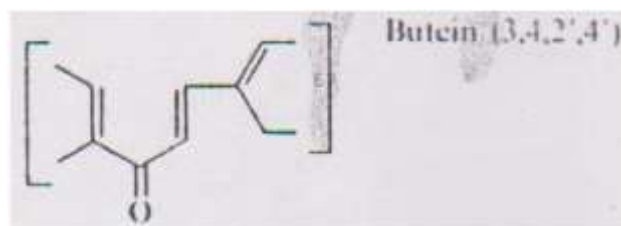


Figura 218. Butein (3,4,2',4')

Dihydroxichalconas

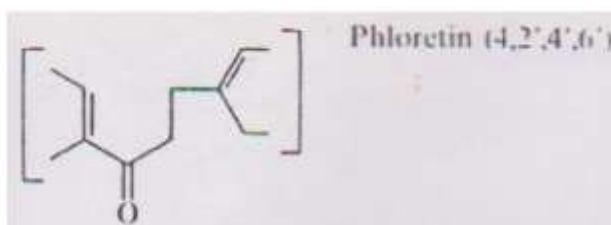


Figura 219. Phloretin (4,2',4',6')

Aurones

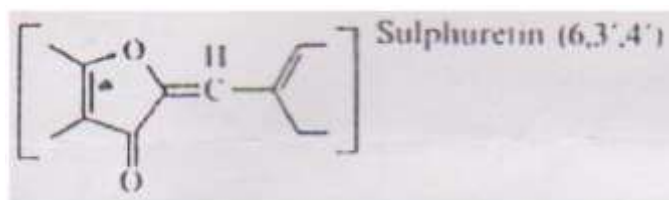


Figura 220. Sulphuretin (6,3',4')

Varias aglyconas tienen uno o más grupos hidroxilo unido a un azúcar por un enlace glicosídico β , con excepción del L-rhamnosidos y L-arbinosidos que es α . Los flavonoides contienen monosacáridos, disacáridos o trisacáridos, sus residuos son llamados monosidos, diosidos o triosidos, respectivamente. Compuestos por dos grupos hidroxilos unidos a residuos de monosacáridos, podría ser un dimonoside o con diferentes azúcares.

Flavonas y flavonoles

Absorben la luz de longitud de onda corta. Padrones de listas, manchas o círculos en flores, visibles a los insectos, guías de néctar y polen, protección foliar a excesiva radiación ultravioleta.

En las flores las flores las **flavonas y flavonoles** absorben a longitudes de onda más cortas que las antocianinas por lo que no son visibles para el ojo humano. Sin embargo los insectos que ven en el rango del UV responden a flavonas y flavonoles como señales de atracción.

Dietas y flavonoides

Los flavonoides no poseen las características de las vitaminas: no son aminos y conforman otro grupo químico, pero por su acción protectora y la imposibilidad del organismo humano de producirlos merecen ser incorporados al grupo de los nutrientes esenciales. Aunque los hábitos alimenticios son muy diversos en el mundo, el valor medio de ingesta de flavonoides se estima como 23 mg/día, siendo predominantes los flavonoles especialmente la quercitina. Las fuentes alimenticias principales de los flavonoles son, entre otras, el té negro, las cebollas, las manzanas, la pimienta negra —que contiene cerca de 4 g/kg de quercitina, y bebidas alcohólicas como vino y cerveza. De los alimentos, el té es una de las fuentes principales de quercitina. La ingesta promedio de flavonoles y flavonas se sitúa entre los 20 y 26 mg/día. Excede, por tanto, a la de otros antioxidantes en la dieta, tales como el beta-caroteno (2-3 mg/día) y la vitamina E (7-10 mg/día) y es igual aproximadamente a un tercio de la vitamina C (70-100 mg/día). Los flavonoides representan, pues, una contribución importante al potencial antioxidante de la dieta humana. La concentración total de compuestos polifenólicos en el vino varía entre 1,8 y 4,0 g/l, con un promedio de 2,57 g/l para el vino tinto y de 0,16 a 0,3 g/l, con un promedio de 0,24 g/l para el vino blanco. En muestras de cerveza embotelladas se han encontrado cantidades de hasta 29 nmol/l.

Síntesis, absorción y metabolismo

Los flavonoides se sintetizan en las plantas y participan en la fase dependiente de luz de la fotosíntesis, durante la cual catalizan el transporte de electrones. Su formación tiene lugar a partir de los aminoácidos aromáticos fenilalanina y tirosina y también de unidades de acetato.

La fenilalanina y la tirosina dan lugar al ácido cinámico y al ácido parahidroxicinámico, que al condensarse con unidades de acetato, originan la estructura cinamol de los flavonoides. Posteriormente se forman los derivados glicosilados o sulfatados.

El metabolismo de los flavonoides es intenso y una parte importante se excretan por la orina. La transformación de los flavonoides tiene lugar en dos localizaciones: en primer lugar en el hígado, por medio de reacciones de biotransformación de fase I en las que se introducen o exponen grupos polares; en segundo lugar en el colon mediante reacciones de biotransformación de fase II, en las que los microorganismos degradan los flavonoides no absorbidos.

La conjugación con el ácido glucurónico, sulfatos, o glicina, parecen tener lugar tanto para los flavonoides como para sus metabolitos procedentes del colon. Los conjugados, solubles en agua, pueden excretarse por la orina. Para evaluar los efectos biológicos de los flavonoides, así como de cualquier fármaco o componente alimenticio, uno de los más importantes aspectos es la biodisponibilidad, en la que influyen factores tales como estructura química, absorción, distribución y eliminación.

Acción antioxidante de los flavonoides

La capacidad de los polifenoles vegetales para actuar como antioxidantes en los sistemas biológicos fue ya reconocida en los años treinta; sin embargo, el mecanismo antioxidante fue ignorado en gran medida hasta hace poco tiempo.

El creciente interés en los flavonoides se debe a la apreciación de su amplia actividad farmacológica. Pueden unirse a los polímeros biológicos, tales como enzimas, transportadores de hormonas, y ADN; quelar iones metálicos transitorios, tales como Fe^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , catalizar el transporte de electrones, y depurar radicales libres. Debido a este hecho se han descrito efectos protectores en patologías tales como DM, cáncer, cardiopatías, infecciones víricas, úlcera estomacal y duodenal, e inflamaciones. Otras actividades que merecen ser destacadas son sus acciones antivirales y antialérgicas, así como sus propiedades antitrombótica y antiinflamatorias.

Los criterios químicos para establecer la capacidad antioxidante de los flavonoides, son:

- Presencia de estructura O-dihidroxi en el anillo B; que confiere una mayor estabilidad a la forma radical y participa en la deslocalización de los electrones.
- Doble ligadura, en conjunción con la función 4 - oxo del anillo C.
- Grupos 3- y 5-OH con función 4-oxo en los anillos A y C necesarios para ejercer el máximo potencial antioxidante.

Siguiendo estos criterios, el flavonoide quercitina es el que mejor reúne los requisitos para ejercer una efectiva función antioxidante. Su capacidad antioxidante medida como Trolox es de 4,7 mM, lo que resulta 5 veces mayor al demostrado por las vitaminas E y C y tiene una hidrosolubilidad similar a la de la vitamina E.

La función antioxidante de la quercitina muestra efectos sinérgicos con la vitamina C. El ácido ascórbico reduce la oxidación de la quercitina, de manera tal que combinado con ella permite al flavonoide mantener sus funciones antioxidantes durante más tiempo. Por otra parte, la quercitina protege de la oxidación a la vitamina E, con lo cual también presenta efectos sinergizantes.

Así, se ha demostrado que el flavonoide inhibe la fotooxidación de la vitamina E en la membrana celular de las células sanguíneas en presencia de hematoporfirina como fotosensibilizador. Los flavonoides retiran oxígeno reactivo especialmente en forma de aniones superóxidos, radicales hidroxilos, peróxidos lipídicos o hidroperóxidos. De esta manera bloquean la acción deletérea de dichas sustancias sobre las células. Sus efectos citoprotectores son, por ejemplo, bien patentes en fibroblastos de la piel humana, queratinocitos, células endoteliales y ganglios sensoriales cultivados en presencia de sulfoxina-

butionina, un inhibidor irreversible de la glutatión sintetasa. Diversos flavonoides han mostrado su eficiencia para eliminar los procesos de peroxidación lipídica del ácido linoleico o de los fosfolípidos de las membranas, la peroxidación de los glóbulos rojos o la autooxidación de los homogeneizados de cerebro. Asimismo, se ha comprobado su potente capacidad de inhibir in vitro la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) por los macrófagos y reducir la citotoxicidad de las LDL oxidadas. De hecho, las poblaciones que consumen productos ricos en flavonoides estadísticamente presentan menores riesgos de afecciones cardiovasculares.

En el hígado se ha descrito que la quercitina es capaz de inhibir la activación de las células estrelladas así como la producción de óxido nítrico, alterando vías de expresión de proteínas celulares y en estudios in vitro se ha comprobado que diversos flavonoides inhiben la expresión de la óxido nítrico sintetasa y la formación de óxido nítrico en macrófagos estimulados por LPS.

En ensayos clínicos, se ha comprobado que la administración profiláctica de flavonoides disminuye la producción de radicales libres en la reperfusión después del bypass en cirugía de reemplazamiento vascular. Además, flavonoides como la quercitina y el kaempferol son importantes para el control de las concentraciones intracelulares de glutatión. Actuando a nivel del gen de regulación, son capaces de aumentar el nivel en un 50%, induciendo el sistema antioxidante celular y contribuyendo así a la prevención de enfermedades.

Los flavonoides protoantocianídicos pueden ser absorbidos por las membranas celulares y protegerlas de la acción de los radicales libres. Tienen la ventaja de ser liposolubles e hidrosolubles: es decir, se disuelven en lípidos o en agua. Por eso, en contraste con otros antioxidantes que no poseen esa doble cualidad, son capaces de atravesar la barrera hematoencefálica y pueden proteger a las células cerebrales, que son muy sensibles a las lesiones producidas por los radicales libres.

Además combaten la inflamación, y las alergias y aumentan la efectividad de las células natural killer del sistema inmunológico. De hecho, se ha demostrado que los flavonoides pertenecientes a plantas medicinales de Tafi del Valle, Tucumán (Argentina), tienen actividad antimicrobiana.

Flavonoides y carcinogenesis

Un número creciente de sustancias naturales se han identificado como moduladoras del proceso de carcinogénesis; entre ellas se encuentran los flavonoides que han demostrado poseer efectos antimutagénicos y anticarcinogénicos. Diversos datos experimentales han demostrado la acción antiproliferativa y anti- carcinogénica, así como el papel de agente quimiopreventivo de los flavonoides.

Entre los numerosos fenómenos que tienen lugar durante el proceso carcinogénico y que ofrecen opción para la modulación mediante factores externos, se encuentran la formación de metabolitos carcinógenos, que se forman por la acción de enzimas citosólicas y microsómicas. Estas enzimas controlan este paso crítico en el proceso carcinógeno. Estudios in vivo e in vitro

han demostrado que los flavonoides pueden modular su actividad. En experimentos in vitro se ha confirmado el papel protector de la quercitina, la cual ejerce efectos de inhibición frente a células cancerígenas en humanos: en colon, glándula mamaria y ovario, en región gastrointestinal y en la leucemia.

Una posible explicación a estos efectos anticancerígenos podría derivarse del incremento que algunos flavonoides producen en las concentraciones intracelulares de glutatión a través de la regulación de la expresión de la enzima limitante en su síntesis⁵⁸. Asimismo, en lo que respecta a la prevención del cáncer de mama, podría deberse a su potente capacidad de inhibir la actividad de la aromatasas evitando de esta forma la conversión de andrógenos en estrógenos.

Debe destacarse que las propiedades prooxidantes y mutagénicas de los flavonoides se hallan unidas a la acción de eliminar radicales libres que tienen estos compuestos. Sin embargo, lo que determina el carácter antioxidante o prooxidante de esta reacción inicial es, como ya se mencionó previamente, la estabilidad/labilidad redox del compuesto radical formado a partir del flavonoide original. La autotoxidación del radical aroxilo o la formación de compuestos ternarios entre el ADN, el cobre y los flavonoides, son posibles explicaciones de la mutagenicidad mediada por los flavonoides⁸⁰; ahora bien, dichas acciones sólo parecen producirse cuando las dosis de flavonoides utilizadas son muy altas.

BIBLIOGRAFÍA

- <http://www.nutricionhospitalaria.com/mostrarfile.asp?ID=3338>

LOS TANINOS

También son flavonoides, tienen sabor astringente en la boca, Ej. El vino tinto, que disminuye el colesterol del hombre. Los vinos más astringentes tienen más taninos. Recomiendan consumo diario de vino contra el colesterol.

Son compuestos fenólicos poliméricos que se unen a proteínas desnaturalizándolas. El nombre de tanino procede de la antigua práctica de utilizar extractos vegetales para convertir la piel animal en cuero (en el curtido, se unen al colágeno aumentando su resistencia al calor, al agua y a microorganismos). Existen dos categorías: taninos condensados y taninos hidrolizables.

Los taninos condensados son polímeros de unidades de flavonoides unidas por enlaces C-C, los cuales no pueden ser hidrolizados, pero sí oxidados por un ácido fuerte para rendir antocianidinas. Los **taninos hidrolizables** son polímeros heterogéneos que contienen ácidos fenólicos, sobre todo ácido gálico y azúcares simples; son más pequeños que los condensados y se hidrolizan más fácilmente.

Generalmente son toxinas debido a su capacidad de unirse a proteínas. También actúan como repelentes alimenticios de muchos animales que evitan, en el caso de los mamíferos, plantas o partes de plantas que contienen altas concentraciones de taninos. Esto ocurre en los frutos inmaduros en los que se concentran los taninos en la piel. Sin embargo, los taninos del vino tinto tienen efecto beneficioso en la salud humana al bloquear la formación de endotelina-1, una molécula señal que provoca vasoconstricción.

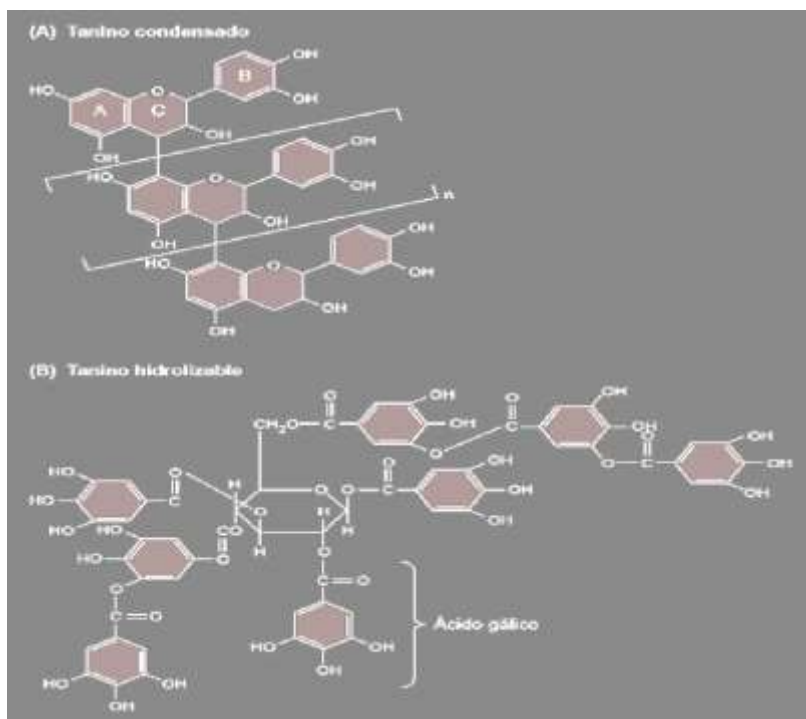


Figura 221. Estructura química de los taninos condensados(A) e Hidrolizables

(B).

ALCALOIDES

Tienen más efecto farmacológico. En altas dosis es tóxico, en bajas dosis tiene efecto farmacológico. En medicina se utiliza la morfina, codeína, atropina, efedrina. Cada alcaloide tiene un aminoácido específico. Osea el aminoácido es su precursor. Es también defensa de la planta contra herbívoros, es resistencia a patógenos, también genera alelopatía. **La alelopatía** es un fenómeno biológico por el cual un organismo produce uno o más compuestos bioquímicos que influyen en el crecimiento, supervivencia o reproducción de otros organismos.

Familias ricas en alcaloides:

- Papaveraceae -
- Berberidaceae -
- Leguminosae -
- Boraginaceae -
- Apocynaceae -
- Asclepidaceae -
- Liliaceae
- Ranunculaceae -
- Rubiaceae
- Solanaceae
- Rutaceae

Son ricos en alcaloides los tejidos jóvenes en crecimiento, raíces, flores, semillas, plántulas, tejidos fotosintéticamente activos. Alcaloides pueden representar el 10% de la m.s.t.

Los alcaloides son una gran familia de más de 15.000 metabolitos secundarios que tienen en común tres características: son solubles en agua, contienen al menos un átomo de nitrógeno en la molécula, y exhiben actividad biológica. La mayoría son heterocíclicos, aunque algunos son compuestos nitrogenados alifáticos (no cíclicos) como la mescalina o la colchicina, por ejemplo. Se encuentran en el 20% aproximadamente de las plantas vasculares, la mayoría dicotiledóneas herbáceas.

A los valores normales de pH del citosol y de la vacuola (7,2 y 5-6, respectivamente), el nitrógeno está protonado lo cual confiere el carácter básico o alcalino de estos compuestos en solución. En humanos, los alcaloides generan respuestas fisiológicas y psicológicas la mayoría de ellas consecuencia de su interacción con neurotransmisores. A dosis altas, casi todos los alcaloides son muy tóxicos.

Sin embargo, a dosis bajas tienen un alto valor terapéutico como relajante muscular, tranquilizante, antitusivos o analgésicos. Se sintetizan normalmente a partir de lisina, tirosina y triptófano, aunque algunos como la nicotina y compuestos relacionados derivan de la ornitina.

El opio es quizá uno de los primeros alcaloides conocidos, el exudado (látex) de la cápsula inmadura de *Papaver somniferum*. Este exudado contiene una

mezcla de más de 20 alcaloides diferentes entre los que se encuentran la morfina y la codeína. Ambos alcaloides pertenecen a un grupo denominado alcaloides isoquinolínicos que sintetizan a partir de la reticulina.

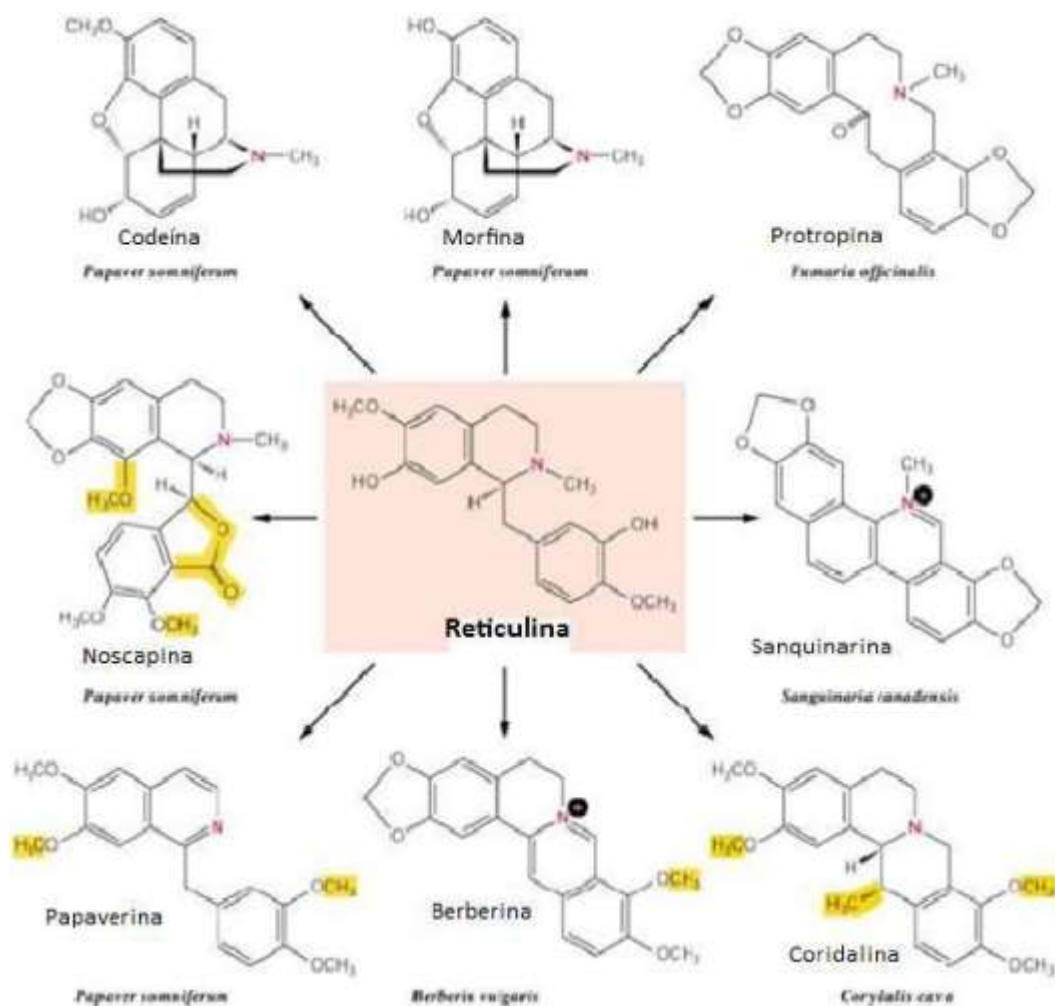


Figura 222. Estructura química de los alcaloides derivados de reticulina.

La heroína es un alcaloide semisintético formado por acetilación de la morfina.

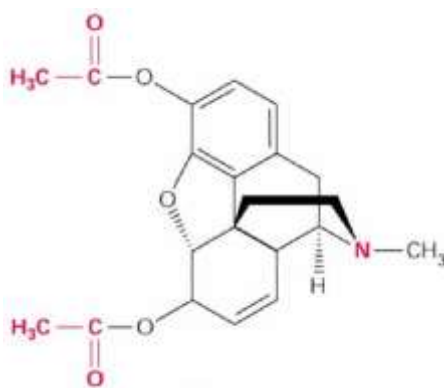


Figura 223. Estructura química de la heroína.

Cuadro 15. Los alcaloides se clasifican en función de los anillos presentes en la molécula.

| Clase de alcaloide | Ejemplos | |
|--------------------|------------|--------------------|
| Quinolina | Quinina | |
| Isoquinolina | Papaverina | Morfina Codeína |
| Indol | Vindolina | Vinblastina |

| | | |
|-----------------------|--|---|
| <p>Tropano</p> | <p>Atropina</p> <p><i>Atropa belladonna</i></p> | <p>Cocaína</p> <p><i>Erythroxylon coca</i></p> |
|-----------------------|--|---|

| | | |
|---------------|-------------|----------|
| Quinolizidina | Lupanina | Citisina |
| Piperidina | Nicotina | |
| Purina | Cafeína | |
| | Senecionina | |

Clases de alcaloides y ejemplos.

Algunas solanáceas (los géneros *Datura*, *Hyoscyamus* y *Atropa*) contienen alcaloides tóxicos como la escopolamina presente en *Datura stramonium* o la atropina de *Hyoscyamus niger*.

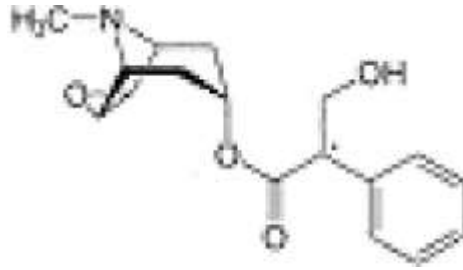


Figura 224. Estructura química de la escopolamina.

La patata contiene el alcaloide solanina, un inhibidor de colinesterasa que interfiere en la transmisión nerviosa. Los tubérculos sometidos a alta intensidad de luz pueden llegar a sintetizar niveles tóxicos de solanina.

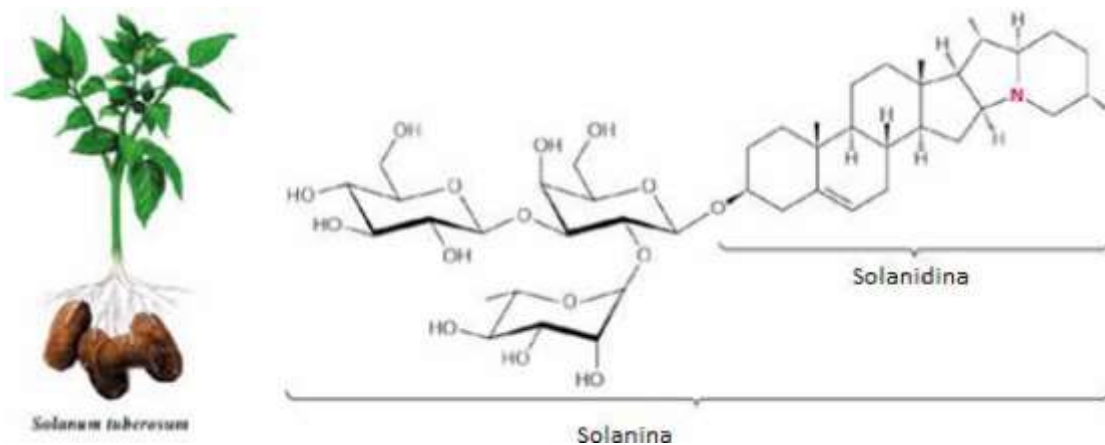


Figura 225. Estructura química de la solanina.

Etimológicamente, alcaloide es lo que tiene algo del álcali o que se parece a los álcalis. En realidad son sustancias que se comportan como aquéllos en relación con los ácidos y que además, contienen cierta parte de nitrógeno y que actúan sobre el organismo humano con gran energía. Es decir, son sustancias venenosas que cuando se emplean en dosis muy pequeñas, actúan como remedios curativos.

En este importante grupo de compuestos se incluyen principios activos dotados de actividades marcadas y/o de toxicidad. La palabra **alcaloide** fue utilizada por primera vez por W. Meissner en el primer cuarto del siglo XIX (1819) para designar algunos compuestos activos que se encontraban en los vegetales y que poseían carácter básico. Más tarde, Winterstein y Trier (1910) definieron los alcaloides, en un sentido amplio, como compuestos básicos, nitrogenados, de origen vegetal o animal.

La morfina fue el primer alcaloide descubierto y aislado en estado de pureza. Pero más o menos rápidamente se fueron hallando otros: en el café, la cafeína;

en la corteza de los quinos, la quinina, en la belladona, la atropina, en las hojas de la coca del Perú, la cocaína

En la actualidad se conocen más de 5000 alcaloides, restringidos a un número corto de familias botánicas y se continúa investigando en la búsqueda de nuevos compuestos pertenecientes a este grupo.

Su distribución es abundante en Angiospermas, especialmente Dicotiledóneas, siendo familias particularmente ricas: Apocynaceae, Asteraceae, Loganiaceae, Papaveraceae, Rubiaceae, Ranunculaceae, Solanaceae, etc. Entre las Monocotiledóneas destaca su presencia en dos familias: Amaryllidaceae y Liliaceae. Aparecen raramente en hongos, Criptógamas y Gimnospermas.

Respecto a la zona de elaboración, de una o de otra manera toda la planta sintetiza alcaloides. El tabaco, por ejemplo, no produce la nicotina ni en las hojas ni en el tallo, sino en la raíz, y una vez existente en ésta, la circulación de la savia la acarrea a los vástagos.

En la adormidera ocurre lo mismo. Los alcaloides del opio se encuentran en la raíz de esta planta, en los tallos, en las hojas, y se acumulan en gran cantidad en las cabezas del Papaver. Pero los alcaloides del opio, lo mismo que la nicotina del tabaco, no llegan a las simientes. Estas contienen sólo aceite y son inocuas.

ALCALOIDES “TROPANO”

Son alcaloides que poseen una estructura bicíclica hidroxilada, esterificada con ácidos orgánicos, que se origina por la condensación de un anillo pirrolidínico y otro piperidínico, compartiendo dos átomos de carbono.

El anillo piperidínico presenta una conformación en forma de silla. La disposición espacial del grupo alcoholico situado sobre el C₃, determina la existencia de dos tipos de estructuras tropánicas: 3- α -hidroxitropano o tropanol (hiosciamina, atropina, escopolamina) y 3- β -hidroxitropano o pseudotropanol (cocaína, tropococaína).

Los ácidos orgánicos pueden ser alifáticos (butírico, angélico, tíglico, etc.) o aromáticos (trópico, apotrópico, truxílico).

Tropano es un compuesto orgánico nitrogenado biciclo con fórmula química C₈H₁₅N. Es conocido fundamentalmente por el grupo de alcaloides derivado de este (denominado alcaloides tropánicos), que incluye, entre otros, atropina y cocaína. Ambos compuestos contienen tropinona de la que se deriva el tropano. Los alcaloides tropánicos aparecen en plantas de las familias Solanaceae (Datureae, Datura, Latua,^{1 2} Duboisia,³ Schizanthus), Erythroxylaceae (coca)^{4 5} y Convolvulaceae⁶ (Calystegia sepium.⁷ e Ipomoea violacea). El 8-Azabicyclo [3.2.1] octano (el derivado tropano sin el grupo 8-metilo) se conoce como nortropano nor-tropano.⁸

Cuadro 16. Principales características de los tropanos

| Tropano | |
|---------------------|--|
| Nombre químico | <i>8-Metil-8-azabicyclo[3.2.1]octano</i> |
| Fórmula química | C ₈ H ₁₅ N |
| Masa molecular | 125.211 g/mol |
| Densidad | 0.9259 a 15 °C |
| Punto de fusión | -7.9 °C |
| Punto de ebullición | 163-169 °C |
| Número CAS | 529-17-9 |
| Código ATC | |
| | |
| | |

Alcaloide tropano son una clase de alcaloides bicíclicos [3.2.1] y metabolitos secundarios que contienen un anillo de tropano en su estructura química. Alcaloides tropanos se producen de forma natural en muchos miembros de la familia de las solanáceas. Algunos alcaloides tropano tienen propiedades farmacológicas y pueden actuar como anticolinérgicos o estimulantes.

Los alcaloides derivados del 3- α -tropanol son especialmente abundantes en la familia Solanaceae. De las plantas que contienen este tipo de alcaloides se mencionarán, puesto que prácticamente no se emplean como tales en la terapéutica, las solanáceas belladona, estramonio y beleño. Los derivados del 3- β -tropanol se encuentran en las Erythroxylaceae y en concreto en la hoja de coca, *Erythroxylum coca* Lam. var. *Coca* y *E. novogranatense* de la que se conocen dos variedades. Estas hojas no se utilizan más que en las zonas de

origen (Perú, Ecuador, etc.), mascadas, para suprimir la sensación de fatiga y hambre o en forma de infusión —mate de cocall. La mayor parte de la producción se destina a la extracción de cocaína, para su comercio ilícito. La cocaína es un anestésico local que se utilizó en pequeñas intervenciones quirúrgicas pero que en la actualidad prácticamente no se emplea, solo en alguna formulación magistral. Sin embargo hay que destacar que fue el modelo para diversos anestésicos tópicos sintéticos

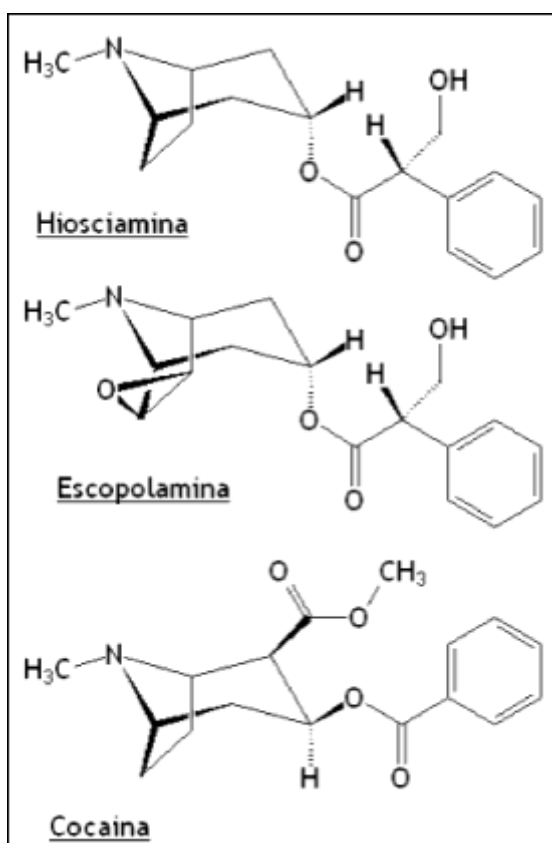


Figura 226. Alcaloides tropánicos

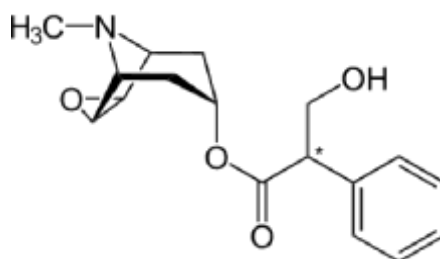


Figura 227. Alcaloide tropano. Estructura química de tropano

Los alcaloides derivados del Tropano son metabolitos secundarios que contienen en la estructura de sus moléculas átomos de nitrógeno secundario, terciario y cuaternario. Algunos de estos alcaloides funcionan como fitoalexinas o en la interacción planta-insecto, si bien también han sido utilizados como estimulantes, drogas, narcóticos y venenos. Actualmente se conoce la estructura química de aproximadamente 100.000 alcaloides, los cuales son sintetizados por diferentes rutas biosintética que han sido estudiadas desde hace 30 años. Estos estudios han incrementado substancialmente el conocimiento de la variedad de estructuras químicas conocidas y recientemente de la biosíntesis de los alcaloides indólicos, de los cuales actualmente se conocen 1500.

Son producidos por diferentes especies pertenecientes a la familia de las solanaceas. Dicha familia, cuenta con unos 90 géneros y más de 2,000 especies distribuidos en zonas templadas y tropicales de la tierra. Muchas son originarias de Sudamérica y de México, en donde se encuentran ampliamente distribuidas.

Entre las *solanáceas* se encuentran varias especies que son al mismo tiempo tóxicas y medicinales, como la belladona (*Atropa belladonna*), el estramonio o toloache (*Datura stramonium*), la mandrágora (*Mandragora officinarum*) y el beleño negro (*Hyscyamus niger*), especies que se han utilizado desde la más remota antigüedad como medicinales, pero que contienen *alcaloides* del grupo del tropano lo que las hace altamente tóxicas si no se utilizan debidamente.

Los derivados del tropano en la industria farmacéutica

Las plantas superiores son una fuente importante de diversos productos para la industria química, tales como los saborizantes, las fragancias, los pesticidas y los fármacos; tanto que en la actualidad el 25% de las formulaciones farmacéuticas comerciales en los Estados Unidos contienen por lo menos un producto obtenido a partir de plantas. Un caso particular es la adquisición de los alcaloides derivados del Tropano tales como la atropina, hiosciamina y escopolamina, los cuales se usan en más de 75 presentaciones farmacéuticas.

Un aspecto muy atractivo en las investigaciones sobre la producción de metabolitos secundarios, y en especial el relativo a los alcaloides con aplicaciones terapéuticas, es su elevado costo en el mercado internacional.

Obtención de alcaloides a nivel industrial

En la actualidad, existen dos alternativas a nivel industrial para la obtención de alcaloides derivados del Tropano

1.- La primera de ellas, es la extracción de estos compuestos a partir de diversas plantas pertenecientes a la familia de las solanaceas, principalmente de *Datura stramonium* (estramonio) que contiene de 0.2 a 0.7% y de *Atropa belladonna* (belladona) que contiene de 0.3 a 0.4% en base seca de alcaloides totales. Estos compuestos, deben su gran rango de empleo en la industria farmacéutica a su actividad **anticolinérgica y a su acción sobre el sistema nervioso central, estimulando o deprimiendo según sea el caso.** Otros

géneros empleados son *Mandragora autumnalis* (mandrágora) y *Hyoscyamus niger* (beleño negro), todos ellos con alcaloides Tropano.

2.- **La segunda, es la síntesis química**, propuesta por Fudor en 1961 y para el caso de la **escopolamina** la lograda a nivel laboratorio por el mismo autor en el año de 1956. Esta segunda alternativa tiene la desventaja de ser muy costosa debido a la complejidad de la molécula además de no obtenerse en forma pura.

Respecto a la obtención de metabolitos secundarios a partir de plantas, cabe decir que es un proceso que presenta algunas desventajas. Entre las más importantes se encuentran:

- el sacrificio de la planta completa
- Los problemas asociados con el suministro, heterogeneidad, transporte y almacenamiento de la materia prima.

Estos inconvenientes han provocado la búsqueda de nuevas alternativas para obtener metabolitos secundarios de interés comercial a gran escala.

En este sentido, se ha sugerido al cultivo de tejidos vegetales como una estrategia importante para la producción de metabolitos secundarios. Se ha logrado el cultivo de callos y células en suspensión de una gran variedad de especies productoras de alcaloides derivados del Tropano; sin embargo, en todos los casos, los rendimientos han sido mucho menores que los obtenidos en la planta completa.

La presencia de este problema ha hecho necesario es uso de varias estrategias para aumentar la productividad: empleo de dos medios de cultivo, uno para crecimiento y otro para la producción de los compuestos de interés; uso de diferentes concentraciones de fitoreguladores y diferentes condiciones de cultivo, tales como luz, temperatura, etc. lográndose, en algunos casos, aumentar un poco la producción de hiosciamina y sin lugar la producción de escopolamina. Sin embargo, estos cultivos son genéticamente inestables regresando a la producción original de dichos compuestos o perdiéndola definitivamente después de algunos subcultivos.

Dado que estos compuestos son sintetizados en las raíces de las especies productoras, se pensó en utilizar el cultivo de órganos, en este caso de raíces, para tratar de obtener líneas productoras de alcaloides tropánicos. A la fecha, los cultivos de tejidos diferenciados de algunas *Solanáceae*, producen alcaloides tropánicos a concentraciones similares o en mayor proporción que la planta y ofrecen otra alternativa para la producción de estos compuestos. Actualmente, se ha logrado el cultivo de raíces provenientes directamente de la planta o de callos que son diferenciados en estos órganos.

Sin embargo, el cultivo de raíces convencional, presenta grandes desventajas:

- * La velocidad de producción de biomasa es lenta requiere de auxinas para su crecimiento, lo cual provoca una disminución en el contenido de alcaloides.

* La baja estabilidad para mantenerse en cultivo

* La baja estabilidad en la producción de metabolitos secundarios

Recientemente, se ha reconocido el potencial que representa el cultivo de raíces transformadas para la obtención de productos vegetales que son sintetizados en la raíz

Esta transformación se logra al infectar una planta con la bacteria *Agrobacterium rhizogenes*. En el proceso de infección se transfiere al genoma de la planta un segmento del plásmido Ri (Root inducing) contenido en la bacteria, de manera que esta transformación origina la formación de raíces en el sitio de la infección.

Este fenotipo de raíces peludas (hairy roots) es estable en cultivo y crecen mucho más rápido que las raíces normales. Reportes previos demuestran que los cultivos de raíces transformadas de *Nicotiana spp.*, *Beta vulgaris*, *Atropa belladonna*, *Hyoscyamus muticus* y *Panax ginseng*, producen alcaloides cualitativa y cuantitativamente semejantes al patrón de la planta de la que provienen, aunque no se puede generalizar para todas las raíces peludas de otras especies.

Utilización terapéutica de los alcaloides tropánicos.

Desde la antigüedad las *Datura* han tenido una larga historia en ambos hemisferios como género botánico utilizado con propósitos medicinales (en la medicina tradicional) e intoxicantes (en ritos mágicos-religiosos). Característica interesante de ellas ha sido el descubrimiento en diferentes partes del mundo de sus efectos alucinógenos; efectos atribuidos a agentes sobrenaturales o mágicos que han causado en oportunidades temor. El libre uso de sus diferentes especies en el Viejo y Nuevo Continente en ceremonias mágico-religiosas como alucinógeno sagrado en oráculos, en el descubrimiento de propósitos ocultos, comunicación con espíritus, y profecía de eventos, ha causado una sorpresa no menor.

Avicenna, médico árabe del siglo XI, describe la intoxicación producida por una pequeña cantidad de la semilla de *Datura* conocida como Jouez matal, escribiendo de su valor medicinal. En la India, en el período sánscrito, el valor de la *D. metel* en la medicina tuvo relevancia en el tratamiento de desórdenes mentales, fiebre de diferentes orígenes, tumores, inflamación en los senos, enfermedad de la piel. En China L. Shihchen reportó el uso en la medicina de una de estas especies, man-t' o-lo (*D. alba*), para pústulas, prolapso anal, desórdenes nerviosos, tomada junto con *Cannabis* en licor como anestésico, para cirugía menor y cauterizaciones sin dolor. En otras partes del continente asiático también fue utilizada en similares patologías (Emboden 1975).

En África constituye el tratamiento básico para tratar heridas causadas por animales salvajes;

Comúnmente empleadas para eliminar algunas plagas a manera de insecticidas y en problemas respiratorios. En países del continente europeo

para ataques agudos de gota y reumatismo resultaron una solución efectiva y no muy costosa. En Australia, dada como infusión al mezclarse con extractos de otras hierbas en los emponzoñamientos por ofidios, resolvió un problema para las comunidades de escasos recursos.

Podemos concluir, entonces, después de haber incursionado en el uso que hacen de sus plantas gentes de sociedades más o menos primitivas que no hay parte del mundo donde no exista una "abuelita" que no conozca de las propiedades medicinales de las daturas, cuáles han sido transmitidos de generación a generación hasta nuestros días.

A través de una amplia gama de preparaciones (infusiones, tisanas, vapores, ungüentos), técnicas

de aplicación (cataplasma, baños, cigarrillos) y composición (otras hierbas, miel, leche) es que se obtienen de estos sus efectos benéficos.

Utilidad terapéutica.

Las daturas con sus diferentes especies poseen la misma utilidad terapéutica debido a que sus principios básicos esencialmente son los mismos.

Tal utilidad se debe a propiedades: 1) anticolinérgica (midriáticas, antiespasmódicas) ; 2) Anestésicas; 3) analgésicas; 4) sedativas-hipnóticas; 5) antiparkinsonianas; 6) afrodisíacas.

Propiedades que han hecho que dentro de la medicina "folklórica", ocupen un puesto de relevancia para el tratamiento de síntomas varios.

Cuadro 17. Patologías y las especies de Datura usadas en medicina popular.

| Datura | D. inoxia | C. mevel | D. stramonium | E. candida |
|---------------------|-----------|----------|---------------|------------|
| Tos | x | X | | |
| Bronquitis | X | | | |
| Asma | x | x | x | X |
| TBC | x | x | X | |
| Insomnio | | | x | X |
| Locura | | X | | |
| Histeria | | | X | |
| Delirio | | X | | |
| Delirium tremens | | | X | |
| Catalepsia | | | X | |
| Cefalea | | X | X | |
| Enf. Del Movimiento | X | | x | |

| | | | | |
|------------------------|---|---|---|---|
| Vértigo | X | | | |
| Afasia | | | X | |
| Ataxia | | | X | |
| Convulsiones | x | X | | |
| Epilepsia | | x | X | |
| Corea | | X | x | |
| Parquinsonismo | x | X | | |
| Lumbalgia | x | x | X | |
| Ciática | | X | | |
| Neuralgias | | | X | |
| Hipo | | | X | |
| Cólicos | | | X | |
| Tenesmo | x | X | | |
| Hiper-acidez | | | X | |
| Flautulencia | | | X | |
| Diarrea | | | X | |
| Hemorroides | X | x | | x |
| Fisuras anales | x | x | | |
| Prolapso rectal | | X | | |
| Eneuresis | | | X | |
| Hidrocele | | X | | |
| Epidimitis | | X | | |
| Orquitis | | X | | |
| sífilis | | X | | |
| Dismenorrea | | X | | |
| Dolores de parto | | | X | |
| Prolapso genital | | | X | |
| Enf. Venéreas | | X | | |
| Incontinencia Urinaria | | | | X |
| Acné | | X | x | |
| Caspa | x | X | | |
| Piorrea | X | | | |
| Odontalgias | | x | X | |
| Otalgia | x | x | X | |
| Otitis | | X | | |
| Abcesos | | | X | |
| Furúnculos | X | x | | |
| Escabiosis | x | X | | |
| Urticaria | X | x | | |
| Úlceras | x | X | | |
| Tumores | x | x | x | X |
| Mastitis | x | X | | |
| Mialgias | | X | | |
| Miopatias | | X | | |
| Parotiditis | | X | | |
| Fracturas | | | | X |

| | | | | |
|-------------------------|--|---|---|---|
| Anasarca | | | X | |
| Reumatismo | | x | x | X |
| Gota | | | X | |
| Tétano | | | X | |
| Quemaduras | | | X | |
| Mordeduras de serpiente | | | X | |
| Antiparasitario | | X | x | |
| Tiña | | x | X | |
| Herpes | | X | | |

Anticolinérgicos

Los fármacos anticolinérgicos y delirantes:

- Atropina, racémica hyoscyamina, de la belladona (*Atropa belladonna*)
- Hiosciamina, el *levo*-isomero de atropina, del beleño (*Hyoscyamus niger*) y mandrágora (*Mandragora officinalis*)
- Escopolamina, del beleño y especies de *Datura*.

Las tres acetilcolinas químicas también se pueden encontrar en las hojas, tallos y flores en cantidades variables desconocidas en *Brugmansia* un pariente de *Datura*.

Estimulantes

Estimulantes y alcaloides relacionados con la cocaína:

- Cocaína, de *Erythroxylum coca*
- Ecgonina, un precursor y metabolito de la cocaína
- Benzoilecgonina, un metabolito de la cocaína.
- Hydroxytropacocaina, de *Erythroxylum coca*
- Cinamato methylecgonina, de *Erythroxylum*

coca Otros

Catuabinas, encontrados en catuaba, una infusión hecha de *Erythroxylum vacciniifolium*

- Escopina

Tropanos no naturales

Existen algunos análogos sintéticos de alcaloides tropano, ver

- Feniltropanos

No se considera que son alcaloides por definición.

PRINCIPIOS ACTIVOS EN EL GENERO DATURA

1. Generalidades.

En las plantas, la formación de alcaloides puede considerarse un proceso metabólico. Estos cumplen en ellas funciones diversas, actuando como depósitos para síntesis proteica, regulando actividades tales como crecimiento, metabolismo, reproducción; constituyen sustancias de reserva capaces de proveer nitrógeno y otros elementos necesarios para la economía, actuando como núcleos de coenzimas y hormonas.

2. Origen y Estructura.

(Albornoz 1980). Las plantas de la familia de las Solanáceas son ricas en alcaloides; sus diferentes géneros botánicos los poseen del tipo tropánico. Este grupo de alcaloides tiene como precursor biosintético la Ornitina que forma el anillo pirrolidínico de la tropina y fenil alanina precursor del ácido trópico. Estructuralmente, son núcleos heterocíclicos, ésteres de la base cíclica tropina con un ácido orgánico. El tropano es un anillo bicíclico formado por la condensación de la N-metil-pirrolidina con la piperidina. Forma un derivado 3-OH, llamado tropina o tropanol, que constituye la parte básica de estos alcaloides. El ácido trópico se comporta como un ácido BOH carboxílico.

a. Atropina e Hiosciamina: Son respectivamente los ésteres de (+) y (-) del ácido trópico con la tropina. Es decir, que la atropina es la forma racémica de la (-) hiosciamina; en la naturaleza ella se encuentra en esta forma. Med-ULA, Revista de la Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes. Vol.5 N°1-4. 1996 (publicado 1999). Mérida. Venezuela 6 La atropina se comporta como una base muy fuerte con pka 10 ópticamente inactiva. Ambos alcaloides son fácilmente hidrolizados en soluciones acuosas ácidas o alcalinas para formar tropina y ácido trópico.

b. Hiosina Escopolamina: Es el estero-isómero (-) y se obtiene en esta forma esteroquímica a partir de la planta. Es una base más débil (pka 7,6) que la hiosciamina, aunque ambas muestran una gran similitud en su comportamiento químico. La hidrólisis alcalina produce ácido trópico y la base llamada escopolina. Los isómeros L (-) de ambos alcaloides son por lo menos cien veces más potentes que los isómeros D (+).

1. Cocaína: Químicamente se corresponde a la tropina 2-ácido carboxílico.

2. Pseudopelleterina Amina terciaria derivada de la tropinona, con un oxígeno en un grupo carbonilo.

3. Alcaloides tropánicos en el género Datura. (Blohm 1962, Evans, Hofmann 1973)

En el género Datura, los alcaloides tropánicos constituyen los principios activos, siendo los esenciales: La escopolamina (C₁₇H₂₁O₄N), la hiosciamina

(C₁₇H₂₂O₃N) y la atropina (C₁₇H₂₃O₃N), los cuales se encuentran presentes en todas las especies del género. Con respecto a su contenido en alcaloides tropánicos secundarios su producción es menor en relación con los principios esenciales; Sin embargo la proporción, concentración y formación de estos principios secundarios varía de una especie a otra. De esta manera algunos de ellos pueden encontrarse en forma importante, (tal es el caso de los meteloidina de la *D. metel*), apenas ser producidos en algunas etapas del desarrollo vegetal o simplemente no sintetizarse. Son ellos: Meteloidina C₁₃H₂₁O₄N; Norbiosciamina C₁₇H₂₁ O₃N; Oscina C₁₁H₁₈O₄N; Nor-hioscina C₁₇H₂₁ O₄N; Apo-atropina, Nor-atropina; Tropina; 3 α ,6 β -ditigloiloxitropano-7-ol; 3 α -tiglioloxitropano

Utilización terapéutica de los alcaloides tropánicos.

1.Generalidades

Desde la antigüedad las *Datura* han tenido una larga historia en ambos hemisferios como género botánico utilizado con propósitos medicinales (en la medicina tradicional) e intoxicantes (en ritos mágicos-religiosos).

Característica interesante de ellas ha sido el descubrimiento en diferentes partes del mundo de sus efectos alucinógenos; efectos atribuidos a agentes sobrenaturales o mágicos que han causado en oportunidades temor. El libre uso de sus diferentes especies en el Viejo y Nuevo Continente en ceremonias mágico-religiosas como alucinógeno sagrados en oráculos, en el descubrimiento de propósitos ocultos, comunicación con espíritus, y profecía de eventos, ha causado una sorpresa no menor (Evans 1979).

Avicenna, médico árabe del siglo XI, describe la intoxicación producida por una pequeña cantidad de la semilla de *Datura* conocida como *Jouez matal*, escribiendo de su valor medicinal. En la India, en el período sánscrito, el valor de la *D. metel* en la medicina tuvo relevancia en el tratamiento de desórdenes mentales, fiebre de diferentes orígenes, tumores, inflamación en los senos, enfermedad de la piel. En China L. Shihchen reportó el uso en la medicina de una de estas especies, *man-t' o-lo* (*D. alba*), para pústulas, prolapso anal, desordenes nerviosos, tomada junto con *Cannabis* en licor como anestésico, para cirugía menor y cauterizaciones sin dolor. En otras partes del continente asiático también fue utilizada en similares patologías (Emboden 1975).

En África constituye el tratamiento básico para tratar heridas causadas por animales salvajes; comúnmente empleadas para eliminar algunas plagas a manera de insecticidas y en problemas respiratorios.

En países del continente europeo para ataques agudos de gota y reumatismo resultaron una solución efectiva y no muy costosa. En Australia, dada como infusión al mezclarse con extractos de otras hierbas en los emponzoñamientos por ofidios, resolvió un problema para las comunidades de escasos recursos. En nuestro continente y en las zonas rurales de nuestro país, para aliviar dolores de parto, reumatismo, solucionar problemas de calvicie y otros (García Barriga 1972).

Podemos concluir, entonces, después de haber incursionado en el uso que hacen de sus plantas gentes de sociedades más o menos primitivas que no hay parte del mundo donde no exista una "abuelita" que no conozca de las propiedades medicinales de las daturas, cuales han sido transmitidos de generación a generación hasta nuestros días. A través de una amplia gama de preparaciones (infusiones, tisanas, vapores, ungüentos), técnicas de aplicación (cataplasma, baños, cigarrillos) y composición (otras hierbas, miel, leche) es que se obtienen de estos sus efectos benéficos.

2. Utilidad terapéutica.

(Arellano Parra 1983, Blohn 1962, Evans 1979, Evans, Hofmann 1973, López 1971, Schavarstman 1979). Las daturas con sus diferentes especies poseen la misma utilidad terapéutica debido a que sus principios básicos esencialmente son los mismos. Tal utilidad se debe a propiedades:

1) anticolinérgicas (midriáticas, antiespasmódicas, etc.); 2) anestésicas; 3) analgésicas; 4) sedativas-hipnóticas; 5) antiparkinsonianas; 6) afrodisíacas. Propiedades que han hecho que dentro de la medicina "folk", ocupen un puesto de relevancia para el tratamiento de síntomas varios, los cuales se mencionan en la tabla

1. Intoxicación por datura

Rango de toxicidad

El rango de toxicidad es altamente variable e impredecible. Todas las partes de las plantas son venenosas (Schavarstman 1979). Se puede señalar acertadamente que la intensidad de la intoxicación depende de:

- a.- La concentración del principio activo involucrado en un episodio dado. Patologías y las especies de *Datura* usadas en medicina popular
- b.- La sensibilidad particular del paciente a los principios activos más importantes.
- c.- La prontitud y efectividad del tratamiento.

La concentración de alcaloides en estas plantas varía años tras años, entre las diferentes especies y aún la misma planta (raíz, tallo, hojas, semillas, etc.), dependiendo de factores que afectan su crecimiento (humedad, tipo de terreno, pluviosidad, etc.). Por este motivo se hace prácticamente imposible asociar la sintomatología con la cantidad y el material vegetal (semilla, hojas, etc.) ingeridos. Por otra parte el porcentaje de principios activos es más elevado en horas de la mañana que en las de la tarde. La hioscina predomina en las daturas jóvenes y la hiosciamina en las plantas maduras. En período de lluvia la concentración de alcaloides tropánicos disminuye considerablemente.

Cada especie varía con respecto a su concentración de alcaloides, de igual manera la proporción de estos, es diferente para cada uno de los órganos de la planta.

En Venezuela la mayor cantidad de alcaloides se encuentra en la *D. metel*, seguida de la *D. inoxia* y la *D. stramonium*. El órgano o parte de la planta que contiene mayor cantidad para las diferentes especies es la flor, constituyendo una excepción la *D. metel* (Zoghbi, Arellano Parra 1979).

1. Mecanismo de acción.

Los alcaloides tropánicos anticolinérgicos bloquean la acción de la acetilcolina por un mecanismo de inhibición competitiva en el nivel del sitio del receptor. En el caso de la intoxicación anti-colinérgica cerebral, se acompaña de signos de bloqueo muscarínico periférico. Los ganglios autonómicos son afectados en menor grado; los receptores nicotínicos en el nivel de la placa neuromuscular no son afectados por el agente que bloquea los receptores muscarínicos.

2. Manifestaciones clínicas.

La toxicidad producida por los principios activos del género *Datura*, corresponde a un síndrome de intoxicación anticolinérgica. Clásicamente se describe con una popular mnemotécnica: "Caliente como el infierno, Ciego como un murciélago, Rojo como una remolacha, Seco como el hueso, Loco como una gallina". Los síntomas pueden aparecer después de 5 a 10 minutos, post-ingesta (Goldfrank 1990).

Cuadro Clínico.

(Arellano Parra 1983, Belton 1979, Blohm 1968, Dreishabach, Robertson 1989, Ellenhorn, Barceloux 1988, Gowdy 1972, Hall et al. 1977, Lee 1990, Mikolich et al. 1975, Rumack, et al. 1983).

Dermatológico:

Piel enrojecida y seca, particularmente en cara y cuello. Disminución de la sudoración.

O.R.L.: Midriasis con pérdida de la acomodación para visión cercana.

Cardiovascular: Taquicardia sinusal, especialmente en niños y adultos jóvenes e hipertensión arterial. El desarrollo de arritmias y paro cardíaco puede ocurrir aunque en forma poco frecuente, comprometiendo la vida del paciente.

Gastrointestinal: Cavidad bucal seca que dificulta la deglución y el lenguaje, haciéndolo poco comprensible. Disminución tonalidad gastrointestinal, con pérdida de los ruidos hidroaéreos y que pueden llegar a producir íleo intestinal.

Genitourinario: Retención urinaria que puede ameritar cateterización.

Neurológico: Ansiedad, delirio, desorientación, alucinaciones, ataxia y amnesia son frecuentes; convulsiones pueden presentar pero no son usuales; movimientos mioclónicos esporádicos, coreoatetosis e hiperreflexiva osteotendinosa están presentes. En intoxicaciones severas puede producirse coma.

Regulación de la Temperatura: Hiperpirexia que puede llegar a comprometer la vida del paciente. (Med-ULA, Revista de la Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes. Vol.5 N°1-4. 1996 (publicado 1999). Mérida. Venezuela 9 paciente, especialmente en niños. Los síntomas usualmente se resuelven en 24 horas, aunque la dilatación pupilar puede persistir hasta una semana. A menudo los pacientes experimentan amnesia para eventos ocurridos entre la ingestión y el restablecimiento, las complicaciones médicas por sobredosis que pueden

conducir a la muerte son muy raras, pero se han reportado especialmente en niños.

3. Laboratorio.

(Fábrega 1988, Lee, Ricardi 1956).

General (complementarios): Perfil hepático donde pueden registrarse: Aumento de la TGO y LDH, Tiempo de Protombina prolongado, Bilirrubina aumentada. **Toxicológico:** Los agentes anticolinérgicos pueden determinarse en orina mediante:

- Ensayo de Ekkert: Añadir a 20 ml de la muestra 3-4 gotas de reactivo de Ekkert; en presencia de atropina y escopolamina se obtiene una coloración rojo violácea.
- Ensayo de Gulielmo: A miligramos de la muestra sospechosa, se le agregan 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado, se desarrolla un color marrón que al diluir en agua produce un intenso olor floral.
- Ensayo con Cloruro de Mercurio: Color miligramos de la muestra sospechosa y adicionar 20 gotas de solución de cloruro de mercurio al 2% en etanol al 50%, lentamente. Se obtendrá un color rojo.
- Reactivo de Marquis: En presencia de atropina suministra los colores marrón y verde parduzco al calentar.
- Reactivo de Mandellin: Color rojo pasa a amarillo.
- Reacción de Vitali: al residuo etéreo de 1 gramo de droga obtenido con la reacción general de alcaloides, se le trata con gotas de ácido nítrico fumante, se evapora a sequedad y se dejan escurrir unas gotas de potasa alcohólica; aparece una coloración violeta fugas, que pasa al pardo.
- Reacción de Wasicky (p-dimetilaminovenzaldehido): Al residuo alcaloide, obtenido con la reacción de Vitali, se agrega en caliente una gota de S.R. de Wasicky, con lo cual aparecerá una coloración roja que empieza por los bordes de la gota.
- Ensayo de Brunner: Se coloca la muestra en una cápsula de porcelana y se adiciona uno o dos cristales de ácido crómico, calentando suavemente hasta que el color que se observa es verde. Se produce una fragancia floral característica.

4. Tratamiento.

(Dreisbach, Robertson 1989, Ellenhorn, Barceloux 1988, Goldfrank 1990, Lee 1990, Rumack 1983)

Exposición Oral/Parental: Medidas de Sostén, Mantienen una vía aérea permeable, ventilación asistida, si es necesario sonda vesical (eventual).

Descontaminación: Dado que existe una disminución de la motilidad intestinal a todo paciente que haya ingerido material vegetal de Datura deberá practicársele medidas de descontaminación. Se ha reportado la recuperación de semillas hasta 36 horas después de su ingestión.

Emesis: Es más efectiva si se induce dentro de los 30 minutos posteriores a la ingestión substancial. Está indicada en pacientes con reciente ingestión substancial que no tengan o vayan a desarrollar en poco tiempo convulsiones, o deterioro del estado de conciencia.

Jarabe de ipeca: Dosis: Adultos: 30 ml. Niños de 1 a 12 años: 15 ml.

Lavado gástrico: Carbón activado / catártico salino, administrar una suspensión de carbón activado y 30 mm, después la dosis de catártico. Carbón activado: Dosis: Adultos: 30-100g. Niños: 15-30g.

Catártico salino: Sulfato de magnesio o sulfato de sodio. Dosis: Adultos: 30 g. Niños: 250 mg/kg.

Antídoto y drogas no específicas: Fisostigmina: Antagonista de la Atropina. Dosis: Adulto inicial: 2 mg IV a pasar en 5 mm; una segunda dosis 1-2 mg IV, puede repetirse a los 20 mm. La dosis de 1 mg IV cada 15-20 mm, puede repetirse hasta revertir los efectos o si estos reaparecen. Niños: 0.002 mg/kg. Jamás por infusión continua.

Indicaciones específicas para su uso: alucinaciones, convulsiones, hipertensión arterial, arritmias, coma. Este último puede revertirse en forma rápida en algunos casos, sin embargo no debe emplearse para mantener al paciente vigil. **Contraindicaciones:** asma, gangrena, enfermedad cardiovascular, obstrucción mecánica Med-ULA, Revista de la Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes. Vol.5 N°1-4. 1996 (publicado 1999). Mérida. Venezuela 10 del tracto gastrointestinal y genito-urinario; sin embargo, si la vida del paciente se encuentra en peligro, las anteriores pasan a un segundo plano.

Mecanismo de acción: Es un agente anticolinesterásico, que actúa inhibiendo la enzima acetilcolinesterasa por una reacción de carbomovilización, incrementando la disponibilidad de la acetilcolina.

Alternativas terapéuticas antidóticas: La Neostigmina y la Piridostigmina son también agentes anticolinesterásicos, pero poseen un grupo amino cuaternario que no le permite atravesar la barrera hematoencefálica en el sistema nervioso central y por lo tanto no revierten el coma.

Drogas específicas:

Propanolol: Debe ser considerado para el tratamiento de las taquiarritmias, sin embargo no es tan efectivo como la fisostigmina. Dosis: Adultos: 1 mg IV c/2-5 minutos máx total 5 mg. Niños: 0.001 a 0.1 mg/kg, dosis IV, máx 1 mg/dosis.

Diacepam: En los casos de convulsiones. Dosis: Respuesta.

Desametasona: En los casos de hiperpirexia que no cede con medios físicos. Dosis: 1 mg/kg IV. Vitamina C: Alcaliniza el pH urinario y elimina el "componente malo" del viaje. Esquema: 2 g Ivstat, 1 g c/2 horas durante 12 horas IV. 6 g a infusión continua en solución glucosalina durante 12 horas. Contraindicados por sus propiedades anticolinérgica

REFERENCIAS

1. Muñoz O. & Peña R.C. 2005. Solanáceas pp. 127-143 en Muñoz O. & V. Fajardo (ed.) Flora de Chile Biología, Farmacología y Química. Universidad de Playa Ancha (Imp.)
2. <http://www.znaturforsch.com/ac/v58c/s58c0626.pdf>
3. Evans, W.C. 1977 Tropane alkaloids of Solanaceae. pp. 241-254. In Hawkes, J.G., Lester R. N., Skelding A.D. The biology and chemistry of Solanaceae. Linn. Soc. Symp. Series 7, capítulo 17

4. «Atropine content of plants». *USDA, ARS, National Genetic Resources Program. Phytochemical and Ethnobotanical Databases. [Online Database] National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland.* Consultado el 25 de julio de 2005.
5. «Cocaine content of plants». *USDA, ARS, National Genetic Resources Program. Phytochemical and Ethnobotanical Databases. [Online Database] National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland.* Consultado el 25 de julio de 2005.
6. Griffin W.J. & Lin G.D. 2000. Chemotaxonomy and geographical distribution of tropane alkaloids *Phytochemistry* 53, 623-637
7. Dräger, B. 2004 Chemistry and biology of calystegines *Nat. Prod. Rep.* 21 ,211-223
8. IUPAC provisional recommendations Parent structures for natural product and related compounds cap. 10, 2004

Derivados de las PIRROLIDINAS (C₄ N)

La *higrina* (del griego *hygro*, Húmedo) y la *cuscohigrina* son bases oleosas que se encuentran como alcaloides secundarios acompañando a la cocaína en las

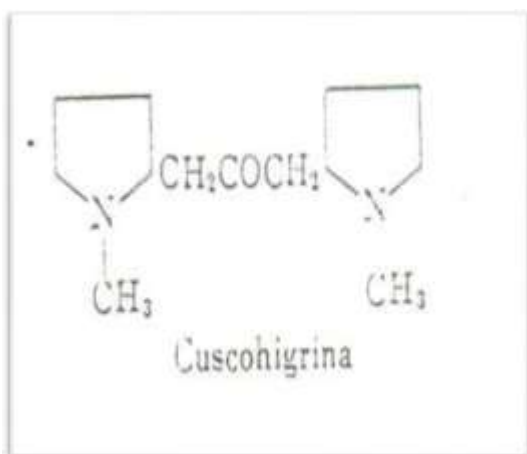


Figura 228. Cusconigrina

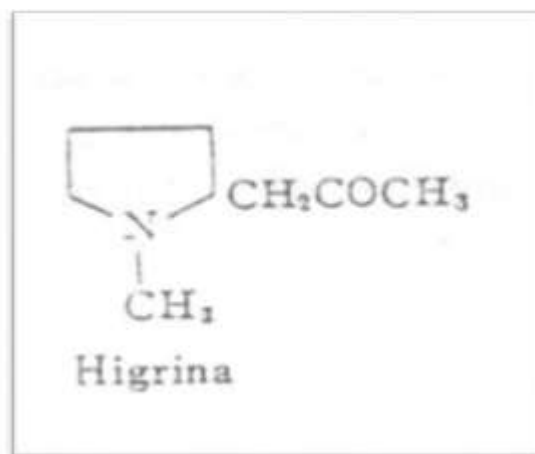


Figura 229. Higrina de hojas de coca de la región de Cuzco, Perú.

*Acción estimulante

Intermedios entre xantinas y anfetaminas

*Diferencia con anfetaminas

Carecen de efectos SM

Carecen de acción anorexígena

Sólo altas dosis: aumento presión arterial

***Importancia clínica**

Discutida y relativa

Figura en especialidades farmacéuticas asociadas a

Vitaminas y otros factores

***Acción**

Estimulación de las funciones psíquicas

***Toxicidad**

Poco tóxicas

Dosis elevadas: excitabilidad, insomnio y cefaleas

***Medicamentos: Katovit**

Convalecencias, fatiga psíquica, depresiones leves

BIBLIOGRAFIA

<http://ecotropicos.saber.ula.ve/db/ssaber/Edocs/pubelectronicas/medula/Vol5num1-4/articulo1.pdf>

<http://html.rincondelvago.com/actividad-biologica-de-alcaloides-tropano.html>

http://www.google.com.pe/search?hl=es&lr=lang_es&q=usos+de+los+pirrolidinos&start=10&sa=N

<http://www.agro.unlpam.edu.ar/catedras-pdf/ALCALOIDES.pdf>

POLIACETATOS

Ácido Graso

Un **ácido graso** es una biomolécula orgánica de naturaleza lipídica formada por una larga cadena hidrocarbonada lineal, de número par de átomos de carbono, en cuyo extremo hay un grupo carboxilo. Cada átomo de carbono se une al siguiente y al precedente por medio de un enlace covalente sencillo o doble. Al átomo de su extremo le quedan libres tres enlaces que son ocupados por átomos de hidrógeno (H₃C-). Los demás átomos tienen libres dos enlaces, que son ocupados igualmente por átomos de hidrógeno (... -CH₂-CH₂-CH₂- ...).

En general (aunque a veces no), podemos escribir un ácido graso genérico como R-COOH, en donde R es la cadena hidrocarbonatada que identifica al ácido en particular.

Los ácidos grasos forman parte de los fosfolípidos y glucolípidos, moléculas que constituyen la bicapa lipídica de todas las membranas celulares. En los mamíferos, incluido el ser humano, la mayoría de los ácidos grasos se encuentran en forma de triglicéridos, moléculas donde los extremos carboxílico (-COOH) de tres ácidos grasos se esterifican con cada uno de los grupos hidroxilos (-OH) del glicerol (glicerina, propanotriol); los triglicéridos se almacenan en el tejido adiposo (grasa).

Estructura química

Los ácidos grasos constan de una cadena alquílica con un grupo carboxil (-COOH) terminal; la fórmula básica de una molécula completamente saturada es $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$. Los ácidos grasos de los mamíferos tienen estructuras relativamente sencillas, pero los de otros organismos pueden ser muy complejos, con anillos ciclopropano o abundantes ramificaciones.

Son frecuentes los ácidos grasos insaturados (con dobles enlaces), casi siempre de configuración cis; cuando hay más de un doble enlace por molécula, siempre están separados por un grupo metileno (-CH₂-). Los ácidos grasos comunes en los seres vivos tienen un número par de átomos de carbono, aunque algunos organismos sintetizan ácidos grasos con un número impar de carbonos. Algunos animales, incluido el ser humano, también producen ácidos grasos ramificados, con uno o varios grupos metilo (-CH₃) a lo largo de la cadena, como es el caso de las estructuras de ecolocalización de los cetáceos en que se hallan grandes cantidades de ácido isovalérico.

Propiedades

Los ácidos grasos son moléculas anfipáticas, es decir, tienen una región apolar hidrófoba (la cadena hidrocarbonada) que repele el agua y una región polar hidrófila (el extremo carboxílico) que interactúa con el agua. Los ácidos grasos de cadena corta son más solubles que los ácidos grasos de cadena larga porque la región hidrófoba es más corta.

Si se colocan ácidos grasos en agua o en otro disolvente polar forman una capa superficial debido a su baja densidad; formarán una película con sus colas (la parte no polar) orientadas hacia arriba, fuera del agua, de manera que no quedan en contacto con la misma y la cabeza polar dentro del agua. Si se agita, las colas tienden a relacionarse entre sí mediante interacciones hidrofóbicas creando ambientes donde no hay agua, como es el caso de una micela ya sea monocapa o bicapa.

Nomenclatura

Los átomos de carbono de los ácidos grasos se numeran empezando por el carbono carboxílico (-COOH), que recibe el número 1 o y la letra α ; el carbono 2 es el que queda inmediatamente tras el 1 y se le otorga la letra β (de donde

proviene el término β -oxidación, que es la ruta metabólica de degradación de los ácidos grasos en la matriz mitocondrial. Independientemente del número de carbonos del ácido graso, el último carbono es el del extremo metilo (CH_3-), al que se le asigna la letra ω (omega, la última letra del alfabeto griego).

El modo oficial de denominar los ácidos grasos consiste en el número de átomos de carbono seguido por dos puntos y el número de dobles enlaces; la localización de los mismos se designa por el número del átomo de carbono donde empieza, contando a partir del extremo carboxílico. Así, el ácido oleico se designa 18:1(9); el número 18 nos indica el número de carbonos, el 1 tras los dos puntos, el número de dobles enlaces y el 9 entre paréntesis que este doble enlace comienza en el 9º carbono (está entre el 9º y el 10º), contando desde el extremo $-\text{COOH}$.

No obstante, se usa otro modo de designación de los ácidos grasos insaturados, que ha adquirido bastante popularidad: la posición que ocupan los dobles enlaces se indica con respecto al último carbono de la cadena (el extremo CH_3-), o sea, el carbono ω ; de ahí derivan las denominaciones de ω -3, ω -6, etc. Un ácido graso ω -3 será el que tenga su primer doble enlace entre los carbonos 3 y 4, y un ácido graso ω -6 tendrá el primer doble enlace entre los carbonos 6 y 7, siempre a contar desde el extremo CH_3- .

Dado que el primer método empieza a contar desde el extremo $-\text{COOH}$ y el segundo desde el extremo CH_3- , puede producirse cierta confusión.

Clasificación

Ácidos grasos saturados: Son ácidos grasos sin dobles enlaces entre carbonos; tienden a formar cadenas extendidas y a ser sólidos a temperatura ambiente, excepto los de cadena corta.

- Cadena corta (volátiles)
 - Ácido butírico (ácido butanoico)
 - Ácido isobutírico (ácido 2-metilpropionico)
 - Ácido valérico (ácido pentanoico)
 - Ácido isovalérico (ácido 3-metilbutanoico)
- Cadena larga:
 - Ácido mirístico, 14:0 (ácido tetradecanoico)
 - Ácido palmítico, 16:0 (ácido hexadecanoico)
 - Ácido esteárico, 18:0 (ácido octadecanoico)

Ácidos grasos insaturados: Son ácidos grasos con dobles enlaces entre carbonos; suelen ser líquidos a temperatura ambiente.

- Ácidos grasos monoinsaturados. Son ácidos grasos insaturados con un solo doble enlace.
 - Ácido oleico, 18:1(9) (ácido cis-9-octadecenoico)
- Ácidos grasos poliinsaturados. Son ácidos grasos insaturados con varios dobles enlaces.
 - Ácido linoleico, 18:2(9,12) (ácido cis, cis-9,12-octadecadienoico) (es un ácido graso esencial)
 - Ácido linolénico, 18:3(9,12,15) (ácido cis-9,12,15-octadecadienoico) (es un ácido graso esencial)
 - Ácido araquidónico, 20:4(5,8,11,14) (ácido cis-5,8,11,14-eicosatetrienoico) (es un ácido graso esencial)
- Ácidos grasos cis. Son ácidos grasos insaturados en los cuales los dos átomos de hidrógeno del doble enlace están en el mismo lado de la molécula, lo que le confiere un "codo" en el punto donde está el doble enlace; la mayoría de los ácidos grasos naturales poseen configuración *cis*.
- Ácidos grasos trans. Son ácidos grasos insaturados en los cuales los dos átomos de hidrógeno están uno a cada lado del doble enlace, lo que hace que la molécula sea rectilínea; se encuentra principalmente en alimentos industrializados que han sido sometidos a hidrogenación, con el fin de solidificarlos (como la margarina).

Ácidos grasos esenciales

(AGE) Ácido graso esencial

Se llaman ácidos grasos esenciales a algunos ácidos grasos, como el linoleico, linolénico o el araquidónico que el organismo no puede sintetizar, por lo que deben obtenerse por medio de la dieta.

Tanto la dieta como la biosíntesis suministran la mayoría de los ácidos grasos requeridos por el organismo humano, y el exceso de proteínas y glúcidos ingeridos se convierten con facilidad en ácidos grasos que se almacenan en forma de triglicéridos.

No obstante, muchos mamíferos, entre ellos el hombre, son incapaces de sintetizar ciertos ácidos grasos poliinsaturados con dobles enlaces cerca del extremo metilo de la molécula.¹ En el ser humano es esencial la ingestión un precursor en la dieta para dos series de ácidos grasos, la serie del ácido linoleico (serie ω -6) y la del ácido linolénico (serie ω -3).

Biosíntesis de ácidos grasos

El primer paso en la biosíntesis de ácidos grasos es la síntesis de ácido palmítico, ácido graso saturado de 16 carbonos; los demás ácidos grasos se obtienen por modificaciones del ácido palmítico.

El ácido palmítico se sintetiza secuencialmente en el citosol de la célula, gracias a la acción del polipéptido multienzimático ácido graso sintasa, por adición de unidades de dos carbonos aportadas por el acetil coenzima A; el proceso completo consume 7 ATP y 14 NADPH; la reacción global es la siguiente:



La fuente principal de acetil-CoA proviene del citrato (véase ciclo de Krebs) que es transportado desde la matriz mitocondrial al citosol por un transportador específico de la membrana interna mitocondrial; una vez en el citosol, el citrato es escindido en oxalacetato y acetil-CoA, reacción que consume 1 ATP. El poder reductor, en forma de NADPH, lo suministra la ruta de la pentosa fosfato.

El cuerpo humano puede sintetizar casi todos los ácidos grasos que requiere a partir del ácido palmítico, mediante la combinación de estos mecanismos:

- **Alargamiento.** Mediante este proceso, que tienen lugar en el retículo endoplasmático y en la mitocondrias, se adicionan unidades de dos carbonos a la cadena de C_{16} del ácido palmítico, obteniéndose ácidos grasos de hasta C_{24} .
- **Desaturación.** Mediante este proceso, que se produce en el retículo endoplasmático, se introducen dobles enlaces *cis* en la cadena hidrocarbonada de ácidos grasos saturados; el proceso es complejo e implica al NADPH, al citocromo b₅ y diversos enzimas (como las desaturasas).

Degradación de ácidos grasos

Una de las principales funciones de los ácidos grasos es la de proporcionar energía a la célula; a partir de los depósitos de triglicéridos, las lipasas liberan ácidos grasos que, en la matriz mitocondrial, serán escindidos en unidades de dos carbonos en forma de acetil-CoA, proceso conocido como β -oxidación; el acetil-CoA ingresa en el ciclo de Krebs y los NADH y FADH₂ en la cadena respiratoria.

Papel biológico de los ácidos grasos

Función energética

Los ácidos grasos son moléculas muy energéticas y necesarias en todos los procesos celulares en presencia de oxígeno, ya que por su contenido en hidrógenos pueden oxidarse en mayor medida que los glúcidos u otros compuestos orgánicos que no están reducidos.

Cuando es demasiado bajo el nivel de insulina o no hay suficiente glucosa disponible para utilizar como energía en los procesos celulares, el organismo quema ácidos grasos para ese fin y origina entonces cuerpos cetónicos, productos de desecho que causan una elevación excesiva del nivel de ácido en la sangre, lo que podría conducir a la cetoacidosis, un problema importante y muchas veces ignorado o pospuesto hasta otra vez. Los síntomas de esta enfermedad van desde la presencia de un aroma a quitaesmalte en el aliento, hasta la aparición de pequeñas manchas de color amarillento (o verduzco) sobre la piel, y la ligera acidificación del semen, que conlleva un cierto dolor al eyacular. (Véase también: Cetoacidosis diabética).

Función estructural

Los ácidos grasos son componentes fundamentales de los fosfolípidos y esfingolípidos, moléculas que forman la bicapa lipídica de las membranas y de todas las células.

Función reguladora

Algunos ácidos grasos son precursores de las prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos, moléculas con una gran actividad biológica, que intervienen en la regulación y control de numerosos procesos vitales, como la respuesta inflamatoria, regulación de la temperatura corporal, procesos de coagulación sanguínea, contracción del músculo liso, etc.

QUINONAS

A partir del acetil-S-Co A y a través de una serie de condensaciones entre unidades dicarbonadas se originan los poliacetatos. Por reducción se forman los ácidos grasos, por ciclación una gran variedad de compuestos aromáticos como las quinonas y otros metabolitos que surgen a través de rutas mixtas como son los flavonoides, xantonas o terpenofenoles del cáñamo indiano y a través de la generación del ácido mevalónico, a la biosíntesis de los compuestos terpénicos.

De todo este grupo de poliacetatos nos vamos a ocupar en este capítulo de una serie de compuestos fenólicos que tienen en común un anillo quinónico

Las quinonas son muy abundantes en la naturaleza, en el Reino Vegetal se encuentran tanto en vegetales superiores como en hongos y bacterias. Dependiendo del grado de complejidad de su estructura química pueden clasificarse en benzoquinonas, naftoquinonas o antraquinonas si son estructuras monocíclicas, bicíclicas o tricíclicas.

El grupo de las benzoquinonas tiene escaso interés desde el punto de vista de la fitoterapia aunque si es necesario conocer su importante poder alergizante. Muchas benzoquinonas y algunas naftoquinonas se comportan como haptenos que al combinarse con los grupos amino o tiol de las macromoléculas pueden inducir dermatitis por sensibilización.

Las naftoquinonas, localizadas preferentemente en vegetales superiores, se encuentran en las plantas frescas en forma heterosídica, liberándose la genina durante el proceso de desecación. Pueden presentar actividades farmacológicas de aplicación a la terapéutica como es el caso de la plumbagina de la drosera que parece ser eficaz en el tratamiento de la tos, o la juglona (5-hidroxi-1,4-naftoquinona) de las hojas y fruto del nogal (*Juglans regia* L., Juglandaceae) que presenta actividad antibacteriana y fungicida. También algunas naftoquinonas pueden ser empleadas en cosmética como colorantes naturales, como ocurre con la lawsona (2-hidroxi-1,4-naftoquinona) también con actividad fungicida, presente en las hojas de alheña o henna (*Lawsonia inermis* L. Lythraceae) que además de ser un importante fungicida, se fija a los grupos tiólicos de la queratina capilar proporcionándoles un color rojo-anaranjado.

Las antraquinonas son pues quinonas tricíclicas derivadas del antraceno y constituyen el grupo más interesante de quinonas. Pueden llevar funciones hidroxílicas en su estructura en diversas posiciones: si poseen dos grupos OH en las posiciones 1 y 2, tienen propiedades colorantes; si éstos se encuentran en las posiciones 1 y 8, el efecto es laxante. Las antraquinonas con propiedades laxantes estimulantes deben llevar en su estructura además de los dos OH, un radical en el carbono de posición 3 y pueden tener o no, sobre el carbono de posición 6, un radical OH u OCH₃. Generalmente en los vegetales se encuentran en forma heterosídica, es decir unidas a azúcares mayoritariamente a la glucosa, en ocasiones ramnosa y solo ocasionalmente algún azúcar diferente, en unión O-heterosídica (por los OH de las posiciones 1 u 8, a veces 6). Aparecen también C-heterosidos, es decir uniones directas carbono-carbono (C-10), o más de un azúcar sobre la misma molécula en diversas posiciones (a la vez O- y C-heterosido). Pueden encontrarse los derivados antraquinónicos en forma oxidada (antraquinona) o en forma reducida (generalmente se habla de antronas), y ser monómeros o dímeros (diantronas).

Las plantas que contienen estos compuestos son especies vegetales que pueden comportarse como laxantes o como purgantes según las dosis administradas. Las antraquinonas libres en forma reducida son muy irritantes y además, las geninas se eliminan al alcanzar el intestino delgado por lo que se prefiere administrar formas antraquinónicas heterosídicas (O-heterosidos de antraquinonas, C-heterosidos de antronas) o formas dímeras (O-heterosidos de diantronas), que carezcan del carbono metilénico. Posteriormente estas formas se hidrolizan en el intestino grueso y las formas oxidadas se reducen *in situ*, debiéndose la acción por tanto a las formas libres y reducidas. La acción tiene lugar en el colon, aumentando la motilidad intestinal por acción directa sobre las terminaciones nerviosas y actuando también sobre el movimiento de agua y electrolitos. Diversos ensayos experimentales han permitido dilucidar el mecanismo de acción de estos compuestos. Laxantes estimulantes son aquellos que estimulan el peristaltismo vía irritación de la mucosa o actividad intraneural sobre el plexo nervioso y como resultado incrementan la motilidad. Pero es sumamente importante igualmente su acción sobre las células de la mucosa del colon: incremento de la estimulación de la secreción de Cl⁻ disminuyendo la absorción de líquido y electrolitos. Se origina por consiguiente

un incremento de agua y electrolitos en el lumen colónico lo que da lugar a un aumento de la presión en el intestino y por ello a una acción laxante.

Los derivados hidroxiantracénicos inhiben la actividad Na^+/K^+ -ATPásica y provocan una disminución de la reabsorción de agua, sodio y cloro, así como un aumento de la secreción de potasio a nivel de la mucosa intestinal. También pueden estar implicados otros mecanismos como son la estimulación de la síntesis de PGE_2 , un mecanismo Ca^{2+} -dependiente o estimulación de histamina y 5-hidroxitriptamina.

Los compuestos antraquinónicos se utilizan en casos de estreñimiento y cuando es necesaria una evacuación intestinal con heces blandas, debiendo limitarse su uso a periodos cortos de tiempo. Tardan cierto tiempo en actuar, entre 6 y 8-12 horas después de su administración, por lo que se recomienda ésta por la noche para que el efecto tenga lugar a la mañana siguiente.

En general los laxantes antraquinónicos no deben emplearse mas que ocasionalmente, nunca en periodos prolongados ya que pueden causar dependencia, atonía intestinal o por el contrario la llamada —enfermedad de los laxantesll con diarreas, dolores abdominales, náuseas, etc. También el uso de estos laxantes puede originar desequilibrios electrolíticos, riesgo de hipokaliemia (disminución de la concentración de potasio plasmática). Pueden producirse interacciones con ciertos medicamentos como con los antiarrítmicos tipo quinidina o con los digitálicos. No se deben emplear durante el embarazo o la lactancia, ni tampoco en caso de íleos. No administrar a menores de 12 años, sin control médico.

Floroglucinoles

Finalizando con el estudio de las plantas medicinales cuyos principios activos son de naturaleza fenólica, en este capítulo se contemplan aquellas con principios activos derivados del floroglucinol.

La estructura floroglucínica no se encuentra como tal en la naturaleza y sus derivados no son demasiado abundantes, siendo su biogénesis relativamente compleja. Algunos de estos derivados proceden biogénicamente de la ruta de los poliacetatos, siendo frecuente la confluencia de distintas rutas biosintéticas como ocurre con los cannabinoides, terpenofenoles presentes en el cáñamo indiano que se originan por la combinación de la ruta del acetato y del mevalonato.

En el cáñamo indiano, se encuentra el tetrahidrocannabinol, principio activo floroglucínico sometido en la actualidad a multitud de ensayos, especialmente por sus propiedades antieméticas de posible utilización en los vómitos originados como consecuencia del tratamiento con quimioterápicos. Este compuesto es utilizado en algunos sitios pero como es sabido, sus efectos secundarios son importantes. También se encuentran principios activos floroglucínicos en el helecho macho, *Dryopteris filix-mas* (L.) Schott. Sus rizomas y base de los peciolos foliares han sido muy empleados por sus propiedades antihelmínticas, especialmente como tenicida. Estas propiedades

se deben a una serie de compuestos polifenólicos derivados del floroglucinol conocidos como —filicina brutall que se encuentran en pelos secretores internos.

ACETOGENINAS

Las acetogeninas, son moléculas orgánicas emparentadas con las grasas, pudiendo afirmarse que desde el descubrimiento de la Uvariacina , se han purificado hasta el momento más de 400 tipos de acetogeninas, de las cuales más de un 90% han demostrado fuerte actividad antineoplásica, así por ejemplo la Bullatacina , 300 a 500 veces más potente que el Paclitaxel y Docetaxel (quimioterápicos muy usados en el tratamiento del cáncer de mama, pulmón, ovario, testículo, estómago,próstata,melanomas, sarcomas y otros tumores), otra acetogenina como la Bullatalicina es de 50 a 100 veces más potente que el Cisplatino (usado en el tratamiento del cáncer de pulmón,ovario,melanoma,cáncer de cabeza y cuello,etc.), otras acetogeninas como la Esquamoxina y Gigantetrocina, son miles a millones de veces más potentes que fármacos como la doxorubicina y otros antineoplásicos frecuentemente usados en el tratamiento de diversos tipos de cáncer, cabiendo afirmar que prácticamente no hay neoplasia que sea resitente a ellas (activas en cáncer de mama, próstata, pulmón, colon, estómago, linfomas, leucemias, cuello uterino, páncreas, sarcomas, melanomas, etc.)

Es interesante el fenómeno de que tanto en estudios in Vitro como estudios in vivo, las acetogeninas sólo afectan a las células cancerosas mas no a las células normales o sanas, es por este motivo que no causan problemas de toxicidad como los agentes convencionales.

Las acetogeninas de las anonáceas son sustancias cerosas que resultan de la combinación de ácidos grasos de cadena larga (C32 ó C34) con una unidad de 2-propanol en el carbono 2 para formar una lactona terminal (dicha lactona queda al inicio de la cadena).⁷ Un estudio realizado en la Universidad de Pardue en California, demostró que las acetogeninas pueden inhibir selectivamente el crecimiento de células cancerígenas y también inhibir el crecimiento de las células del tumor, resistentes al adriamycin (droga quimioterapéutica). En otro estudio realizado por científicos de la misma Universidad, se demostró que la acetogeninas de guanábana (graviola) son extremadamente potentes teniendo una ED50 (dosis letal 50) de hasta 10 – 9 microgramos por mililitro, resultando tener unas 10,000 veces la potencia del adriamycin.

Estudios realizados en 1998 a 2000 por McLaughlin y por Chih Hw, Chui HF han revelado que las acetogeninas son inhibores del complejo I de la cadena de fosforilación oxidativa con lo cual bloquean la formación de ATP; energía que necesita la célula cancerosa para poner en funcionamiento su bomba mediada por P-gluco proteína, que le permite mantenerse activa. La acetogeninas, también inhiben la ubiquinona-ubiquinona oxidasa, enzima dependiente del NADH que es peculiar en la membrana plasmática de la célula cancerosa. McLaughlin realizó sus investigaciones con las acetogeninas Bullatacin y Bullatacinone.

Estudios en el Caribe sugieren una conexión entre consumo de esta fruta y formas atípicas de la enfermedad de Parkinson debido a la muy alta concentración de annonacina.^{8 9} La concentración de annonacina en la fruta (15 mg/fruta) o en el néctar comercial (36 mg/lata) es cien veces mayor que en el té elaborado a partir de sus hojas (140 µg/taza).

Las acetogeninas son agentes nuevos antitumorales y pesticidas promisorios, que son hallados solamente en plantas de la familia anonáceas (graviola) además posee otros compuestos fitoquímicos que les confieren otras propiedades.

Químicamente las acetogeninas son derivados de ácidos grasos de cadenas largas, hay gran variedad de ellas, con similares esqueletos de carbono, pero son las que tienen un anillo adyacente bis THF, los que son marcadamente citotóxicos. Estas acetogeninas exhiben su potente bioactividad por medio de agotamiento de niveles de ATP (Vía inhibición del complejo I de la mitocondria) inhibiendo el NADH (oxidaza de las membranas del plasma de células tumorales) de este modo agotan los mecanismos de resistencia de transmisión de ATP. **Incluyendo que los inhibidores de la deshidrogenasa del NADH pueden suprimir la infección de VIH (Sida) esta es una característica familiar de las acetogeninas encontradas en la graviola (guanábana), sometidas al programa de Investigación de NIH por la U. de Purdue.**

La acción de la acetogenina ANONACEA, Es potente y actúa destruyendo a las células cancerígenas y tumores, incluso frente a células que ofrecen resistencia a las drogas usadas en la Quimioterapia, por lo tanto es un complemento ideal para este tratamiento.

La actividad citotóxica (proceso de destrucción de células malignas) de las acetogeninas es selectiva. No daña células sanas. Acción de las acetogeninas de las anonáceas en las células cancerígenas. Las acetogeninas de las anonáceas son sustancias cerosas que resultan de la combinación de ácidos grasos de cadena larga (C32 ó C34) con una unidad de 2-propanol en el carbono 2 para formar una lactona terminal (dicha lactona queda al inicio de la cadena).⁷ Un estudio realizado en la Universidad de Purdue en California, demostró que las acetogeninas pueden inhibir selectivamente el crecimiento de células cancerígenas y también inhibir el crecimiento de las células del tumor, resistentes al adriamicin (droga quimioterapéutica). En otro estudio realizado por científicos de la misma Universidad, se demostró que las acetogeninas de guanábana (graviola) son extremadamente potentes teniendo una ED₅₀ (dosis letal 50) de hasta 10 – 9 microgramos por mililitro, resultando tener unas 10,000 veces la potencia del adriamicin.

MECANISMO DE ACCION DE LAS ACETOGENINAS:

Estudios realizados en 1998 a 2000 por McLaughlin y por Chih Hw, Chui HF han revelado que las acetogeninas son inhibidores del complejo I de la cadena de fosforilación oxidativa con lo cual bloquean la formación de ATP; energía que necesita la célula cancerosa para poner en funcionamiento su bomba mediada por P-glicoproteína, que le permite mantenerse activa. La acetogeninas, también inhiben la ubiquinona-ubiquinona oxidasa, enzima

dependiente del NADH que es peculiar en la membrana plasmática de la célula cancerosa. McLaughlin realizó sus investigaciones con las acetogeninas Bullatacin y Bullatacinone.

GLICÓSIDOS

Los **glicósidos** son metabolitos vegetales de gran importancia. Su nombre hace referencia al enlace glicosídico que se forma cuando una molécula de azúcar se condensa con otra que contiene un grupo hidroxilo. Existen tres grupos de glicósidos de particular interés: saponinas, glicósidos cardiacos y glicósidos cianogénicos. Una cuarta familia, los glucosinolatos, se incluyen en este grupo debido a su estructura similar a los glicósidos.

Las **saponinas** se encuentran como glicósidos esteroideos, glicósidos esteroideos alcaloides o bien glicósidos triterpenos. Son por tanto triterpenoides o esteroides que contienen una o más moléculas de azúcar en su estructura. Se pueden presentar como agliconas, es decir, sin el azúcar (el terpeno sin el azúcar, por ejemplo), en cuyo caso se denominan sapogeninas. La adición de un grupo hidrofílico (azúcar) a un terpenoide hidrofóbico da lugar a las propiedades surfactantes o detergentes similares al jabón que presentan las saponinas.

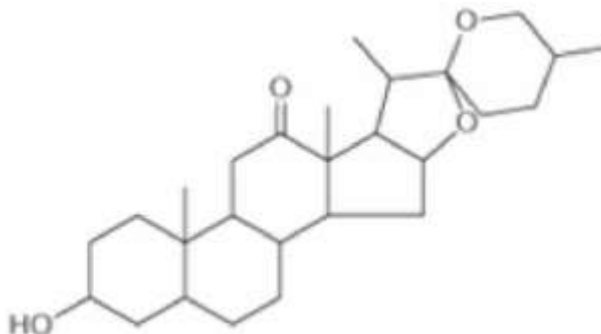


Figura 230. Estructura química de las saponinas.

Los **glicósidos cardiacos o cardenólidos** son semejantes a las saponinas esteroideas, tienen también propiedades detergentes, pero su estructura contiene una lactona. Se encuentran de forma natural en forma de glicósidos o de agliconas. Quizá el más conocido sea la digitoxina, o su análogo digoxina, aislada de *Digitalis purpurea* y utilizada como medicamento en el tratamiento de la insuficiencia cardiaca congestiva.

Los **glicósidos cianogénicos** son compuestos nitrogenados, que no son tóxicos por sí mismos, pero se degradan cuando la planta es aplastada liberando sustancias volátiles tóxicas como cianuro de hidrógeno (HCN). Un ejemplo es la amigdalina que se encuentra en las semillas de almendra, albaricoque, cereza o melocotón. En la *Manihot sculenta* (yuca), puede ser veneno para los animales.

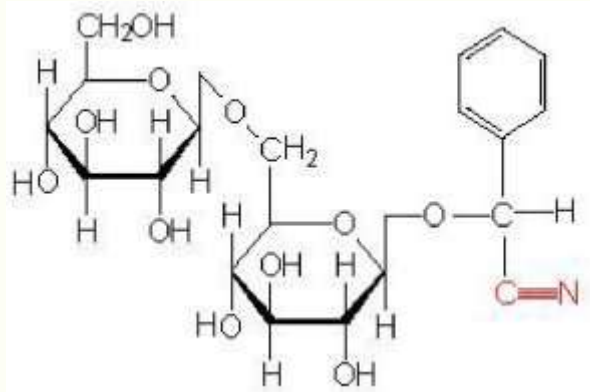


Figura 231. Estructura química de la amigdalina.

Los glicósidos cianogénicos normalmente no se degradan cuando la planta está intacta. Tienen un papel protector en algunas especies frente a herbívoros. El cianuro de hidrógeno es una toxina de acción rápida que inhibe metaloproteínas como la citocromo oxidasa, enzima clave en la respiración mitocondrial. Sin embargo, algunos herbívoros llegan a adaptarse a alimentarse de plantas cianogénicas y tolerar más altas dosis de HCN.

Los tubérculos de mandioca o yuca, muy ricos en carbohidratos, contienen altos niveles de glicósidos cianogénicos y forman parte de la dieta de muchos países tropicales. Aunque el procesamiento tradicional de estos tubérculos elimina gran parte de los glicósidos cianogénicos, la detoxificación no es completa dando lugar a efectos nocivos en las poblaciones consumidoras.

Los **glucosinolatos**, también llamados glicósidos del aceite de mostaza, se degradan y desprenden sustancias volátiles responsables del aroma, el olor y el gusto de condimentos como la mostaza y de vegetales como el repollo, brócoli o coliflor (Brassicaceae). La sinigrina es el glucosinolato que se encuentra en las semillas de mostaza negra (*Brassica negra*).

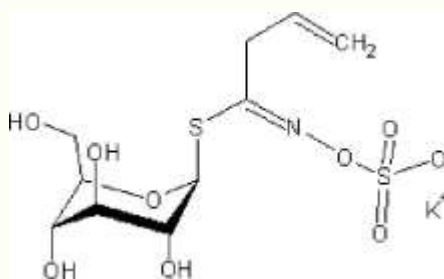


Figura 232. Estructura química de la sinigrina presente en semillas de mostaza negra.

Los glucosinolatos al igual que los glicósidos cianogénicos, están separados espacialmente de las enzimas hidrolíticas que los degradan y actúan también como repelentes de herbívoros.

BIBLIOGRAFIA.

1.-<http://www.portalfarma.com/taxonomiageneral>.

2.-<http://www.cosmos.mx/g> 3.-

<http://www.química.urv.es> 4.-

<http://www.onkos.com/botanics> 5.-

<http://www.vidapositiva.accióndelasacetogeninas>.

6.-http://www.wikipedia.org/wiki/acido_graso.