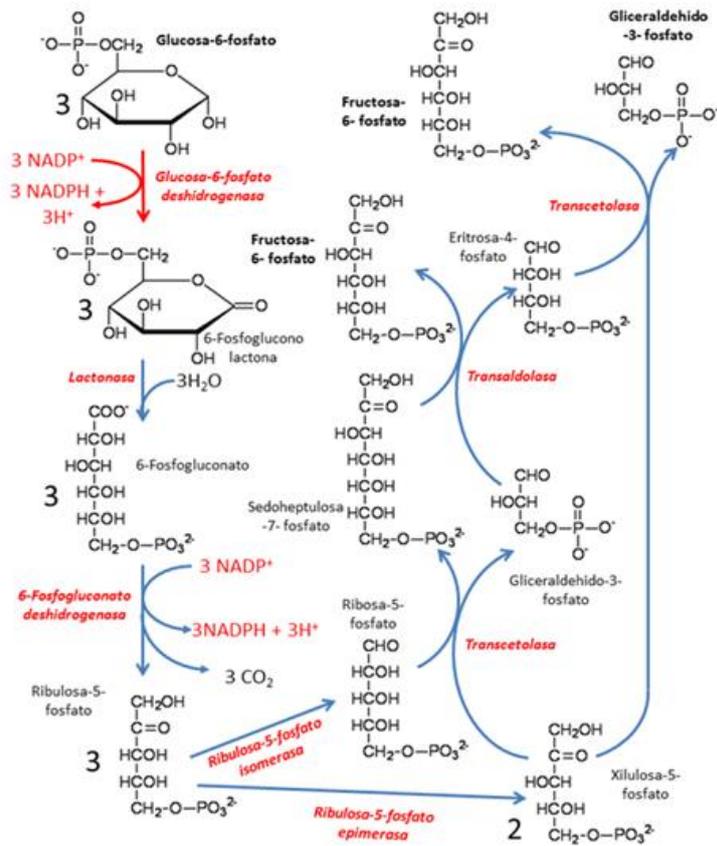


Introducción a la Bioquímica, 3

Parte 3ª: Metabolismo



Enrique Battaner Arias

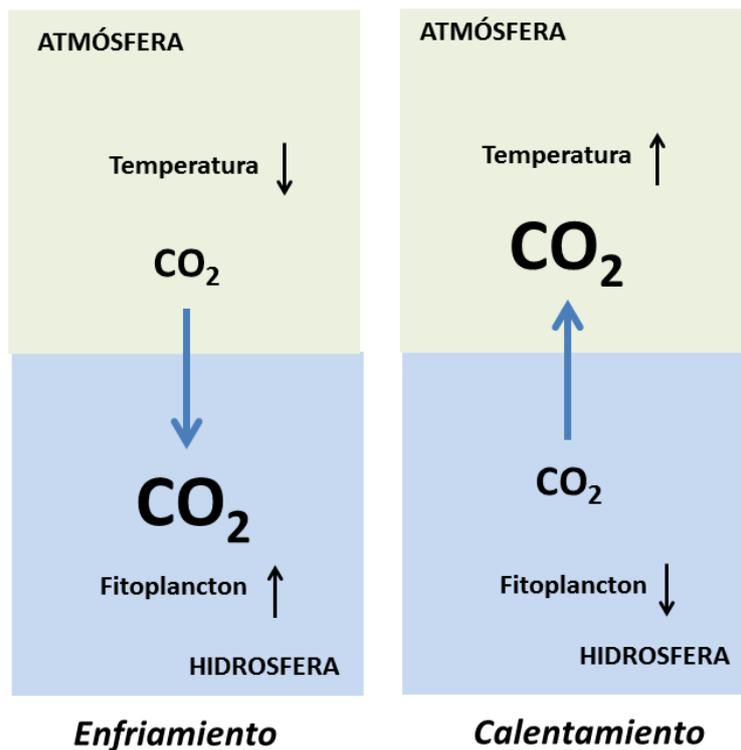
ÍNDICE

ÍNDICE	2
CAPÍTULO 1: Los grandes ciclos geoquímicos	5
1.1 Introducción	5
1.2 El Ciclo del Carbono.....	6
1.3 El Ciclo del Nitrógeno	42
CAPÍTULO 2: Introducción al Metabolismo	52
2.1 Generalidades	52
2.2 Energética del Metabolismo	55
2.3 Rutas metabólicas	59
2.4 Fases del Metabolismo.....	61
CAPÍTULO 3: Transporte a través de membranas	63
3.1 La membrana celular (membrana plasmática)	63
3.2 Energética del transporte.....	67
3.3 Transporte por difusión simple	68
3.3 Transporte mediante poros o canales	69
3.4 Transporte mediado (pasivo y activo).....	72
CAPÍTULO 4: Metabolismo de Hidratos de Carbono	79
4.1 Glucolisis.....	80
4.2 Glucogenolisis.....	105
4.3 Interconversiones de Hexosas	114
4.4 La ruta Pentosa-fosfato	117
4.5 Neoglucogénesis	124
4.6 Síntesis de glucógeno	131
CAPÍTULO 5: Metabolismo intermediario	134
5.1 Introducción	134
5.2 Descarboxilación oxidativa de piruvato	139
5.3 El ciclo de Krebs de ácidos tricarbóxicos (ciclo del ácido cítrico)	143

5.4 La cadena de transporte electrónico	151
5.5 Fosforilación oxidativa	165
5.6 Mecanismos de lanzadera.....	171
5.7 Reacciones anapleróticas.....	174
5.8 Stress oxidativo	177
CAPÍTULO 6: Metabolismo de lípidos	185
6.1 Introducción y etapas iniciales	185
6.2 Degradación aeróbica de ácidos grasos: La β -oxidación.....	193
6.3 Cetogénesis	202
6.4 Biosíntesis de ácidos grasos	204
6.5 Biosíntesis de acilgliceroles, fosfolípidos y esfingolípidos	215
6.6 Biosíntesis de eicosanoides	221
6.7 Biosíntesis de colesterol y lípidos poliprenoides	224
6.8 Lipoproteínas.....	233
CAPÍTULO 7: Metabolismo de proteínas y aminoácidos.....	240
7.1 Introducción	240
7.2 Degradación de proteínas	241
7.3 Reacciones generales de aminoácidos.....	250
7.4 Metabolismo del amonio y Ciclo de la urea.....	257
7.5 Catabolismo de aminoácidos	263
7.6 Biosíntesis de aminoácidos no esenciales.....	271
7.7 Biosíntesis de aminoácidos esenciales.....	275
CAPÍTULO 8: Metabolismo de nucleótidos. Metabolismo de porfirinas.....	280
8.1 Metabolismo de nucleótidos. Introducción.....	280
8.2 Catabolismo de nucleótidos purínicos	281
8.3 Catabolismo de nucleótidos pirimidínicos	284
8.4 Biosíntesis de nucleótidos purínicos	286
8.5 Biosíntesis de nucleótidos pirimidínicos	295
8.6 Reciclado de purinas	299
8.7 Biosíntesis de desoxinucleótidos.....	300
8.8 Metabolismo de porfirinas.....	304
CAPÍTULO 9: Metabolismo de Xenobióticos.....	308
9.1 Generalidades	308
9.2 Fase I del metabolismo de xenobióticos.....	312

9.3 Fase II del metabolismo de xenobióticos	323
9.4 Fase III del metabolismo de xenobióticos	331
9.5 Inducción enzimática.....	332
Apéndice.....	334
CAPÍTULO 10: Metabolismo de Iones Inorgánicos	341
10.1 Generalidades	341
10.2 Bombas iónicas.....	347
10.3 Canales iónicos	357
10.4 Biopotenciales.....	370
CAPÍTULO 11: Metabolismo basal	380
11.1 Introducción	380
11.2 Medida del Metabolismo Basal: Calorimetría directa	382
11.3 Medida del Metabolismo Basal: Calorimetría indirecta	383
11.4 Tamaño corporal y Metabolismo Basal.....	390
11.5 Otros factores que afectan al Metabolismo Basal	394
11.6 La función tiroidea	395
CAPÍTULO 12: Metabolismo y Nutrición	402
12.1 Introducción	402
12.2 Requerimientos energéticos en la dieta humana	403
12.3 Los carbohidratos en la nutrición humana.....	408
12.4 Los lípidos en la nutrición humana	415
12.5 Las proteínas en la dieta humana	422
12.6 Micronutrientes (vitaminas y oligoelementos) en la dieta humana.....	429
Bibliografía.....	451

CAPÍTULO 1: Los grandes ciclos geoquímicos



1.1 Introducción

El hombre es parte de la biosfera. Aun teniendo en cuenta la enorme magnitud de la población humana (7×10^9 individuos en 2012), su metabolismo es una parte insignificante de los grandes flujos materiales que tienen lugar en el planeta, y que vamos a estudiar en el presente capítulo centrándonos en los dos más importantes, el **Ciclo del Carbono** y el **Ciclo del Nitrógeno**. Estudiaremos estos ciclos atendiendo sobre todo a los procesos estrictamente bioquímicos que tienen lugar en los mismos. Así, dentro del ciclo del carbono estudiaremos con cierto detenimiento la fotosíntesis; y dentro del ciclo del nitrógeno, la asimilación de nitratos y la fijación de nitrógeno. Ninguno de estos procesos mencionados forma parte del metabolismo humano. Se incluyen en esta obra para ilustrar precisamente el papel del hombre en los

mismos, que deriva principalmente de su actividad cultural y económica, ya que no de su propio metabolismo.

Ahora bien, la influencia humana es determinante en ambos ciclos, sobre todo a partir de la Revolución Industrial a principios del siglo XIX, hasta la fecha. Tan determinante que las cifras de flujos materiales industriales (como la producción de dióxido de carbono, CO₂, o la fijación industrial de dinitrógeno N₂) se aproxima e incluso supera a las cifras de los flujos naturales planetarios. Por otra parte, ocurre que cada vez con mayor frecuencia la Clínica humana se encuentra con enfermedades causadas por desequilibrios en el medio ambiente; y además, en Medicina Preventiva las cuestiones medioambientales están tomando cada vez una mayor importancia. Por estas razones, y aun cuando este capítulo no forme parte de un curso normal de Bioquímica en la carrera de Medicina, he creído necesario incluirlo como introducción al resto.

Carbono y nitrógeno, junto con hidrógeno, oxígeno, fósforo y azufre constituyen los macroelementos sobre los cuales se forman las biomoléculas. Los medios orgánicos contienen asimismo iones sodio, potasio, cloro, calcio y magnesio en cantidades muy significativas. Los oligoelementos como hierro, cobre, zinc, yodo, selenio, cobalto, molibdeno, etc., tienen importantísimas funciones en los procesos bioquímicos del organismo.

Los elementos con número atómico inferior al del hierro (carbono, nitrógeno, oxígeno, sodio, magnesio, fósforo, azufre, cloro, potasio, calcio y el propio hierro), desde un punto de vista cosmológico, sólo pueden ser producidos cuando se agota el combustible primario de las estrellas (hidrógeno) y los de número atómico superior al hierro (cobalto, cobre, zinc, selenio, molibdeno y yodo) proceden de explosiones de supernova. Todo ello indica que nuestro sistema solar es secundario, y que solo se pudo formar a partir de restos de estrellas primarias agotadas o destruidas por una explosión de supernova.

La vida se fundamenta en las especiales características del carbono y de sus combinaciones con todos los demás elementos citados, de manera que para cada uno podríamos describir ciclos como los del carbono y del nitrógeno. No obstante, vamos a restringir la presente discusión únicamente a estos dos últimos, por la importancia que revisten dentro del flujo general de la biosfera.

1.2 El Ciclo del Carbono

1.2.1 Generalidades

El carbono es el cuarto elemento más abundante del Universo (por detrás de hidrógeno, helio y oxígeno). Se forma a partir de los procesos de fusión nuclear que tienen lugar en estrellas primarias; terminado el ciclo vital de éstas, pasa a formar parte del polvo y gas interestelar a partir del cual se forman las estrellas de segunda generación. Una de estas estrellas, el Sol, se formó con un sistema planetario del cual nuestro planeta, la Tierra, forma parte, y en el cual el carbono es un elemento abundante tanto en la litosfera, como en la hidrosfera y en la atmósfera.

Una característica muy singular del carbono es la de poder formar moléculas consigo mismo y con otros elementos de manera prácticamente ilimitada; de modo que las complejas biomoléculas que caracterizan al fenómeno viviente son todas ellas compuestos de carbono (además de hidrógeno, nitrógeno, oxígeno, fósforo y azufre) interaccionando entre sí y con otras moléculas inorgánicas (en particular el agua), iones (indispensables en los medios acuosos de los seres vivos) y oligoelementos (requeridos para funciones muy específicas dentro de las reacciones químico-biológicas).

En el planeta Tierra, el carbono pasa por diversos estados que en su conjunto constituyen lo que llamamos el **Ciclo del Carbono** (figuras 1.1 y 1.2). Dentro del ciclo del carbono, como veremos, el hombre, como animal, representa una mínima parte (la rama degradativa de lo que conoceremos como el ciclo rápido). Ahora bien, la cultura y civilización humana han llegado a un punto en el cual las influencias antropogénicas sobre el ciclo del carbono (veremos que también sobre el ciclo del nitrógeno) son actualmente de un orden de magnitud planetario, y tienen el potencial de modificar profundamente estos ciclos en los años y siglos venideros. Por esa razón considero interesante, antes de pasar a estudiar el metabolismo del ser humano, sobre el que fundamentalmente versa este libro, examinar las principales características de este gran ciclo, y las influencias que la cultura humana, ya que no su propio metabolismo, ejercen o pueden llegar a ejercer sobre el mismo.

El metabolismo humano, como hemos visto, forma parte de lo que llamamos rama degradativa del ciclo rápido o **respiración** (que en esta obra estudiaremos sobre todo en el capítulo 5). La rama biosintética del ciclo citado, constituida en su gran mayoría por el proceso de **fotosíntesis**, no se estudia habitualmente dentro de un curso dedicado al metabolismo humano. No obstante, he creído conveniente incluir en este mismo capítulo un resumen sucinto de este proceso, que si bien no tiene lugar en nuestras células, es una condición indispensable para el desarrollo de la vida sobre la Tierra.

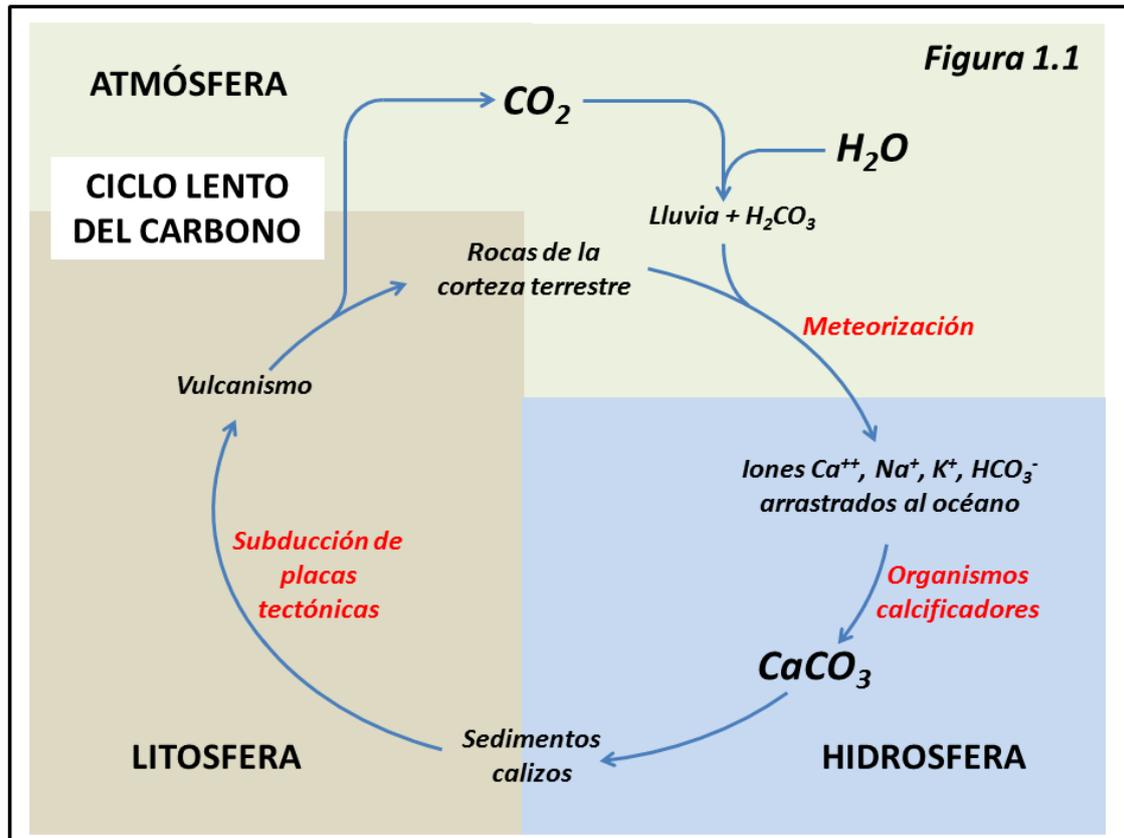
El ciclo del carbono comprende una serie de flujos materiales que tienen lugar entre la atmósfera, la litosfera, la hidrosfera y la biosfera. A lo largo de estos flujos el carbono pasa por muy diferentes formas. Gaseoso, en forma de dióxido de carbono o CO_2 ; sólidos inorgánicos como el carbonato cálcico CaCO_3 ; elemental, en los depósitos de carbón en sus distintas formas; iónico como el bicarbonato HCO_3^- y en fin, orgánico, formando parte del mundo extraordinariamente variado de las biomoléculas; hay asimismo otras formas menores.

Estos flujos y estas formas del carbono se estructuran en dos ciclos superpuestos, que denominamos ciclo lento y ciclo rápido, aludiendo a la duración temporal de su período de desarrollo. Así, el ciclo lento presenta un período de cientos de millones de años, mientras que el rápido se desarrolla en unos cien años. Los dos ciclos no son compartimentos estancos, como veremos, puesto que hay compartimentos comunes a ambos (como el CO_2 atmosférico, por ejemplo) y hay flujos materiales que pasan de uno a otro en ambos sentidos.

El ciclo lento es el flujo material de carbono entre la atmósfera, la hidrosfera y la litosfera. En él los seres vivos también tienen un papel; pero como veremos, este papel puede tardar cientos de millones de años en repetirse. El ciclo rápido, por su parte, se desarrolla íntegramente en la biosfera, y comprende los intercambios de carbono entre los seres vivos. Por término medio, al año se mueven 10^{10} - 10^{11} kg de carbono a través del ciclo lento. El ciclo rápido mueve 10^{13} - 10^{14} kg/año; a efectos de comparación, las emisiones antropogénicas de carbono suponen 10^{12} kg/año.

1.2.1.1 El Ciclo Lento

La **figura 1.1** nos muestra el Ciclo Lento del Carbono.



Tomamos arbitrariamente como origen del mismo el dióxido de carbono CO_2 atmosférico. Cuando el vapor de agua presente en la atmósfera se condensa en forma de lluvia o nieve, parte de este CO_2 se disuelve dando un lugar a un ácido débil, el ácido carbónico, que cae al suelo con la lluvia:



Este ácido contribuye al proceso de **meteorización** de las rocas, disolviendo y arrastrando hacia el océano iones de calcio, magnesio, sodio y potasio presentes en los silicatos de la corteza terrestre:



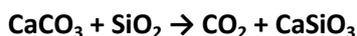
En las aguas superficiales y en el océano, los organismos calcificadores (coral, moluscos bivalvos, formas del plancton como foraminíferos, etc.) precipitan carbonato cálcico para sus estructuras calcáreas a partir de los iones bicarbonato HCO_3^- y Ca^{++} :



De manera que en los océanos actuales la mayor parte del carbonato cálcico está formando parte de estas estructuras. Cuando estos organismos mueren caen al lecho marino; a partir de ellos, y a lo largo del tiempo se forman sedimentos compactos de calizas y sus derivados. Estos sedimentos representan el 80 % del carbono presente en la litosfera.

El 20 % restante procede de seres vivos que al morir quedan atrapados en barro, que con el calor y la presión terminan convirtiéndose en pizarras (esquistos). En aquellos casos en los que la materia vegetal muere a un ritmo más rápido que su degradación, y en condiciones anaerobias, estos esquistos pueden convertirse en carbón, petróleo o gas natural.

El ciclo lento devuelve carbono a la atmósfera gracias al vulcanismo. La corteza terrestre y la oceánica se mueven horizontalmente mediante las placas tectónicas. Cuando éstas colisionan, una se hunde por debajo de la otra (fenómeno de *subducción*); con los calores y presiones extremas que se desarrollan en el proceso, la roca se recombina formando silicatos y el carbono se emite a la atmósfera como dióxido de carbono. En parte, el CO₂ vuelve a la atmósfera a partir del metamorfismo de la caliza que ocurre en profundidad, en las zonas de subducción:



Con las erupciones volcánicas, el CO₂ pasa a la atmósfera y la superficie se cubre de silicatos nuevos, listos para comenzar otra vez el ciclo. En el momento actual, los volcanes emiten entre 1.3x10⁶ y 3.8x10⁶ kg de CO₂ al año. Compárese con los 10¹² kg/año que emite la civilización humana mediante la quema de combustibles fósiles.

Podemos considerar que forma parte del ciclo lento el intercambio (que es mucho más rápido) de CO₂ entre la atmósfera y el océano; la elevación de temperatura hace disminuir el CO₂ disuelto; el enfriamiento tiene el efecto contrario.

1.2.1.2 El Ciclo Rápido

Si el ciclo lento del carbono está en el orden de magnitud de 10⁸ años, el ciclo rápido (figura 1.2) se completa como mucho en 10² años. En su gran mayoría, el ciclo rápido corresponde al intercambio de carbono entre distintas formas de vida; supone el movimiento de 10¹⁴ kg al año.

El ciclo rápido comprende dos fases bien diferenciadas: Una es la fase biosintética, consistente en la organificación del CO₂ a través de su combinación con agua para producir hidrato de carbono y oxígeno libre, proceso que llevan a cabo los organismos autótrofos. Podríamos representar esquemáticamente la reacción así:



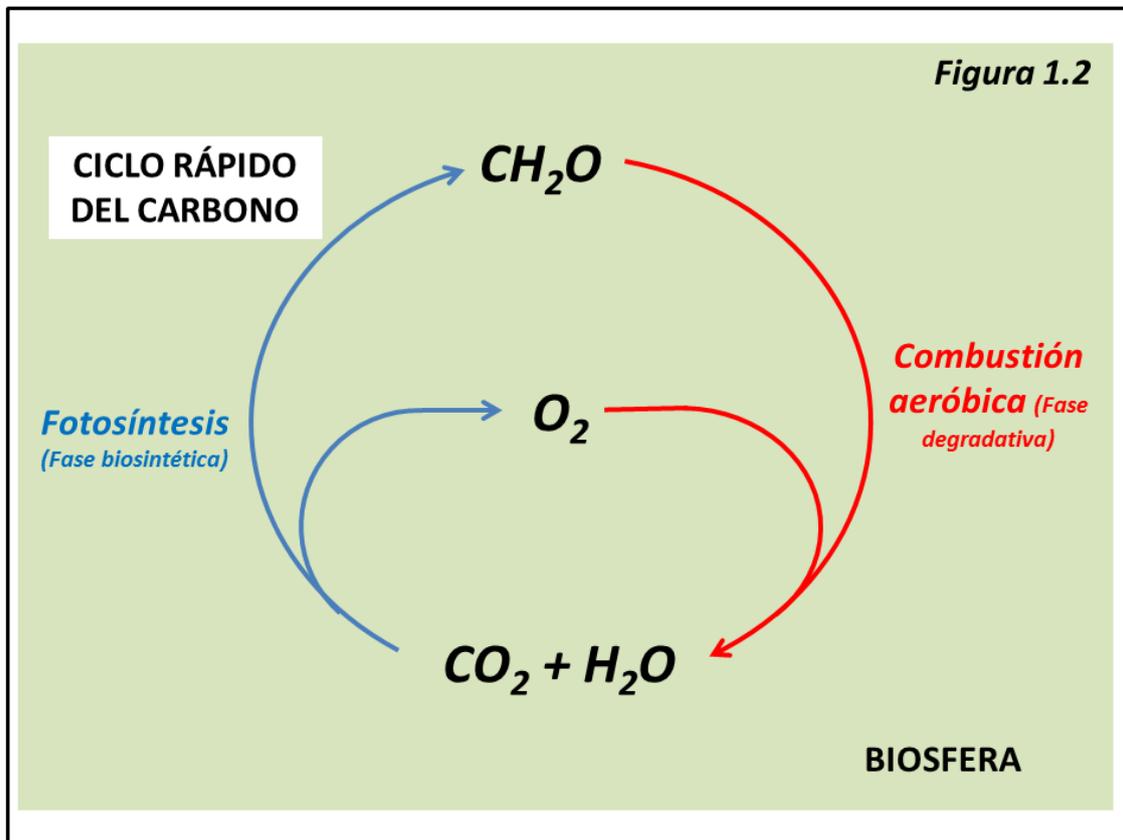
Que es una reacción fuertemente endergónica ($\Delta G > 0$), es decir, que requiere un aporte externo de energía. Esta energía, en su mayor parte, procede de la radiación solar, en el proceso que llamamos **fotosíntesis**, y los organismos que la llevan a cabo, **organismos fotosintéticos**.

La otra fase (fase degradativa) consiste en la combustión del hidrato de carbono producido por fotosíntesis, en la reacción inversa a la anterior:

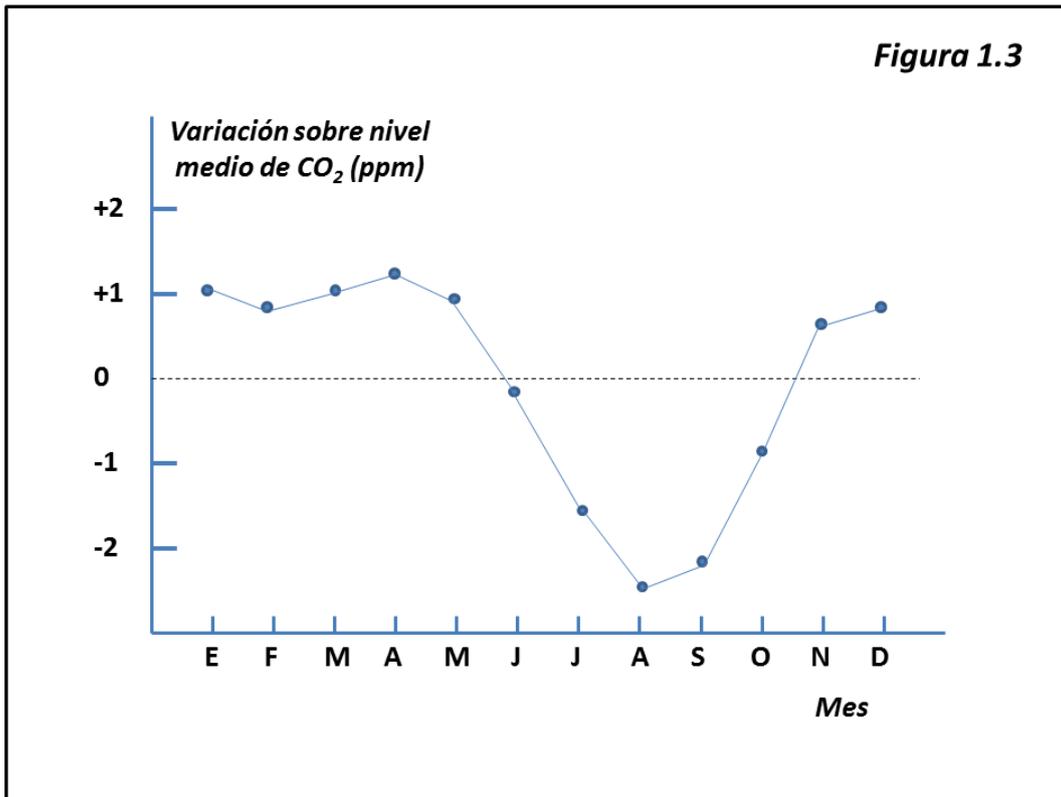


Y que es fuertemente exergónica ($\Delta G < 0$), lo cual quiere decir que libera una gran cantidad de energía. Esta combustión puede ocurrir de varias maneras. En primer lugar, las propias plantas y el fitoplancton obtienen la energía necesaria para su actividad vital a través de la degradación aeróbica de estos hidratos de carbono. En segundo lugar, los animales, a través de las cadenas tróficas, toman el hidrato de carbono (y otros componentes) producidos por los

organismos fotosintéticos para cubrir sus necesidades energéticas y plásticas. En tercer lugar, tanto las plantas como los animales y el fitoplancton mueren y sus organismos son degradados por las bacterias al término de su ciclo vital. La actividad metabólica de estas bacterias produce CO_2 a partir de la materia orgánica muerta. Por último, la combustión directa por el fuego de la materia vegetal en los incendios forestales produce cantidades de CO_2 que pueden ser muy significativas.



En estos cuatro procesos, el CO_2 liberado pasa a la atmósfera. La vida vegetal es el factor decisivo en el ciclo rápido del carbono, de tal manera que a lo largo del año el contenido en CO_2 varía de acuerdo con el ciclo vital de las plantas. La **figura 1.3** muestra la variación del contenido en este gas a lo largo del año en el hemisferio norte. Puede apreciarse que el contenido es máximo en los meses de invierno, decayendo en primavera, alcanzando un mínimo en verano y volviendo a elevarse en otoño.



1.2.1.3 Cambios seculares en el ciclo del carbono

La interacción de ambos ciclos hace que el contenido en CO₂ de la atmósfera esté en un estado estacionario relativo, sometido a la fluctuación anual del ciclo rápido. Ahora bien, en una escala de tiempo mucho mayor, las variaciones de la órbita terrestre someten el planeta a ciclos de calentamiento y enfriamiento (ciclos de Milankovic) que influyen de forma importante en el nivel medio de CO₂ presente en la atmósfera, y cuyo período es de aproximadamente 80000 – 120000 años. (figura 1.4).

Ciclos de Milankovic

Figura 1.4

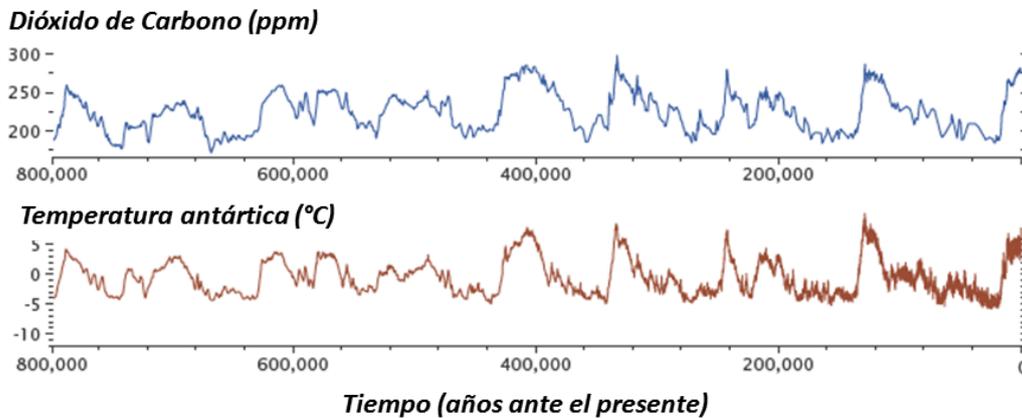
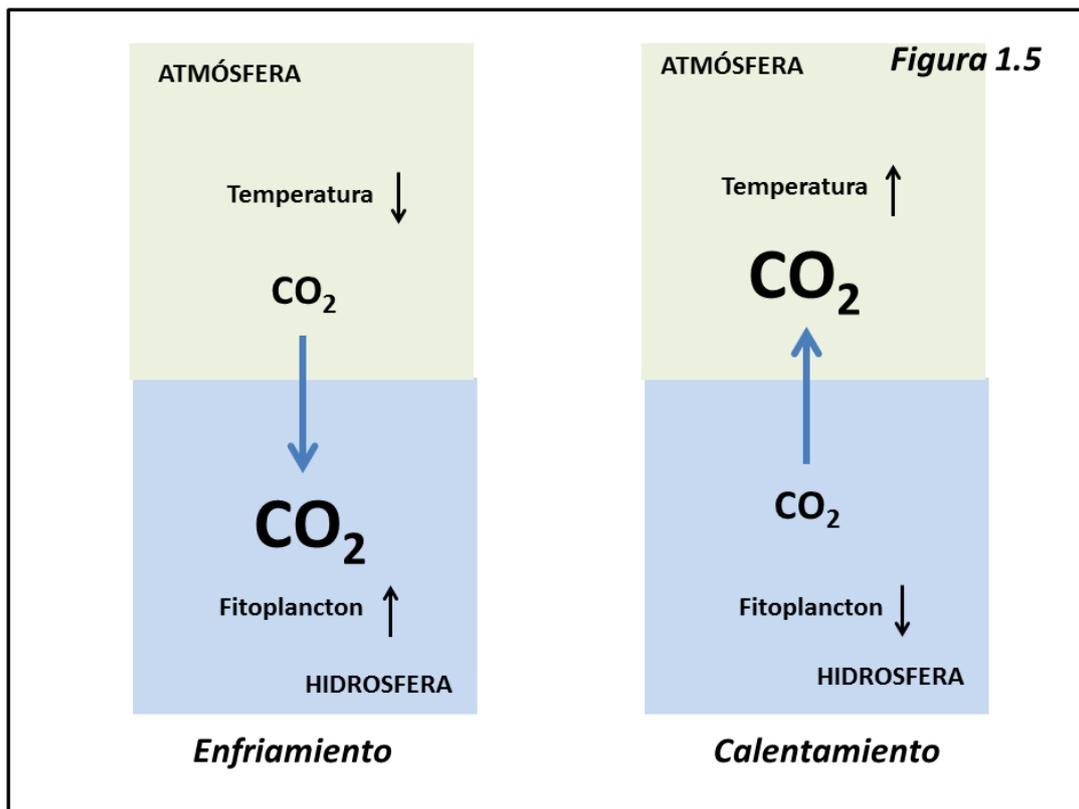


Figura modificada de <http://earthobservatory.nasa.gov/Features/CarbonCycle/page4.php>

En la fase de enfriamiento aumenta la cantidad de CO₂ disuelto en los océanos, favoreciendo el crecimiento del fitoplancton, que asimilan una mayor cantidad del mismo. La disminución de CO₂ en la atmósfera es un factor que contribuye aún más al enfriamiento a través de una disminución del efecto invernadero (ver más adelante). El aumento de las masas continentales de hielo también contribuye al reflejar una mayor cantidad de la radiación solar. Todos estos factores determinan las épocas glaciares. En la fase de calentamiento, todos estos factores se invierten; disminuye la cantidad de CO₂ disuelto en los océanos; disminuye la cantidad de CO₂ asimilado por el fitoplancton; disminuye la radiación solar reflejada y el incremento en CO₂ atmosférico conduce a un mayor efecto invernadero, con el consiguiente calentamiento de la atmósfera y de la superficie terrestre (figura 1.5).



1.2.1.4 El Efecto Invernadero

Los gases como el vapor de agua, el CO₂, el metano, el óxido nitroso N₂O y los clorofluorocarbonos (estos últimos producidos íntegramente por el hombre) son capaces de absorber la energía solar reflejada por la superficie terrestre y reemitirla, principalmente como radiación infrarroja (calor) en todas direcciones, incluyendo la propia superficie terrestre, con lo que contribuyen a su calentamiento. Este fenómeno recibe el nombre de **Efecto Invernadero**. Si no hubiera en la atmósfera gases de efecto invernadero, la superficie terrestre estaría a unos -15 °C; si hubiera una gran cantidad de los mismos, nuestro planeta quedaría en el mismo estado que el planeta Venus, donde un enorme efecto invernadero mantiene la superficie a 400 °C. Se estima que el CO₂ contribuye en un 20 % a este efecto, el vapor de agua en un 50 %, las nubes en un 25 % y el resto es debido a otros gases (metano, p.e.) y aerosoles. Por tanto, el principal factor que influye en la temperatura de la Tierra es la concentración atmosférica de vapor de agua. Pero quien realmente regula el efecto invernadero es el CO₂, a través de la variación de sus concentraciones relativas en la atmósfera y en los océanos. El calentamiento inducido por el CO₂ produce una mayor evaporación del agua, que a su vez incrementa el efecto invernadero y liberándose aún más CO₂ procedente del océano. Cuando decae la concentración de CO₂ el vapor de agua tiende a condensarse, lo que a su vez disminuye el efecto y se incrementa la cantidad de CO₂ disuelto en el agua. Así, aunque el vapor de agua es el principal responsable cuantitativo del efecto invernadero, es en realidad el CO₂ el principal factor *determinante* del mismo.

Una factor potencialmente muy importante en la magnitud del efecto invernadero es la posibilidad de fusión del *permafrost*. El *permafrost* es una capa superficial del suelo que en latitudes altas se mantiene congelada durante todo el año. Contiene una gran cantidad de materia vegetal cuya descomposición se ha enlentecido debido a las bajas temperaturas. Si el *permafrost* se funde debido al calentamiento de la atmósfera, la descomposición de esta materia vegetal se aceleraría y liberaría a la atmósfera una gran cantidad de CO₂ y de metano, contribuyendo así a un incremento aún mayor del efecto invernadero.

1.2.1.5 El Hombre y el Ciclo del Carbono

La actividad humana en los últimos doscientos años ha introducido factores antropogénicos de gran importancia para el ciclo del carbono, debido a (a) el uso de combustibles fósiles y (b) la deforestación.

Sin la actividad humana, el carbono de los combustibles fósiles hubiera vuelto a la atmósfera muy lentamente a través de la actividad volcánica (ciclo lento). Este proceso se ha visto enormemente acelerado por el uso de los mismos, desde los inicios de la Revolución Industrial a principios del siglo XIX. De esta manera estamos sacando carbono del ciclo lento y pasándolo al ciclo rápido. Una estimación aproximada (para 2009) del carbono liberado por el uso de combustibles fósiles nos da la cifra de 8.4×10^9 Tm al año. Así, la cantidad de CO₂ presente en la atmósfera ha aumentado desde 280 ppm en 1750 hasta 387 ppm en 2005 (la mayor concentración en dos millones de años). Lo mismo ocurre con otros gases de efecto invernadero, como el metano (de 715 hasta 1774 ppb), que se estima como la mayor concentración en 650000 años.

Hasta ahora, esta cantidad extra de carbono liberado a la atmósfera ha sido fijada en un 55 % por los organismos fotosintéticos, mientras que el 45 % restante permanece en la atmósfera. Se estima que una parte del mismo terminará fijada; pero aun así, quedará un 20 % en la atmósfera, y esto, por supuesto, producirá cambios importantes.

El aumento de la concentración atmosférica de CO₂ está causando el llamado **calentamiento global** a través de un aumento en el efecto invernadero; se estima en unos 0.8 °C desde 1880, y al parecer está acelerándose. Ahora bien, gran parte del calor extra del calentamiento global es captado por los océanos, el gran termostato del planeta, cuya temperatura también aumenta (con importantes consecuencias para la fauna y flora acuáticas).

El porcentaje de CO₂ antropogénico captado por los océanos es de un 30 % aproximadamente. En solución acuosa, el CO₂ forma ácido carbónico, lo que disminuye el pH del medio marino. Se estima que esta caída de pH ha sido de 0.1. Esta acidificación afecta a los organismos marinos de dos maneras. En primer lugar el ácido reacciona con iones carbonato necesarios para la formación de estructuras calcáreas. Al haber menos carbonato disponible, las conchas de los organismos marinos son más frágiles y débiles. Pero además, la acidificación del agua resulta en una mayor solubilidad del carbonato cálcico ya depositado, lo que debilita aún más las estructuras calcáreas de los mismos (y de paso, disminuyendo la intensidad de su depósito en el fondo, lo que afecta al ciclo lento).

Por su parte, un océano más caliente inhibe el crecimiento del fitoplancton, lo que ralentecería la captación de carbono en el ciclo rápido.

En tierra, una mayor cantidad de CO₂ en principio favorecería el desarrollo vegetal. Ahora bien, éste depende de muchos otros factores, como la presencia de agua, nutrientes y factores socioeconómicos. En el hemisferio norte, desde principios del siglo XX se han abandonado muchas tierras de cultivo, las cuales por lo general se reforestan de manera relativamente rápida. Esto incrementa el carbono fijado (los bosques son mucho más eficientes que las cosechas). Pero por el contrario, en muchos países tropicales se está eliminando bosque para incrementar la tierra cultivable, muchas veces a través de incendios controlados, que liberan una gran cantidad de CO₂. Este factor y el incremento de incendios forestales en latitudes más altas hacen que en un balance final, el incremento en CO₂ responsable del calentamiento global no contribuya a un aumento en la biomasa vegetal.

1.2.2 Fotosíntesis

1.2.2.1 Introducción e historia

El proceso mediante el cual el CO₂ atmosférico es organificado se lleva a cabo en su mayor parte a través de **fotosíntesis**, la rama biosintética del ciclo rápido del carbono. Consiste en el aprovechamiento de la energía solar para la reducción del CO₂ y su incorporación a compuestos orgánicos como glucosa, sacarosa y almidón. En el curso del proceso el agua se descompone y se libera oxígeno molecular; de tal manera que todo el oxígeno presente actualmente en la atmósfera procede de fotosíntesis.

Los primeros experimentos científicos relativos a este proceso se deben a **Jan van Helmont** (s. XVII) quien procedió a medir la masa de una planta en crecimiento en relación a la de suelo en la cual estaba cultivada. Observó que esta última prácticamente no variaba, mientras que la de la planta aumentaba significativamente. Van Helmont atribuyó al agua de riego este aumento de masa.

Ya en el siglo XVIII, **Joseph Priestley** descubrió que una vela encendida en un recipiente cerrado de alguna manera “contaminaba” el aire y la vela se apagaba mucho antes de consumirse la cera; igualmente, comprobó que un ratón dentro del mismo recipiente “contaminaba” de la misma manera el aire de la vasija. Pero la presencia de una planta “regeneraba” el aire del recipiente. Priestley fue defensor acérrimo de la teoría del flogisto, hasta que los experimentos de **Lavoisier** demostraron la existencia del oxígeno y del dióxido de carbono; éste era producido por la combustión de la vela y la respiración del animal; de alguna manera la planta producía el oxígeno que alimentaba la combustión y la respiración, procesos que Lavoisier demostró ser idénticos. Al tiempo, **Jan Ingenhousz** demostró la necesidad absoluta de la luz solar para que tuviera lugar este último proceso.

Fue **Jean Senebier** (también a finales del XVIII) quien demostró que las plantas verdes tomaban del aire dióxido de carbono CO₂ y liberaban oxígeno molecular O₂. **Nicolas de Saussure**, por su parte, comprobó que el aumento de peso de la planta se debía tanto a la captación de agua como a la captación de CO₂. Otros hitos importantes en la historia de la fotosíntesis fueron la demostración por **van Niel** de la naturaleza redox de las reacciones fotosintéticas; el descubrimiento de los dos fotosistemas por **Emerson**; el establecimiento por **Hill** del “Esquema Z” (ver más adelante) y el enunciado por **Calvin** y **Benson** del ciclo metabólico de asimilación del CO₂.

Podemos, en principio, considerar la fotosíntesis como una reversión de la combustión de glucosa:



Al ser un proceso altamente endergónico ($\Delta G > 0$) se requiere un aporte externo de energía; en la fotosíntesis, esta energía procede de la luz solar.

Dentro del ciclo del carbono, la fotosíntesis desempeña un papel crucial e insustituible. Es la vía mediante la cual el dióxido de carbono CO₂ producido por la respiración de los seres vivos vuelve a formar parte de la biosfera mediante su reducción a compuestos como glucosa y almidón, a partir de los cuales se llegan a sintetizar todas las demás biomoléculas no sólo en

los organismos fotosintéticos, sino también en el resto de los seres vivos a través de las cadenas tróficas. Las cifras estimadas para el total de fotosíntesis en la biosfera son impresionantes: se estiman en 10^{14} kg/año, o en otras palabras, cien mil millones de toneladas métricas al año. A su vez, la potencia total del proceso fotosintético asciende a 100 terawatios (tera- : prefijo para 10^{12}), más de seis veces la potencia total desarrollada por la civilización humana.

Desde el punto de vista evolutivo, se cree que la fotosíntesis se desarrolló muy precozmente en la evolución química; hay evidencia de organismos fotosintéticos con una antigüedad de 3500 millones de años (es decir, a unos 500 millones de años de la formación del propio planeta). Desde entonces la atmósfera comenzó a enriquecerse en oxígeno, que es un subproducto de la fotosíntesis. En un principio este oxígeno quedó fijado en la corteza terrestre en forma de óxidos minerales; una vez saturada ésta, el oxígeno fue poco a poco aumentando su presencia en la atmósfera, de lo cual hay evidencia a unos 2400 millones de años. A su vez, la presencia de oxígeno libre permitió el desarrollo del metabolismo aeróbico en los seres vivos. Por tanto, los heterótrofos dependemos de la fotosíntesis en un doble sentido: como fuente de alimento (formas reducidas de carbono) y como fuente de oxígeno.

Tal como se ha expresado más arriba, la fotosíntesis consiste en la reducción del dióxido de carbono CO_2 a compuestos como la glucosa. El poder reductor necesario procede de la oxidación del agua H_2O a oxígeno molecular O_2 ; en el transcurso del proceso, se genera asimismo la energía requerida para llevar a cabo estas reacciones. En último término, y dentro de la forma absolutamente mayoritaria de fotosíntesis (llevada a cabo por plantas verdes, algas y cianobacterias), que es la llamada **fotosíntesis oxigénica**, el poder reductor toma la forma de la coenzima reducida NADPH y la energía es producida como ATP. Una y otra coenzimas se emplean en la reducción de CO_2 .

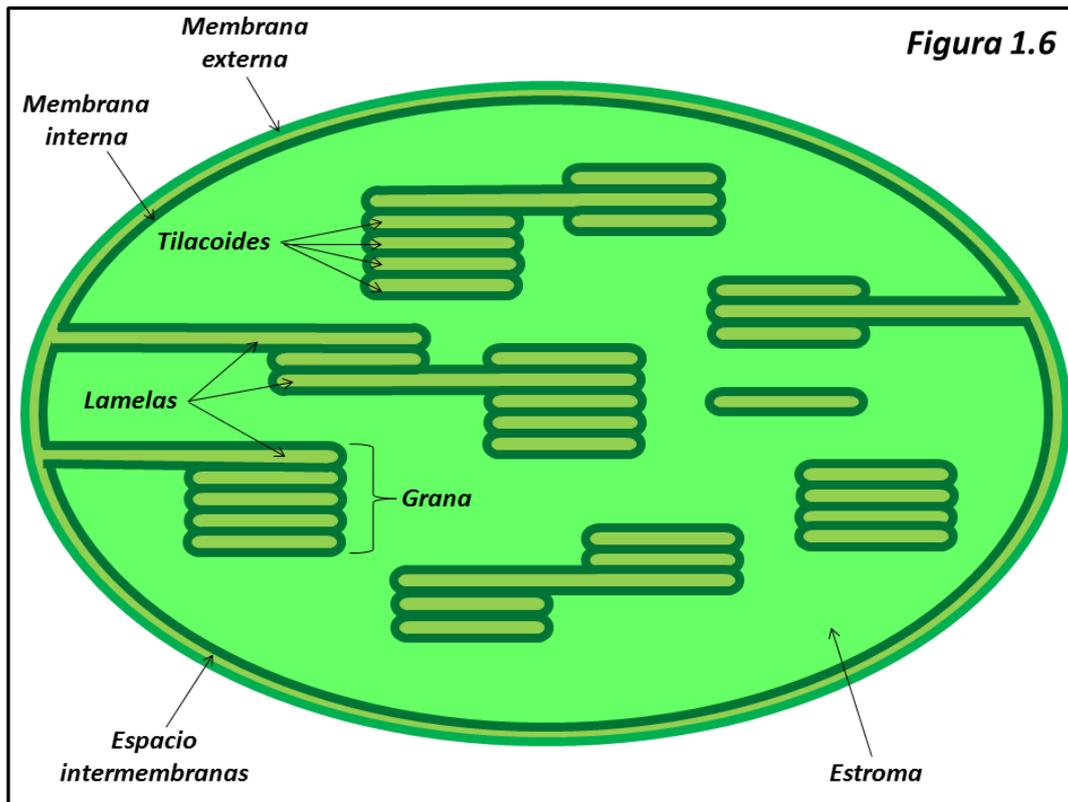
Los primeros organismos fotosintéticos que aparecieron en la biosfera eran procariotas; la aparición de este proceso se vio favorecida por la alta concentración de CO_2 en la atmósfera, mucho mayor que la actual. Probablemente los primeros organismos fotosintéticos fueron del tipo de las actuales **sulfobacterias verdes** o **sulfobacterias púrpura**, que llevan a cabo fotosíntesis pero no producen oxígeno (**fotosíntesis anoxigénica**) dado que obtienen el poder reductor a partir de sulfuro de hidrógeno H_2S , o de azufre elemental; otros procariotas llevan a cabo fotosíntesis anoxigénica mediante la reducción de compuestos orgánicos de bajo peso molecular como etanol. Más adelante en la evolución aparecieron las **cianobacterias**, que al desarrollar la fotosíntesis oxigénica, constituyen los precursores de los actuales organismos fotosintéticos. La adquisición de la capacidad fotosintética por parte de eucariotas fue un fenómeno de **endosimbiosis**; determinadas cianobacterias establecieron una relación simbiótica con células eucarióticas. De ello resultó la aparición de los **cloroplastos**, organelas propias de los eucariotas fotosintéticos (algas y plantas verdes) que llevan a cabo todas las reacciones propias de la fotosíntesis, y cuyo origen y estructura es en parte parecido a las mitocondrias de las células aeróbicas.

En el presente capítulo, ésta es la forma de fotosíntesis que estudiaremos más detenidamente.

1.2.2.2 El cloroplasto

Los cloroplastos son organelas celulares que aparecen en las plantas verdes y en otros eucariotas capaces de llevar a cabo la fotosíntesis. Tienen forma de esfera achatada con un diámetro en torno a los 5 μm . Una célula vegetal típica puede contener hasta 100 cloroplastos.

Los cloroplastos están delimitados por una doble membrana (figura 1.6), distinguiéndose, al igual que en las mitocondrias, una **membrana interna** y una **membrana externa**, separadas por un **espacio intermembranas**. El espacio comprendido dentro de la membrana interna, que representa el citoplasma de la cianobacteria primitiva, recibe el nombre de **estroma**. En el estroma encontramos el DNA y los ribosomas procarióticos, las enzimas de las reacciones oscuras (ver apartado 1.2.2.3) y gránulos de reserva de almidón.



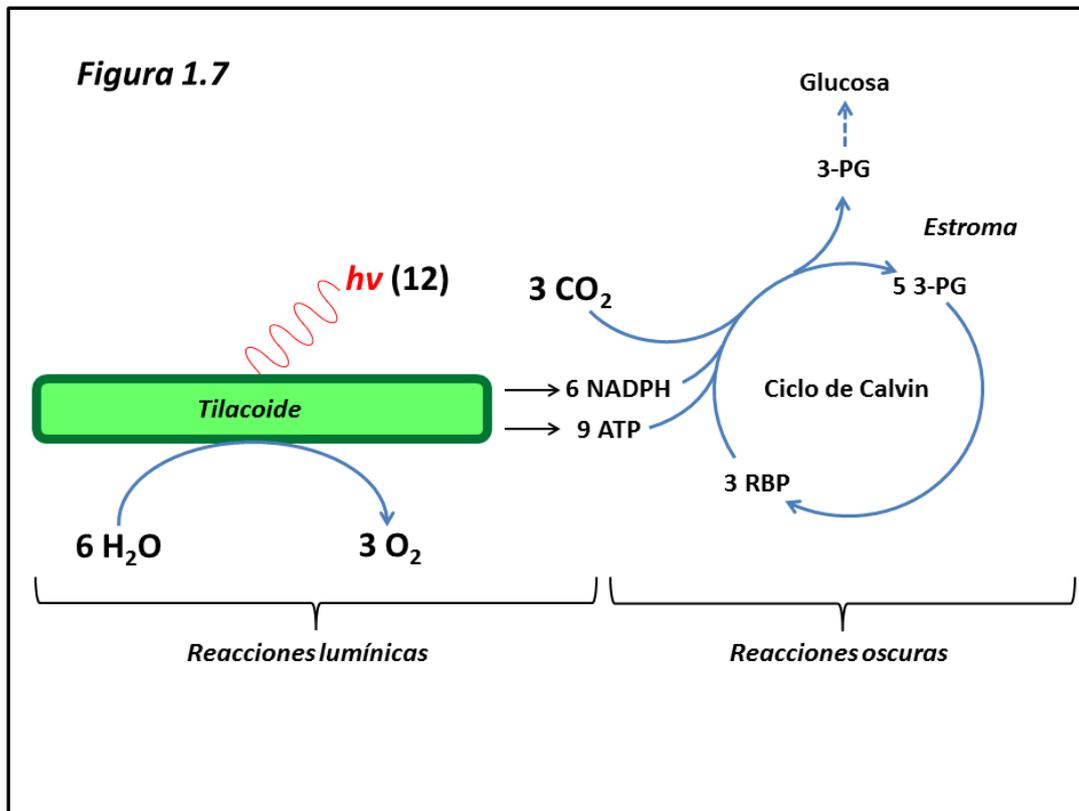
La membrana interna presenta una configuración bastante más compleja que la que se observa en las mitocondrias (donde ésta se limita a los pliegues conocidos como crestas mitocondriales). Derivados de la membrana interna son los **tilacoides**, discos achatados apilados en estructuras llamadas **grana** y delimitados por una membrana lipídica equivalente a la membrana interna del cloroplasto. Hay asimismo estructuras parecidas al tilacoide, pero elongadas, que van de un grana a otro, o al espacio intermembranas, y que reciben el nombre de **lamelas**. El interior del tilacoide (**luz del tilacoide**) y el interior de las lamelas es topológicamente equivalente al espacio intermembrana, con el que están comunicados (figura 1.6).

En la membrana del tilacoide y de las lamelas vamos a encontrar todos los elementos capaces de llevar a cabo las reacciones lumínicas de la fotosíntesis (ver apartado 1.2.2.3) formando, en su mayoría, parte integral de la membrana. En el estroma, por su parte, veremos las rutas metabólicas encargadas de la organificación del CO₂.

1.2.2.3 Sinopsis del proceso fotosintético

Todo el proceso de fotosíntesis depende de la luz solar, fundamentalmente de la radiación en el espectro visible (extendiéndose algo hacia el infrarrojo). Por lo que actualmente sabemos, distinguimos dos procesos paralelos en la fotosíntesis: Las **reacciones lumínicas** (mejor sería llamarlas **foto dependientes**) y las **reacciones oscuras** (que se describirían mejor como

fotoindependientes). Los nombres de *lumínicas* y *oscuras*, consagrados por el uso, pueden llevar a confusión, sobre todo en este último caso (reacciones oscuras). Las llamadas reacciones oscuras no requieren la captación de luz solar, pero de ninguna manera esto significa que tengan que realizarse *en la oscuridad*. De hecho, la mayor intensidad de las reacciones oscuras de la fotosíntesis tiene lugar en condiciones de plena iluminación. Un resumen del proceso fotosintético aparece en la **figura 1.7**.



Las reacciones lumínicas tienen como objeto la producción de poder reductor en forma de NADPH y de energía en forma de ATP. Se requieren ambos en el proceso de reducción del CO_2 (que cursa mediante las reacciones oscuras). NADPH se produce a partir de la reducción de NADP^+ gracias a una cadena de transporte electrónico cuyos electrones son, en último término, donados por el agua H_2O . Teniendo el par $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$ un alto potencial de reducción, son necesarios electrones cuyo potencial de reducción sea más alto aún. Así, intercalados en la cadena de transporte electrónico que va desde el agua al NADPH, encontramos dos **fotosistemas**, el **fotosistema II** y el **fotosistema I**, capaces de energizar electrones gracias a la radiación solar (el porqué de mencionar antes el II que el I será evidente más adelante). Además de los fotosistemas, en la cadena de transporte electrónico encontraremos otros elementos, como **citocromos**, **quinonas**, **centros Fe-S** y otros.

Los fotosistemas son complejos supramoleculares de proteínas que contienen numerosas moléculas de **pigmentos antena**, esto es, estructuras capaces de captar la energía de los fotones solares y transmitirla a otras estructuras. El contingente más numeroso de pigmentos antena está constituido por las **clorofilas**; pero también por otras moléculas como **carotenoides** y **xantofilas**. Como veremos, el fotosistema II recoge los electrones del agua al tiempo que se libera oxígeno; estos electrones son energizados por la luz y reducen a otros elementos de una cadena de transporte electrónico que a su vez reducirá al fotosistema I, el cual energiza nuevamente sus electrones, que a través de la correspondiente cadena de transporte terminarán por reducir a NADP^+ para dar NADPH (Esquema en "Z" de Hill).

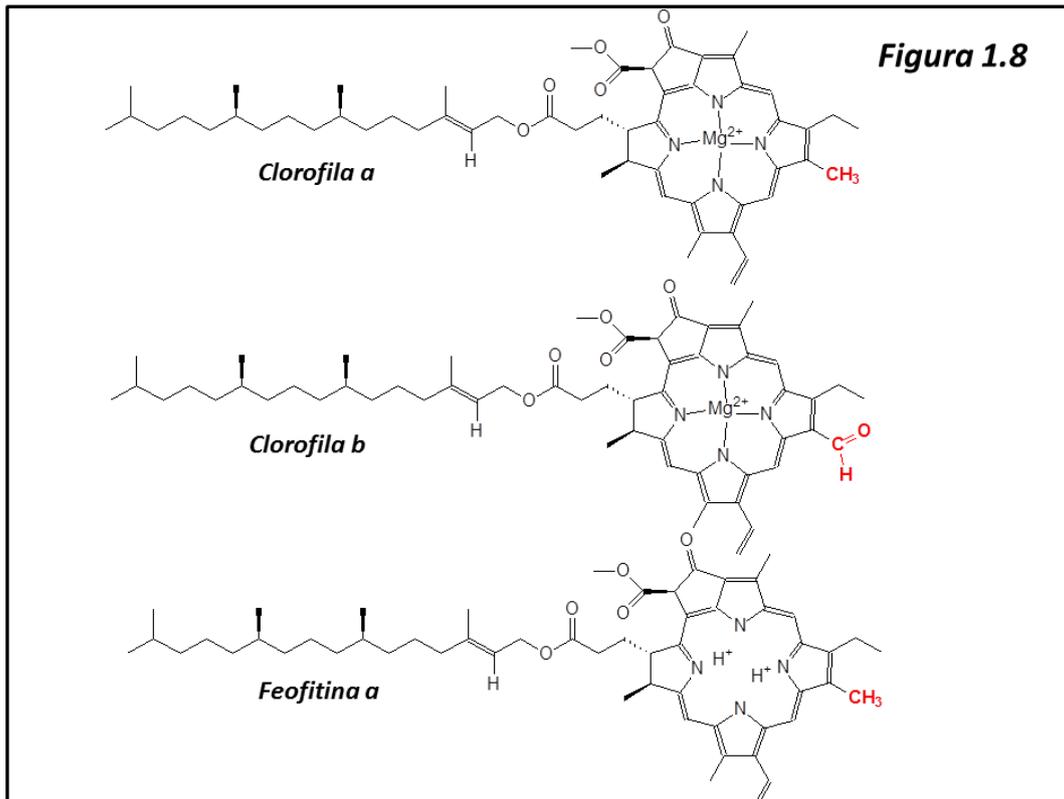
Al tiempo que tiene lugar este transporte electrónico, hay un **bombeo de protones** hacia la luz del tilacoide (recordemos que este espacio equivale al espacio intermembranas) a partir del cual se generará ATP mediante una **ATP sintasa (EC 3.6.3.14)** (complejo CF_0CF_1) análoga a la que encontramos en la fosforilación oxidativa mitocondrial (ver cap. 5).

Las **reacciones oscuras** son las que incorporan el CO_2 a compuestos orgánicos, utilizando el NADPH y el ATP producidos en las reacciones lumínicas. Esto se consigue gracias a un ciclo metabólico conocido como **Ciclo de Calvin** en honor a su descubridor. La reacción clave está catalizada por la enzima llamada **RubisCO (Ribulosa bisfosfato carboxilasa/oxigenasa, EC 2.1.1.127)**, que a partir de la pentosa ribulosa-1,5-bisfosfato (RBP) produce dos moléculas de 3-fosfoglicerato (3-PG), organificando de esta manera al CO_2 (actividad carboxilasa). Esta misma enzima, actuando como oxigenasa, reacciona con oxígeno O_2 dando lugar a una molécula de 3-fosfoglicerato y otra de fosfoglicolato. El metabolismo de este último depende, entre otras cosas, de la incorporación de otra molécula de oxígeno; este segundo proceso, por tanto, consume oxígeno (y además produce CO_2). Por ello esta segunda actividad es conocida como **fotorrespiración**, y hasta cierto punto contrarresta las reacciones de la fotosíntesis normal, como veremos. Esta fotorrespiración no debe ser confundida con la respiración aeróbica normal de toda célula que se lleva a cabo en las mitocondrias. Algunas especies vegetales evitan la fotorrespiración mediante una forma alternativa de asimilación de CO_2 , llamada **fijación C4** (por utilizar intermediarios de cuatro átomos de carbono), a diferencia de la fijación usual, conocida como **fijación C3** (que utiliza intermediarios de tres átomos de carbono).

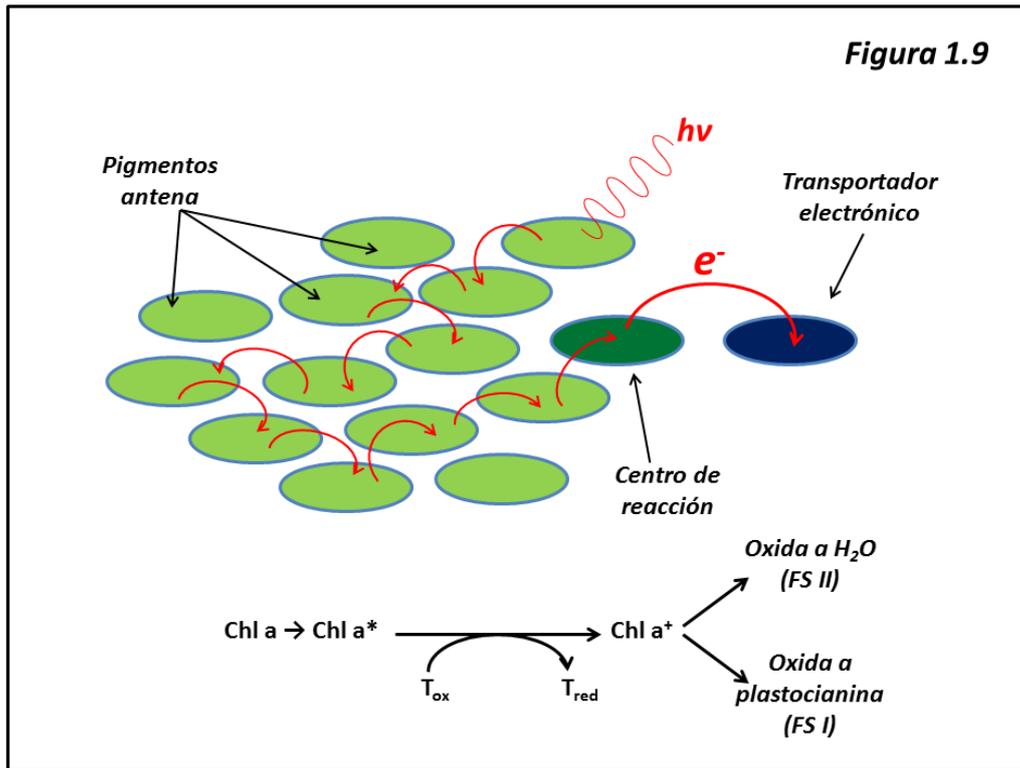
1.2.2.4 Los pigmentos antena

Asociados a ambos fotosistemas encontramos una gran cantidad de moléculas conocidas como **pigmentos antena**, encargados de captar fotones de la luz solar, pasando de un estado basal a un estado energizado. Una característica común a todos ellos es la presencia de estructuras que favorecen la deslocalización electrónica, bien en sistemas cíclicos (como las **clorofilas**) o en sistemas lineales con dobles enlaces conjugados (como en los **carotenoides**). La deslocalización electrónica permite absorber cuantos de luz (fotones) en la banda visible del espectro, por lo que todos ellos son compuestos coloreados. El color depende del espectro de absorción de cada pigmento en particular. Todos ellos son de naturaleza hidrofóbica, y aparecen asociados a las proteínas de los fotosistemas o bien a proteínas auxiliares que rodean a éstos y que se conocen como **complejos captadores de luz** (*light-harvesting complexes, LHC*). La unión del pigmento a la proteína determina algunas variaciones en sus espectros de absorción.

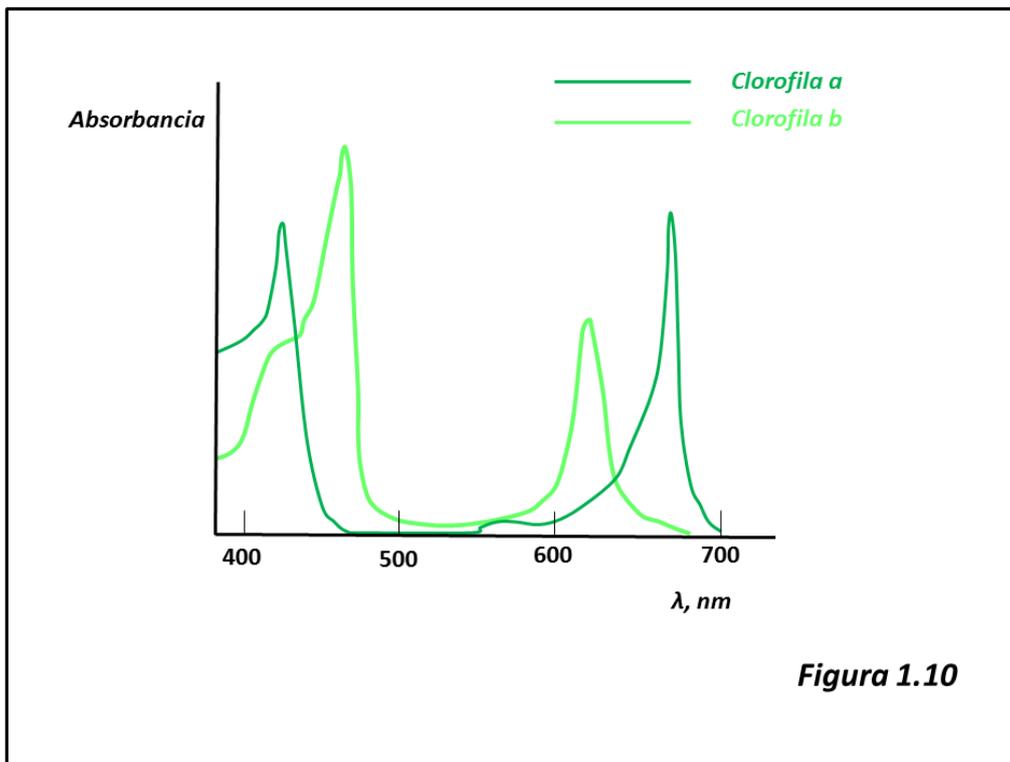
Con mucha diferencia, los pigmentos antena más abundantes en las plantas verdes son las **clorofilas**. Se presenta la estructura de algunas clorofilas en la **figura 1.8**. Las clorofilas son tetrapirroles cíclicos, muy parecidos a las porfirinas. Presentan un ciclo adicional y los nitrógenos pirrólicos están coordinados a un ion magnesio (Mg^{2+}). Uno de los sustituyentes del ciclo tetrapirrólico es un alcohol poliprenoide saturado (fitol) de 20 átomos de carbono que permite el anclaje a estructuras hidrofóbicas. La clorofila más abundante es la conocida como **clorofila a**, pigmento predominante en plantas verdes, algas verdes y cianobacterias. Otra es la **clorofila b**, que se distingue de la anterior sólo en un sustituyente (aldehído por metilo) en la posición 7 (**figura 1.8**) y que aparece en plantas verdes. En el fotosistema II aparece también **feofitina a**, una clorofila a en la que el ion magnesio ha sido sustituido por dos protones. Se han descrito algunos otros tipos de clorofilas en algas y cianobacterias.



El ciclo tetrapirrólico constituye un sistema de deslocalización electrónica que permite al electrón remontar a un estado energético superior al recibir un fotón de la banda visible del espectro. La excitación de una molécula de clorofila puede transferirse a otras moléculas de clorofila presentes en su cercanía mediante el mecanismo de **transferencia energética de resonancia** (*resonance energy transfer*). Mediante este proceso el estado energizado va transmitiéndose de una molécula a otra, hasta que llega a dos clorofilas en particular presentes en el **centro de reacción** de un fotosistema; estas clorofilas especiales, una vez excitadas, ceden el electrón a un transportador electrónico y quedan cada una con una carga eléctrica positiva; se convierten así en un potente agente oxidante que en el fotosistema II oxida al agua a través del **complejo productor de oxígeno** y en el fotosistema I oxida a una proteína transportadora, la **plastocianina**. Este mecanismo se ilustra en la **figura 1.9**.

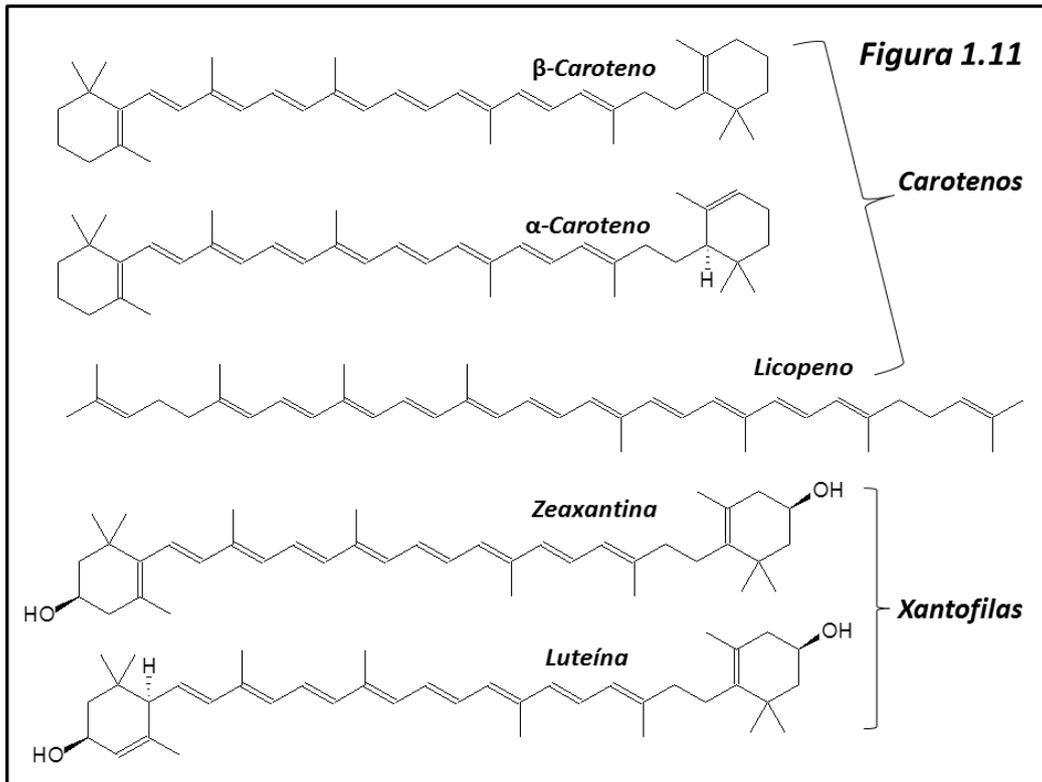


El espectro de absorción de las clorofilas a y b aparece en la [figura 1.10](#). Se puede apreciar que absorben fundamentalmente en las regiones azul y roja del espectro, razón por la cual las clorofilas (y la mayoría de las plantas) presentan color verde.



Otros pigmentos antena, como los **carotenos** y las **xantofilas** ([figura 1.11](#)) aparecen en menor cantidad y ayudan a la captación de fotones en aquellas regiones del espectro no cubiertas por las clorofilas. Son responsables de la variedad de colores, entre el amarillo y el rojo intenso,

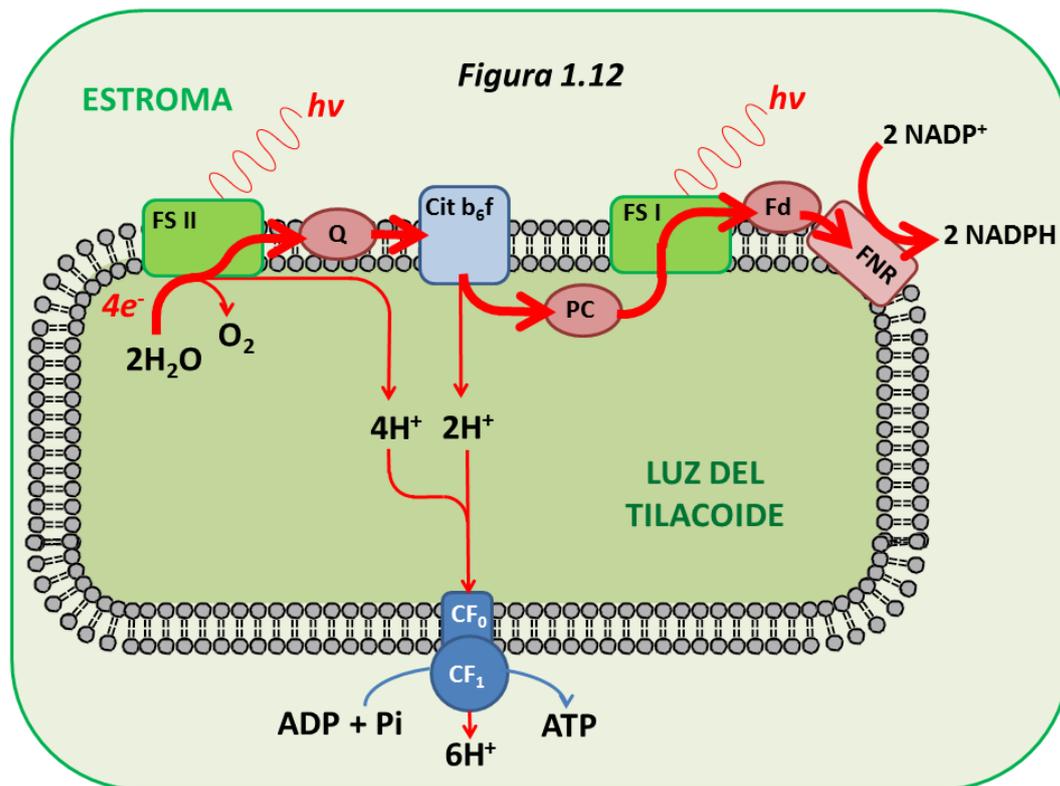
que aparecen en las hojas en el otoño, momento en que las clorofilas son degradadas a tetrapirroles lineales incoloros. Por otra parte, los carotenos protegen a las estructuras fotosintéticas del *stress* oxidativo inducido por el oxígeno.



En otros organismos fotosintéticos podemos encontrar muchos otros tipos de pigmentos antena. Además de los ya citados, clorofilas y carotenoides, aparecen **ficobilinas**, tetrapirroles lineales presentes sobre todo en algas rojas y pardas.

1.2.2.5 El transporte electrónico fotosintético

El poder reductor necesario para la organificación de CO₂, en forma de NADPH, es producido por una cadena de transporte que lleva electrones desde el agua hasta el NADP⁺ para su reducción a NADPH. Podemos ver un resumen de esta cadena de transporte en la **figura 1.12**.



Las clorofilas del centro de reacción del **Fotosistema II (FS II)** son excitadas por los pigmentos antena del mismo tras la absorción de un fotón de luz solar. El máximo de absorción en el fotosistema II es de 680 nm, por lo que el centro de reacción es denominado **P680**. Los electrones energizados en la clorofila (**Chl a***) se ceden a una cadena de transportadores que termina con la reducción de una molécula de **plastoquinona (Q)** a **plastoquinol (QH₂)**. Mientras tanto, las clorofilas del centro de reacción, al ceder sus electrones, quedan con una carga positiva (**Chl a⁺**, ver [figura 1.9](#)) que las hace capaces de oxidar al agua, en el **complejo productor de oxígeno** (no representado en la figura), desprendiendo oxígeno molecular y volviendo al estado basal (**Chl a**) al recuperar sus electrones, quedando así listas para una nueva excitación.

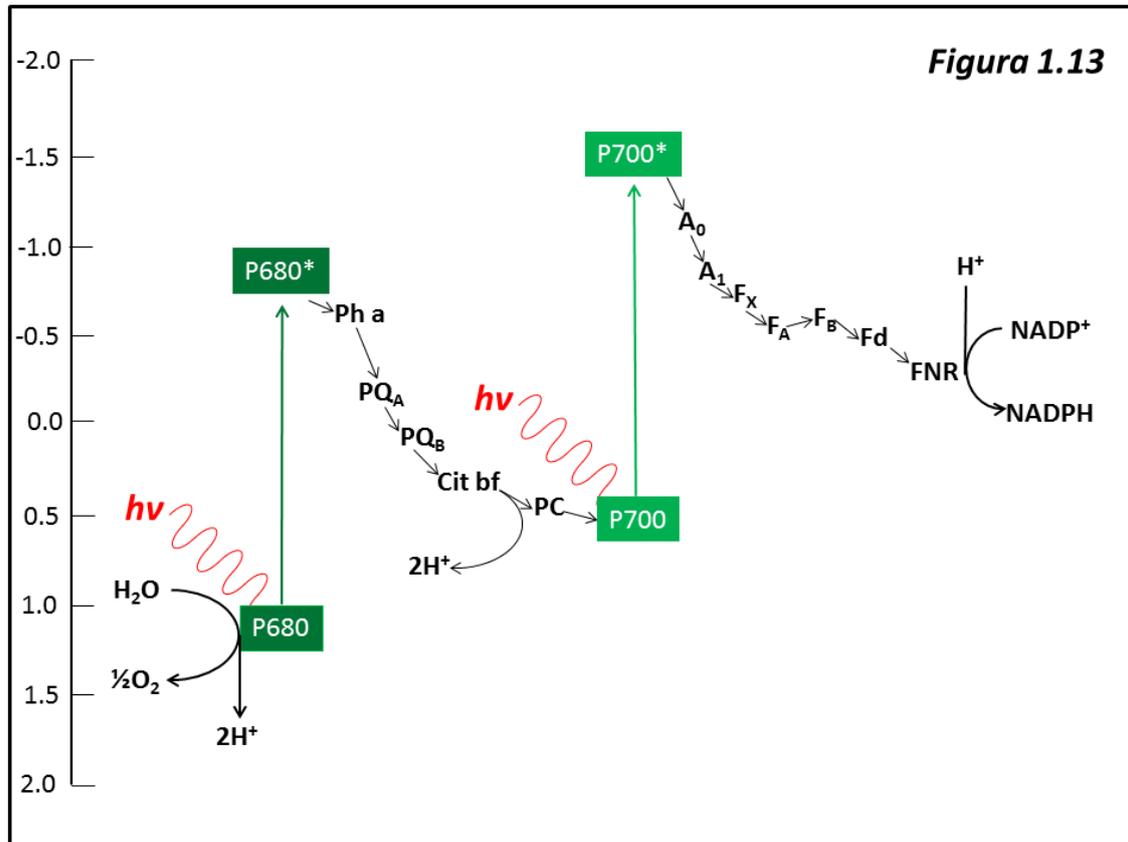
Plastoquinol es una molécula hidrofóbica que se mueve libremente en la fase lipídica de la membrana del tilacoide; de esta manera reduce al complejo **citocromo b₆f (Cit b₆f)**, que también forma parte integral de la membrana del tilacoide. El citocromo reducido, a su vez, reduce a una molécula de **plastocianina**, cuproproteína hidrosoluble presente en la luz del tilacoide.

A su vez, el **Fotosistema I** es excitado de la misma manera que el II, aunque el máximo de absorción varía: 680 nm en el II y 700 nm en el I; las clorofilas del centro de reacción (que por esa razón se conocen como **P700**) ceden sus electrones a una cadena de transporte que reducirá a la proteína Fe-S **ferredoxina (Fd)**. Las clorofilas P700 oxidadas (**Chl a⁺**) vuelven a su estado basal al ser reducidas por la plastocianina mencionada en el párrafo anterior.

La ferredoxina reducida es oxidada a expensas de **NADP⁺** por la enzima **ferredoxina: NADP⁺ reductasa (FNR)**, y **NADP⁺** es reducido a **NADPH**.

Tanto los fotosistemas como el citocromo b₆f son en sí mismos cadenas de transporte electrónico; contienen centros Fe-S, quinonas y otros elementos a través de los cuales los electrones van siendo transferidos en una secuencia de mayor a menor potencial de

reducción. Cuando representamos en un gráfico este flujo electrónico frente a los potenciales de reducción, se obtiene el conocido como **Esquema Z de Hill**, que aparece representado en la **figura 1.13**.



En este esquema vemos:

(a) La luz solar energiza a las clorofilas P680 del fotosistema II, que ceden sus electrones al siguiente transportador (**Feofitina a, Ph a**). Las clorofilas oxidadas oxidan al agua en el **complejo productor de oxígeno**, liberando oxígeno molecular. Feofitina a cede sus electrones a una **plastoquinona fija (PQ_A)**, presente en el fotosistema II y ésta, a su vez, a un **plastoquinona móvil (PQ_B)**. Todas estas reacciones tienen lugar en el Fotosistema II. La plastoquinona móvil puede moverse libremente en la fase lipídica de la membrana del tilacoide.

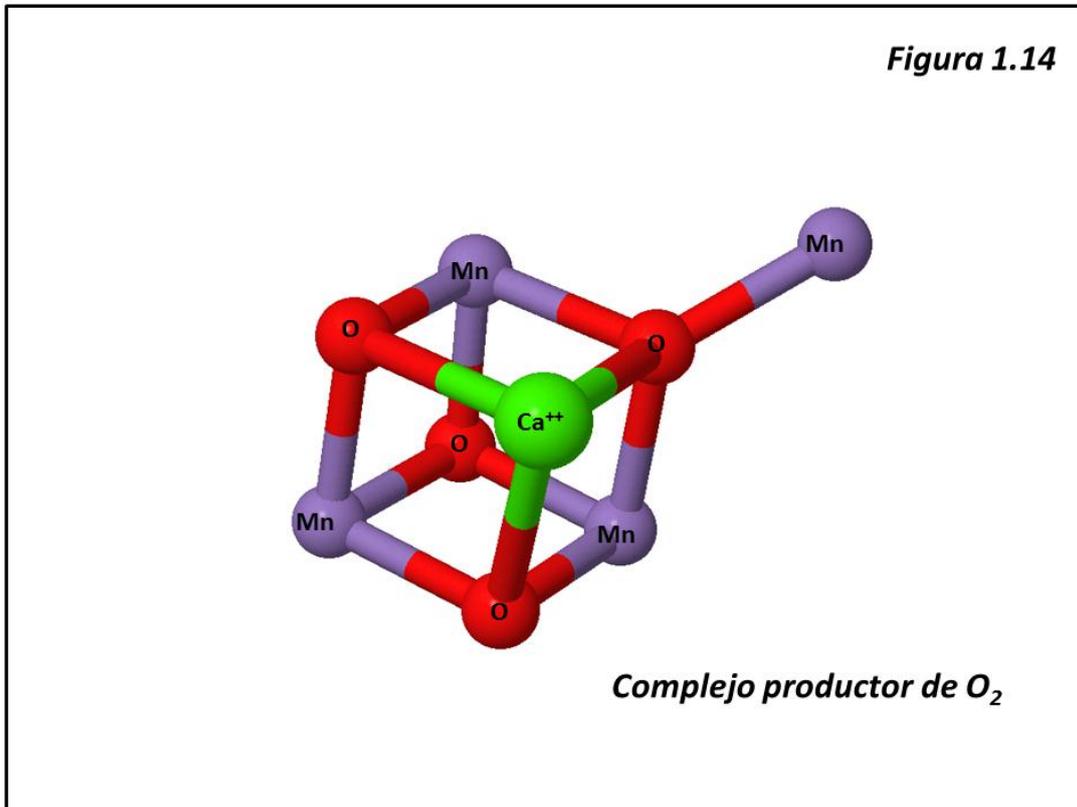
(b) La plastoquinona móvil reduce al **complejo citocromo b₆f**, el cual reduce a su vez a la **plastocianina (PC)**. La plastocianina se mueve libremente en la luz del tilacoide.

(c) Las clorofilas del fotosistema I (**P700**) son energizadas por la luz solar; tras ceder sus electrones al siguiente transportador, son reducidas por la plastocianina. Dentro del fotosistema I, las clorofilas P700 energizadas ceden sus electrones a otras clorofilas auxiliares (**A₀, A₁**), que a su vez reducen a una serie de **centros Fe-S (F_x, F_A y F_B)** que terminarán reduciendo a la **ferredoxina (Fd)**. Estas reacciones tienen lugar en el Fotosistema I.

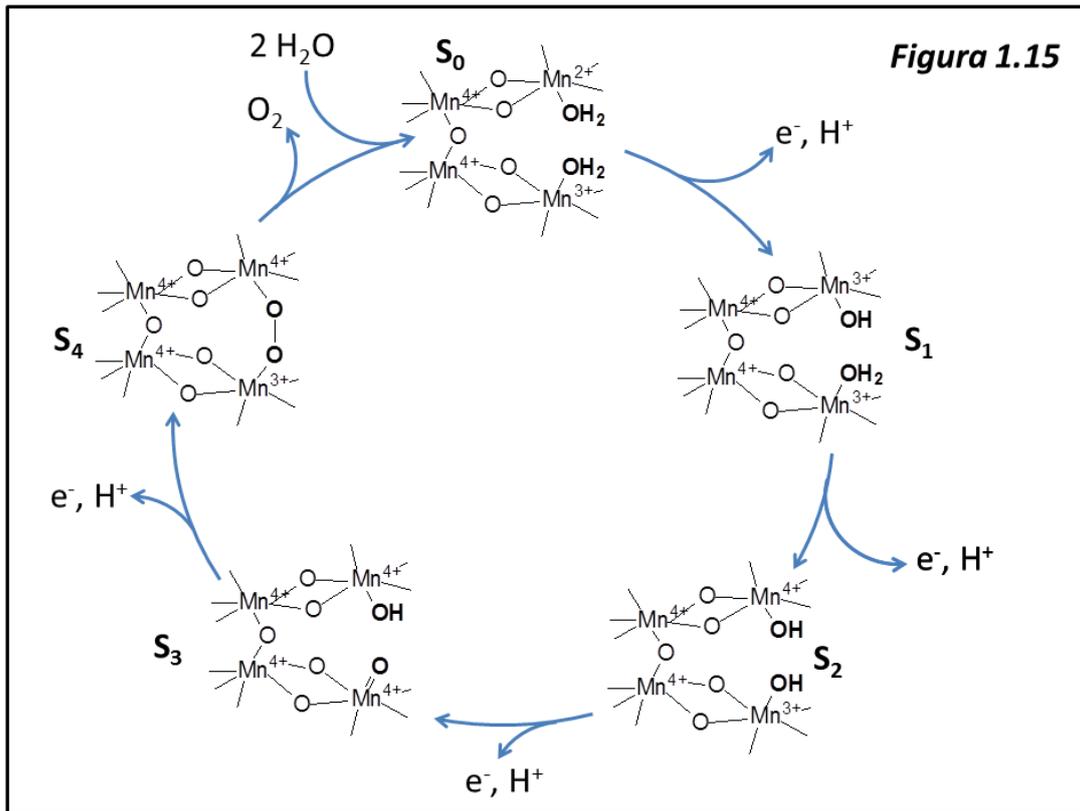
(d) La ferredoxina reducida es oxidada por la **ferredoxina: NADP⁺ reductasa (FNR)** al tiempo que **NADP⁺** es reducido a **NADPH**. Estas últimas reacciones tienen lugar en el estroma del cloroplasto.

1.2.2.7 El complejo productor de oxígeno

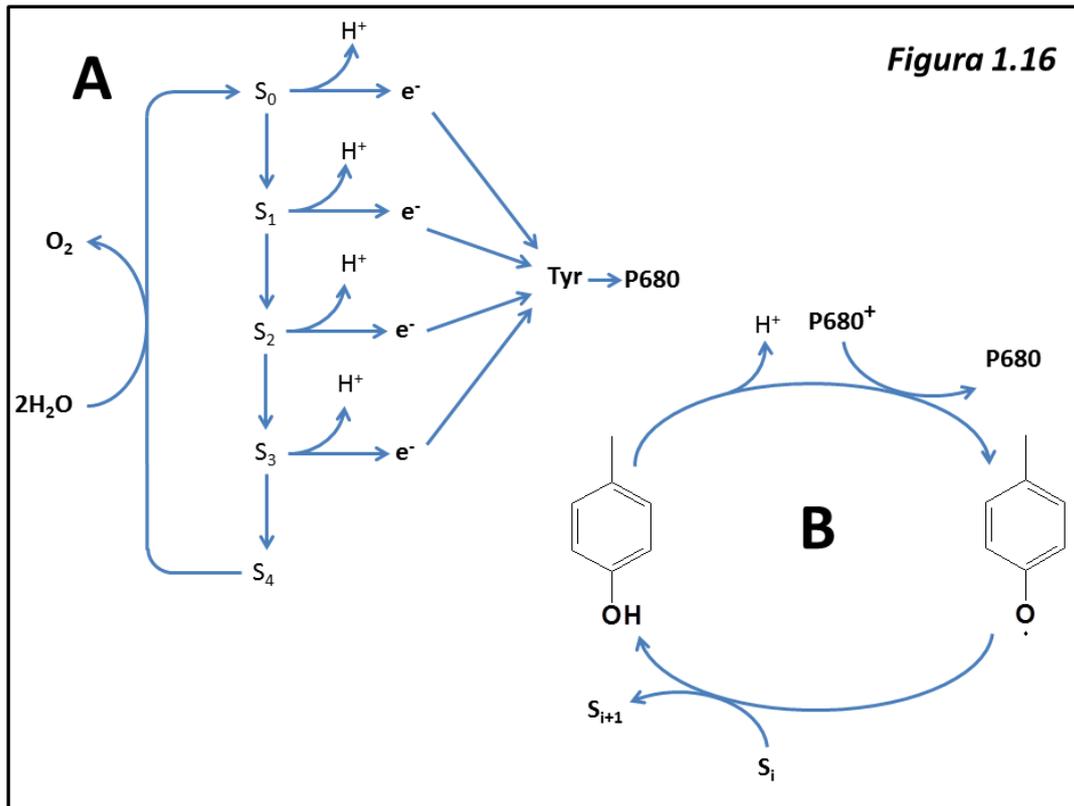
Formando parte del fotosistema II encontramos el complejo molecular encargado de la oxidación del agua (y liberación de oxígeno molecular O_2). Forma una estructura cúbica integrada por tres iones manganeso, cuatro oxígenos y un ion calcio; un cuarto ion manganeso queda fuera de esta estructura (figura 1.14). Asociado a este complejo hay un residuo de tirosina conocido como Tyr_z (no representado en la figura).



La secuencia de acontecimientos en la producción de oxígeno aparece reflejada en la figura 1.15.



El complejo formado por los cuatro iones Mn pasa por distintos estados de oxidación (esquema de **Kok**) llamados S_0 , S_1 , S_2 , S_3 y S_4 , siendo S_0 el de menor estado de oxidación y S_4 el de mayor. El estado S_4 es inestable y desprende O_2 al tiempo que capta dos moléculas de agua, convirtiéndose en S_1 . Los sucesivos estados se forman cuando se ceden átomos de hidrógeno (un protón más un electrón) de uno en uno al residuo Tyr_Z, que en ese momento está como radical Tyr_Z-O·, convirtiéndose en Tyr-OH. Éste cede entonces su electrón a la clorofila P680⁺, que es un oxidante fuerte, dando lugar a la clorofila P680 en estado basal, al tiempo que se desprende un protón que pasará a la luz del tilacoide, contribuyendo así a la creación del gradiente de H^+ que moverá la síntesis de ATP y dando lugar nuevamente al radical Tyr_Z-O·. Las reacciones sucesivas se ilustran en la [figura 1.16](#).



En dicha figura, sección A, se aprecia cómo los electrones pasan de los distintos estados S a la Tyr_Z y de ésta al centro P680. En la sección B se ilustra cómo la cadena lateral de Tyr_Z cede un electrón a P680^+ , desprendiéndose un protón, reduciéndolo a P680 y convirtiéndose en radical $\text{Tyr}_Z\text{-O}\cdot$; éste es reducido por uno de los estados S a su forma basal $\text{Tyr}_Z\text{-OH}$, que queda en condiciones de reducir nuevamente a la clorofila P680^+ .

Por lo tanto, a partir de dos moléculas de agua se van a desprender cuatro electrones que reducirán a otras tantas clorofilas P680^+ , al tiempo que cuatro protones se liberan hacia la luz del tilacoide.

1.2.2.8 La ATP sintasa del cloroplasto

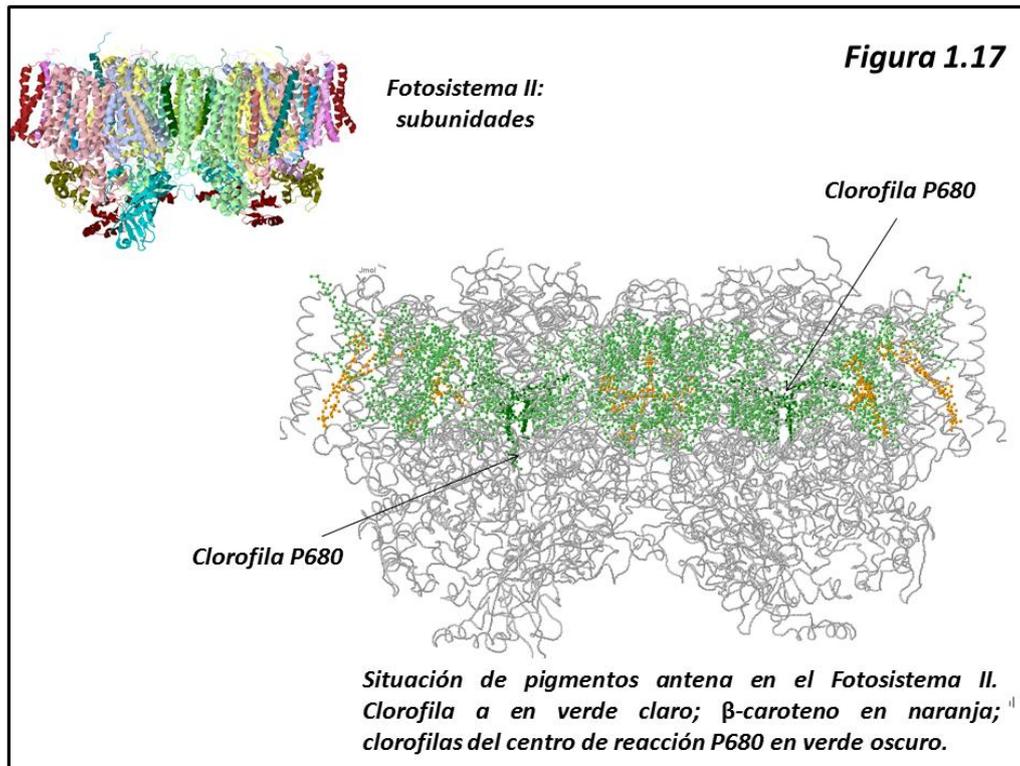
La producción de ATP en el cloroplasto cursa de una manera similar a como ocurre en la mitocondria. Existe un complejo CF_0CF_1 , integrado en la membrana del tilacoide y de las lamelas análogo al F_0F_1 presente en la membrana interna mitocondrial (la C indica que el complejo es el del cloroplasto), con el que comparte similitud de secuencia y estructura.

El funcionamiento detallado de este complejo se describe en el capítulo 5 de esta misma obra. En resumen, a partir del transporte electrónico fotosintético se bombean protones a la luz del tilacoide, cuyo contenido se hace más ácido que el estroma. Al atravesar el complejo CF_0CF_1 , a favor de gradiente (en sentido luz del tilacoide hacia estroma) los protones mueven un motor molecular cuya energía es aprovechada para la síntesis de ATP a partir de ADP y fosfato inorgánico.

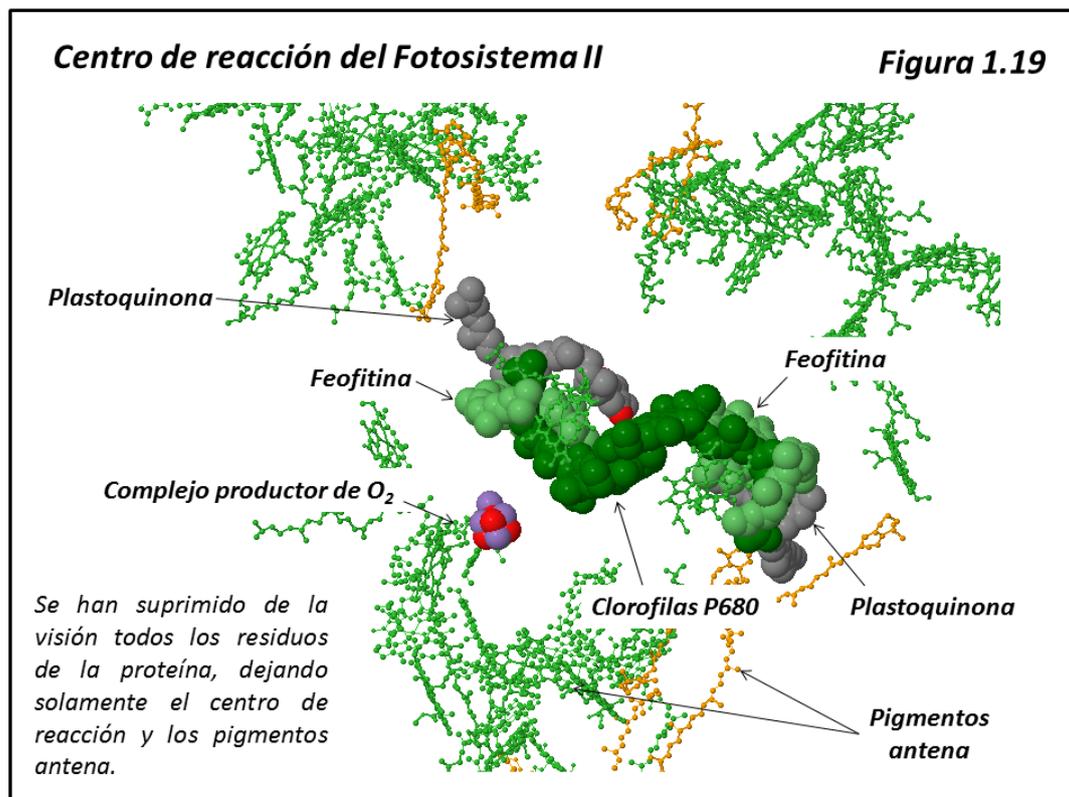
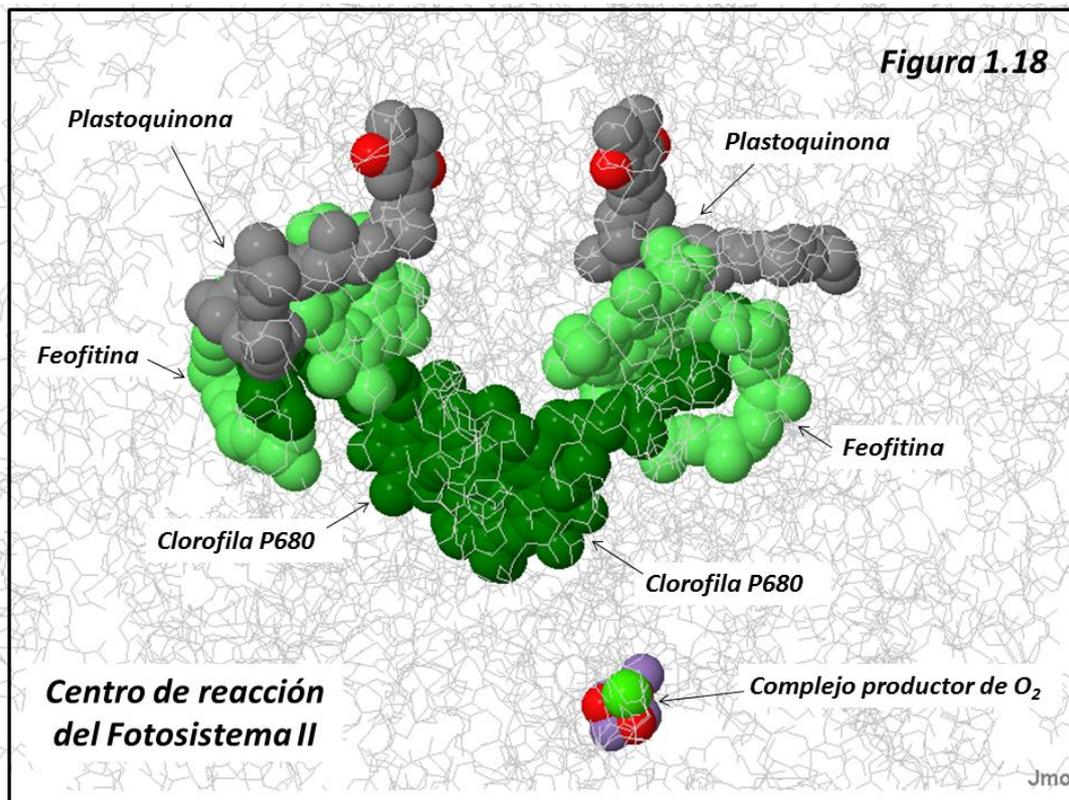
1.2.2.9 Complejos moleculares de la cadena de transporte electrónico fotosintético

Fotosistema II

La estructura del fotosistema II de la cianobacteria *Thermosynechococcus elongatus* (PDB 1S5L) muestra una estructura dimérica formada por dos protómeros idénticos de 19 subunidades cada uno (figura 1.17), integrada en la membrana del tilacoide.

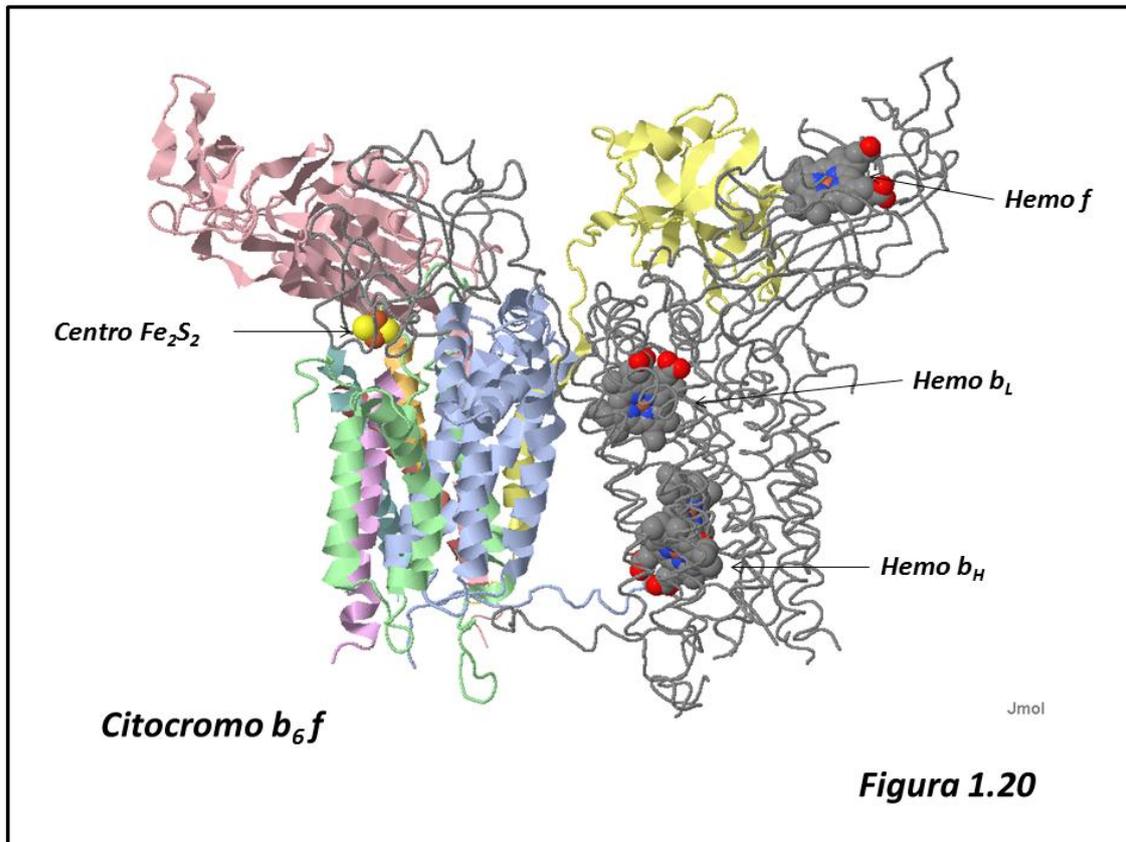


Los pigmentos antena (clorofilas y β -carotenos) aparecen repartidos por todo el complejo. Cada protómero tiene un centro de reacción P680 constituido por dos clorofilas, dos feofitinas y dos plastoquinonas (figuras 1.18 y 1.19), en la subunidad A. En esta misma subunidad aparece el **complejo productor de oxígeno**.



Citocromo b_6f

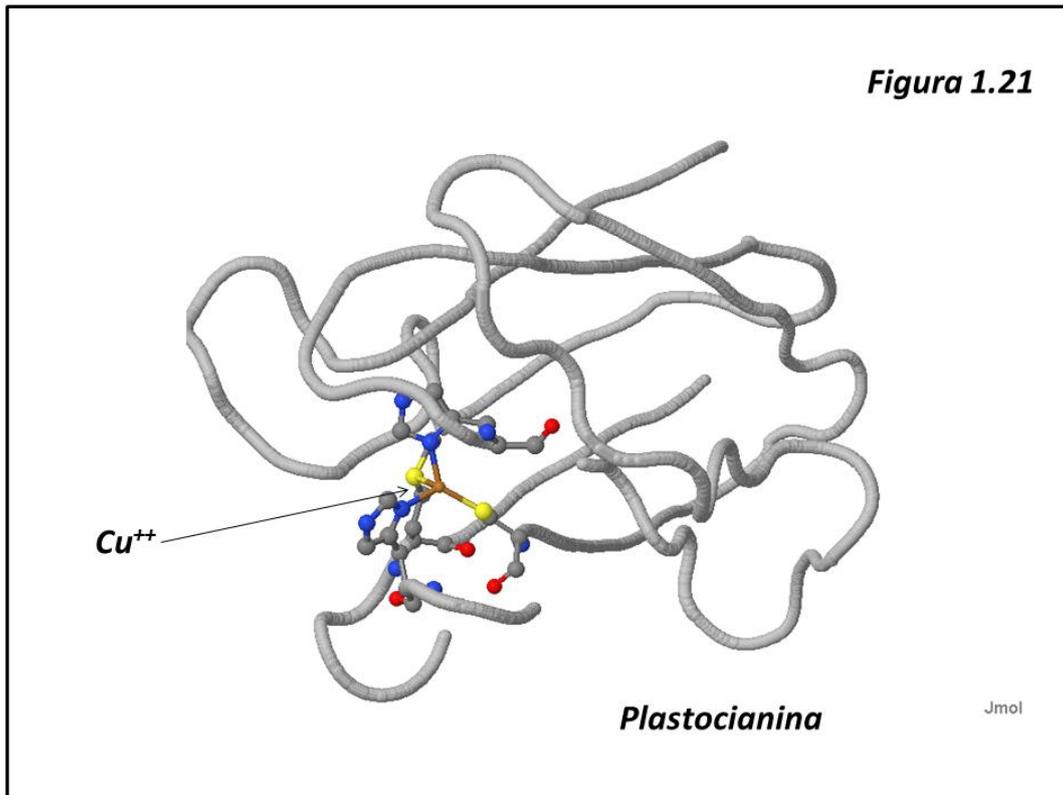
Tiene asimismo una estructura dimérica, integrada en la membrana del tilacoide, formada por dos protómeros de siete subunidades cada uno. Guarda un cierto parecido, estructural y funcional, con el complejo III del transporte electrónico mitocondrial (figura 1.20).



Una de estas subunidades es una proteína Fe-S, la **proteína Rieske**, que contiene un centro Fe_2S_2 . Otras subunidades son hemoproteínas; así, hay en la estructura un **hemo f**, un **hemo b_L** y un **hemo b_H** . La función del citocromo b_6f , como hemos visto en el apartado anterior, consiste en la oxidación de la plastoquinona móvil y reducción de la plastocianina. El tránsito electrónico a través del citocromo b_6f produce el bombeo de dos protones hacia la luz del tilacoide.

Plastocianina

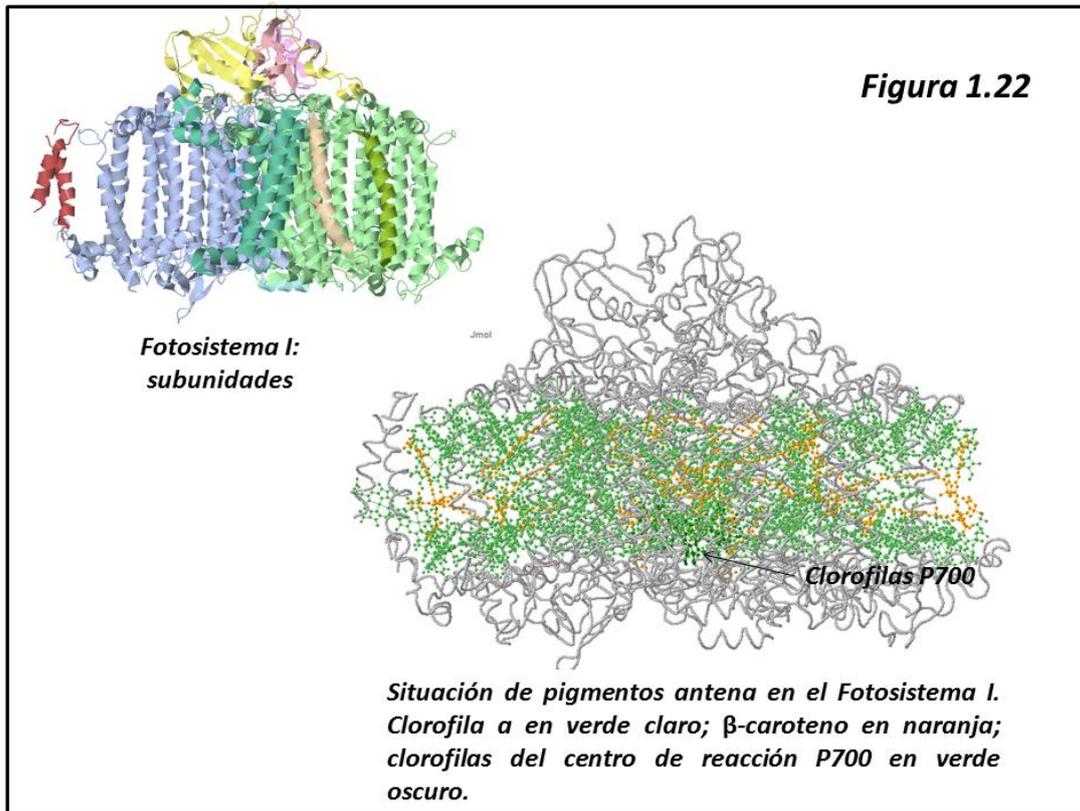
Es una proteína pequeña, de 91 aminoácidos, cuyo centro reactivo es un ion de cobre cuyo estado de oxidación oscila entre +1 y +2 (**figura 1.21**).



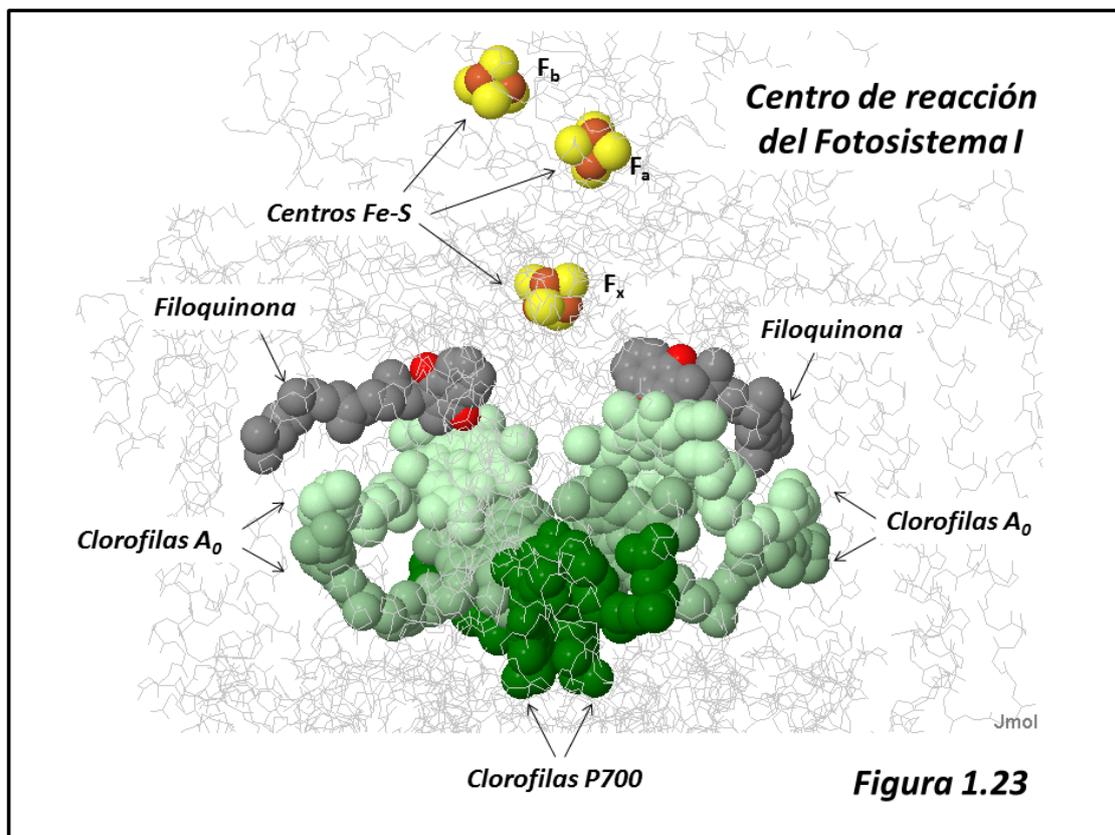
El ion de cobre aparecen coordinado a dos cisteínas y dos histidinas de la estructura proteica. La plastocianina es el transportador electrónico que reduce a las clorofilas P700 del fotosistema I. Circula libre en la luz del tilacoide.

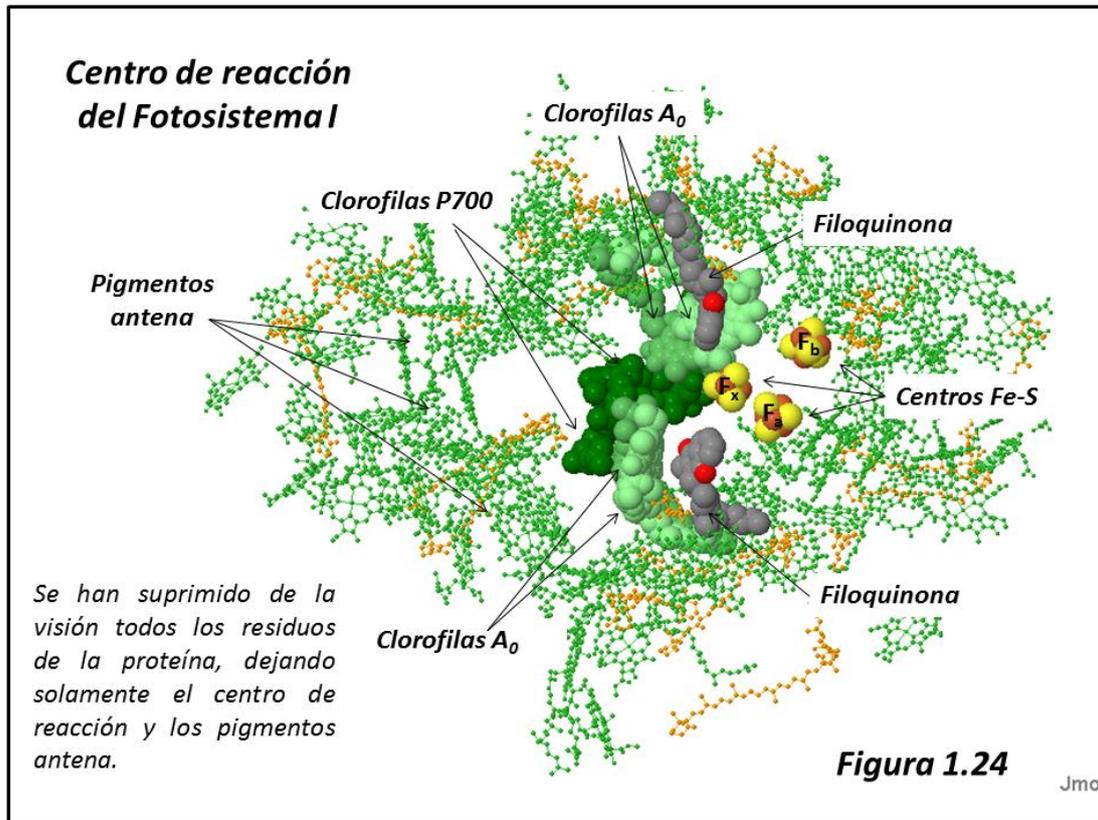
Fotosistema I

Aparece como un complejo trimérico formando parte integral de la membrana del tilacoide, formado por tres protómeros idénticos de 12 subunidades cada uno (figura 1.22).



El centro de reacción P700 está situado en la subunidad B (figuras 1.23 y 1.24).

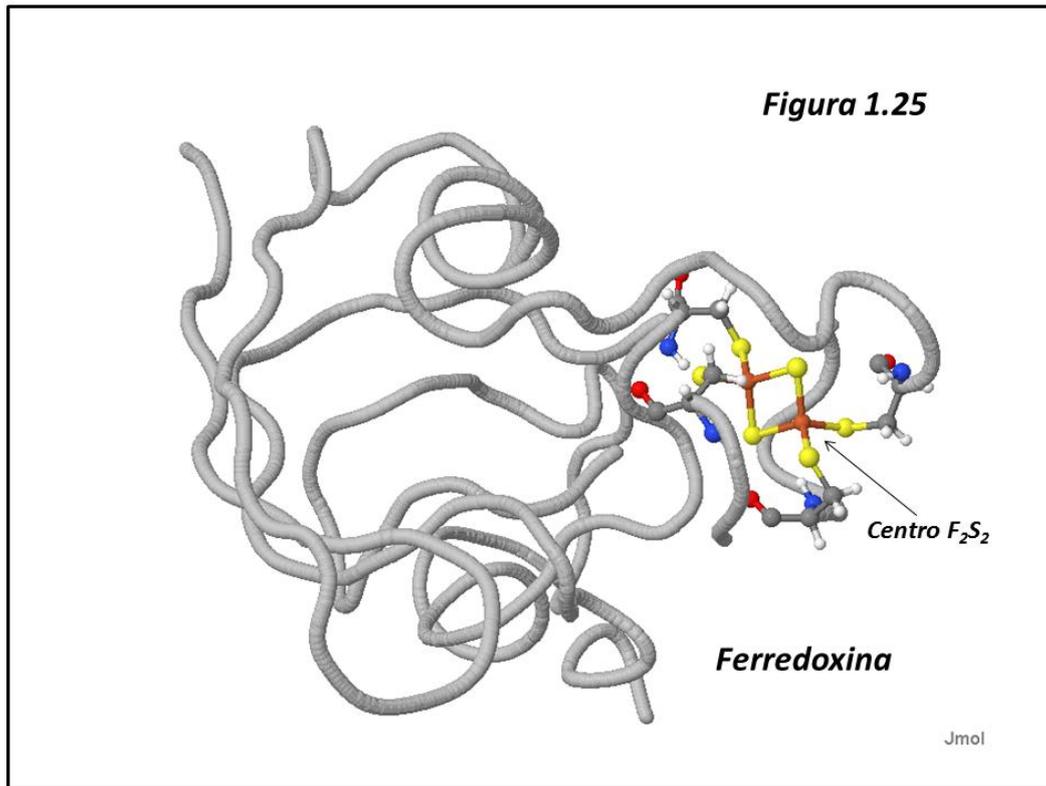




Este centro está rodeado de pigmentos antena que se distribuyen por toda la estructura del complejo. Se muestra en la **figura 1.24** la situación de las **clorofilas P700**, las clorofilas auxiliares **A0** y **A1** y dos moléculas de **filoquinona**, una quinona del grupo de las vitaminas K. Asimismo están los tres **centros Fe₄S₄** del fotosistema.

Ferredoxina

Se trata de una proteína pequeña (96 aminoácidos) que aparece muy ampliamente distribuida en todos los seres vivos, operando como transportador redox en multitud de reacciones. En el cloroplasto se localiza fundamentalmente en el estroma. Contiene un centro Fe₂S₂ que es el que participa en el transporte electrónico (**figura 1.25**).



1.2.2.10 Las reacciones oscuras

Las reacciones oscuras de la fotosíntesis son las que incorporan el dióxido de carbono CO_2 a compuestos orgánicos. Como ya se ha señalado anteriormente, el nombre de reacciones oscuras meramente significa que no necesitan luz solar para llevarse a cabo. Ahora bien, dado que la organificación de CO_2 a compuestos como la glucosa es un proceso altamente endergónico:



Las reacciones oscuras dependen enteramente de un suministro abundante de ATP y NADPH, que proceden, como hemos visto, de las reacciones lumínicas de la fotosíntesis.

En realidad, la capacidad de organificación de CO_2 no es, ni mucho menos, exclusiva de las células fotosintéticas. Multitud de reacciones metabólicas en heterótrofos cursan con **carboxilaciones**, dependientes generalmente de los cofactores **biotina** y **ATP**, de modo que es perfectamente posible transferir un marcaje (con ^{14}C , por ejemplo) desde el CO_2 a biomoléculas en general. Lo que sí es exclusivo de la fotosíntesis es la síntesis **directa** de glucosa a partir de CO_2 . Pero en esta vía encontraremos enzimas que forman parte de rutas metabólicas perfectamente operativas en heterótrofos, como la ruta pentosa-fosfato o la neoglucogénesis (ver cap. 4); aunque también hay enzimas propias del proceso de asimilación fotosintética de CO_2 . Las reacciones de asimilación forman una ruta metabólica que conocemos con el nombre de Ciclo de Calvin.

El Ciclo de Calvin

La **figura 1.26** presenta las reacciones de la fase oscura de la fotosíntesis. En este esquema, conocido como **Ciclo de Calvin** por su descubridor, se presenta una estequiometría mediante

3. De las **seis** moléculas de gliceraldehido-3-fosfato, **una** se destina a la síntesis de glucosa; las otras **cinco**, mediante las correspondientes interconversiones, dan lugar a **tres** moléculas de ribulosa-5-fosfato. Estas tres moléculas son fosforiladas por la **fosforribulokinasa (EC 2.7.1.19)** a expensas de tres moléculas de ATP, dando lugar a **tres** nuevas moléculas de ribulosa 1,5-bisfosfato, que están en condiciones de iniciar nuevamente el ciclo.

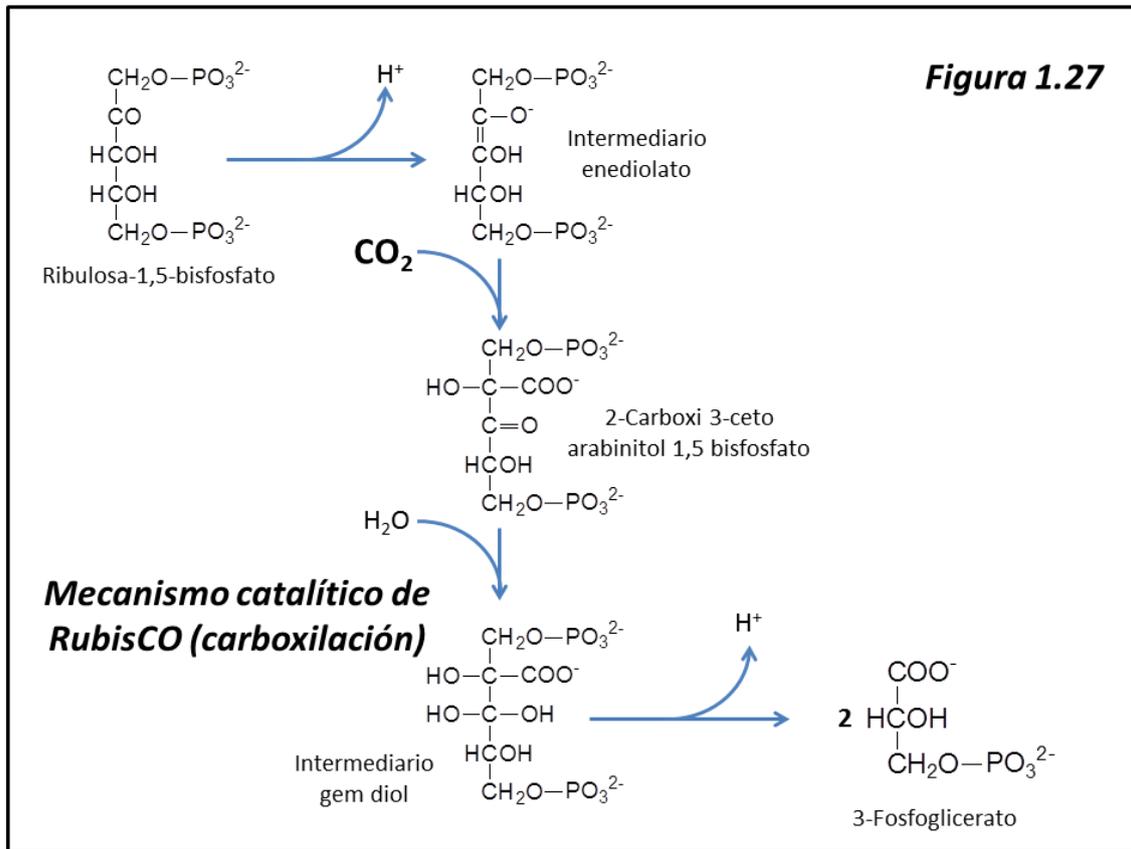
4. En las interconversiones participan enzimas glucolíticas como la **aldolasa (EC 4.1.2.13)**, enzimas de la vía pentosa fosfato como **transcetolasa (EC 2.2.1.1)**, **ribulosa-1-fosfato epimerasa (EC 5.1.3.1)** y **ribulosa-5-fosfato isomerasa (EC 5.3.1.6)**, además de enzimas propias del ciclo de Calvin: las ya mencionadas **RubisCO** y **fosforribulokinasa** más la **sedoheptulosa-bisfosfato fosfatasa (EC 3.1.3.37)**.

La síntesis neta de una molécula de gliceraldehido-3-fosfato requiere, pues, 9 moléculas de ATP y 6 de NADPH, que son suministradas por las reacciones lumínicas de la fotosíntesis. Para la síntesis de una molécula de glucosa se necesitan dos moléculas de gliceraldehido-3-fosfato, sin necesidad ulterior de ATP o NADPH. En ese caso, la síntesis de una molécula de glucosa supondría el gasto de 18 ATP y 12 NADPH.

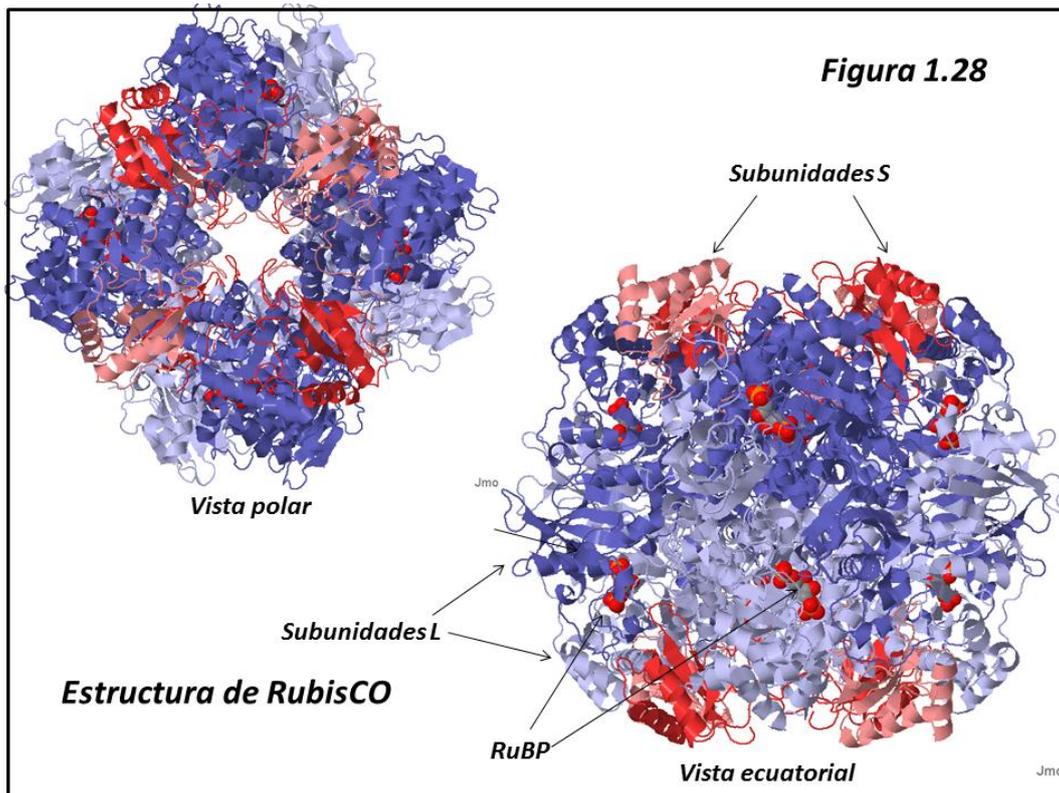
Ribulosa 1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa (EC 2.1.1.127), RubisCO

Con toda probabilidad, es la enzima más abundante de toda la biosfera. Una de las razones de su abundancia es su baja eficiencia catalítica ($k_{\text{cat}} 3 \text{ s}^{-1}$), que hace de ella también una de las enzimas más lentas de la biosfera (compárese, por ejemplo, con la catalasa, EC 1.11.1.6, con k_{cat} de 10^8 s^{-1}), con lo cual la fase oscura de la fotosíntesis requiere grandes cantidades de esta enzima.

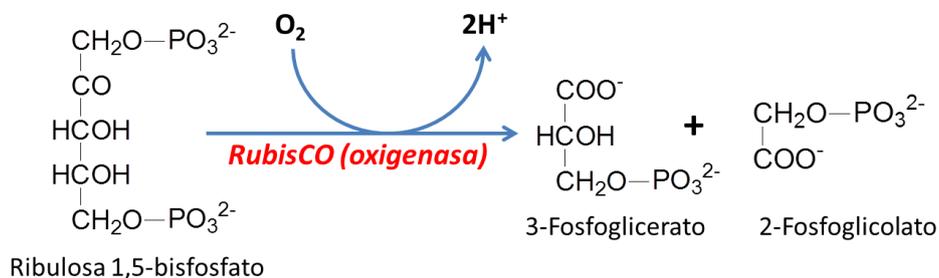
Según hemos visto, cataliza la carboxilación de ribulosa 1,5 bisfosfato dando dos moléculas de 3-fosfoglicerato. Es una reacción compleja con numerosos intermediarios, según se puede apreciar en la **figura 1.27**.



Consta de 16 subunidades, 8 de tipo L (*large*, grandes) y otras 8 de tipo S (*small*, pequeñas). Su estructura se presenta en la [figura 1.28](#). Las subunidades L (en azul claro y azul oscuro) se disponen formando un anillo; las subunidades S se sitúan de cuatro en cuatro en ambos extremos del mismo (rojo claro y rojo oscuro en la figura). Las subunidades L poseen cada una un sitio catalítico.



Además de la reacción de carboxilación que hemos visto, RubisCO puede catalizar una reacción de tipo oxigenásico, lo cual ocurre en condiciones de elevada presión parcial de oxígeno O_2 y baja de CO_2 :



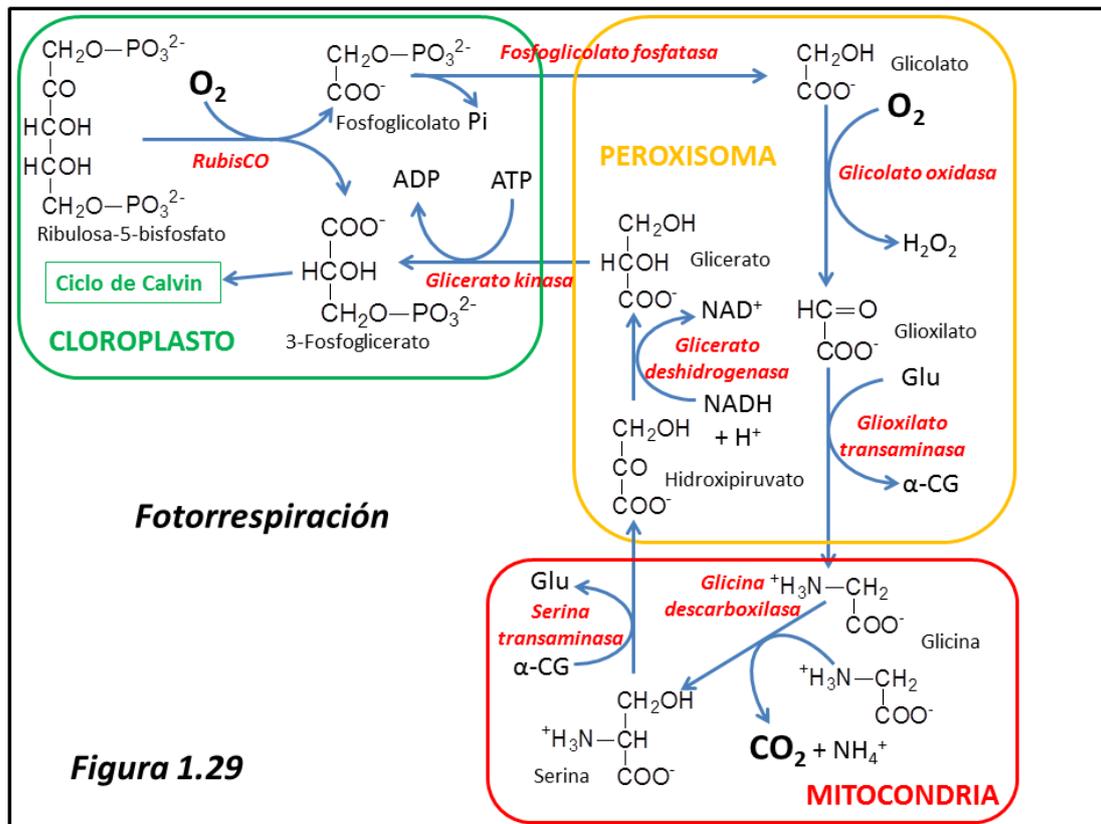
Esta reacción tiene lugar en condiciones de **fotorrespiración**, y supone una disminución en la eficiencia de la asimilación fotosintética de CO_2 , como veremos.

Por otra parte, RubisCO es una enzima que aparece prácticamente en todos los organismos autótrofos, sean fotosintetizadores o quimiosintetizadores. Como tal, es un paso clave en la producción primaria de materia orgánica dentro del ciclo del carbono.

1.2.2.11 Fotorrespiración

En condiciones de alta presión parcial de O_2 y baja de CO_2 RubisCO opera como oxigenasa, escindiendo la molécula de ribulosa 1,5-bisfosfato en 3-fosfoglicerato y 2-fosfoglicolato a expensas de oxígeno molecular O_2 . La molécula de 3-fosfoglicerato entra normalmente en el ciclo de Calvin pero el metabolismo del 2-fosfoglicolato exige una vía alternativa que se presenta en la [figura 1.29](#). Este proceso recibe el nombre de **fotorrespiración**, y como ya se

adelantó, no debe ser confundido con la respiración aeróbica normal que tiene lugar en la mitocondria.



El metabolismo del 2-fosfoglicolato implica una serie de reacciones que tienen lugar en el peroxisoma y en la mitocondria de la célula vegetal. Tras ser atacado por una **fosfoglicolato fosfatasa** (EC 3.1.3.18), el glicolato formado es oxidado en el peroxisoma por una **glicolato oxidasa** (EC 1.1.3.15) que consume oxígeno, a glioxilato. Por acción de una **glioxilato transaminasa** (EC 2.6.1.4) éste se transforma en el aminoácido glicina. Junto con otra molécula de glicina, a través del **sistema degradativo de glicina** (EC 1.4.4.2, EC 2.1.2.10 y EC 1.8.1.4, ver capítulo 8) rinden serina, CO_2 y NH_4^+ . Estas reacciones tienen lugar en la mitocondria. También allí la serina da lugar a hidroxipiruvato por transaminación (EC 2.6.1.45), que es reducido (nuevamente en el peroxisoma) a glicerato mediante una **glicerato deshidrogenasa** (EC 1.1.1.29) que consume NADH. El glicerato pasa al cloroplasto donde es fosforilado por una **glicerato kinasa** (EC 2.7.1.31) que da lugar a 3-fosfoglicerato, el cual entra en el ciclo de Calvin.

Podemos apreciar que el proceso de fotorrespiración (a) consume O_2 ; (b) produce CO_2 y NH_4^+ ; (c) consume NADH (d) requiere dos moléculas de glicina, con lo cual se requiere una adicional de 3-fosfoglicerato, y (e) consume ATP. Por tanto, en cierto modo la fotorrespiración contrarresta la fotosíntesis y es un proceso que se debe evitar en las plantas (a propósito de esto y de su lentitud catalítica, se dice que RubisCO, además de ser la enzima más abundante de la Naturaleza, es asimismo la más incompetente).

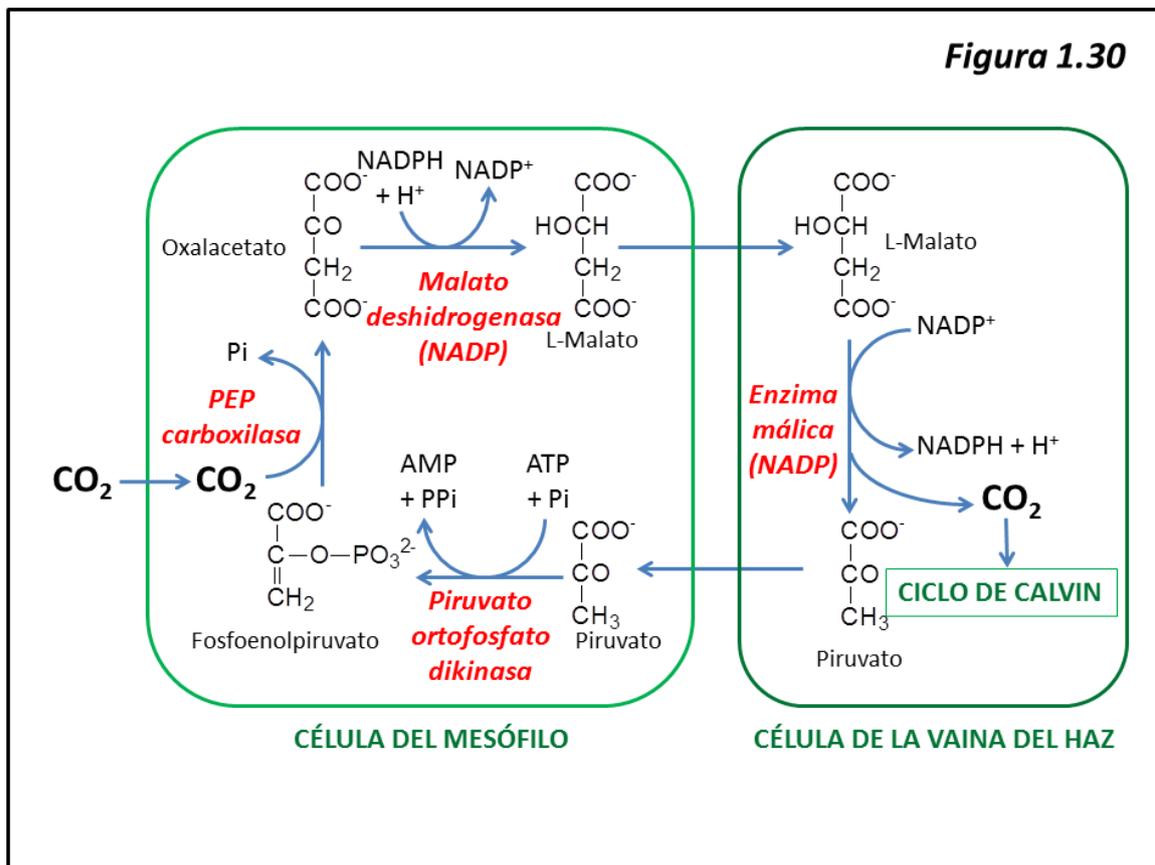
El proceso de fotorrespiración es particularmente importante en las plantas tropicales. Algunas evitan este proceso utilizando una vía alternativa de fijación de CO_2 , que es la llamada **fijación C4** (a diferencia del proceso normal, que recibe el nombre de fijación C3).

1.2.2.12 La fijación C4

Algunas plantas han desarrollado una forma alternativa de asimilación de CO₂, la fijación C4, para evitar la fotorrespiración. Se trata sobre todo de especies tropicales, aunque también hay plantas de gran interés económico que han desarrollado fijación C4, como el maíz, la caña de azúcar y el sorgo.

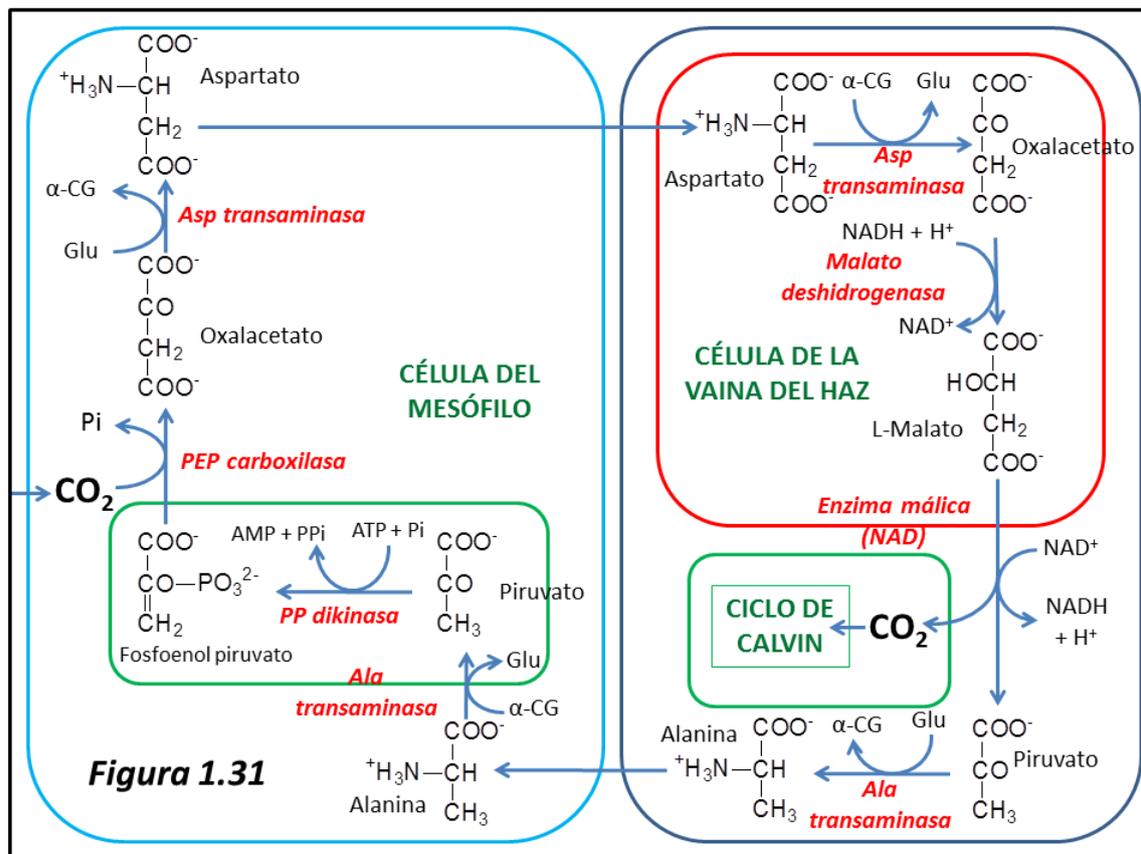
El proceso normal de fotosíntesis tiene lugar en las **células del mesófilo** de las hojas, que están comunicadas con el exterior a través de los **estomas**, por donde entra el CO₂ y sale el O₂. Por debajo de estas células, y rodeando al sistema vascular de la hoja, se encuentran las **células de la vaina del haz**. En las plantas C3 éstas no llevan a cabo prácticamente ninguna fijación fotosintética, pero en las plantas C4 el principal contingente de fotosíntesis tiene lugar en estas células, que al estar situadas más profundamente, están menos expuestas a presiones parciales elevadas de oxígeno, minimizando así la fotorrespiración. El papel de las células del mesófilo es concentrar CO₂ para que pueda ser liberado a las células de la vaina del haz.

Una forma de fijación C4 se presenta en la **figura 1.30**.



El CO₂ entrante se combina con un compuesto de alta energía de hidrólisis, fosfoenolpiruvato (3 átomos de carbono), para dar oxalacetato (cuatro átomos de carbono), en una reacción catalizada por la **fosfoenolpiruvato carboxilasa (EC 4.1.1.31)**. Oxalacetato es reducido a L-malato por la **malato deshidrogenasa (EC 1.1.1.37)**. L-malato es entonces transportado a las células de la vaina del haz, donde la **enzima málica (NADP⁺) (EC 1.1.1.40)** produce piruvato (C3) liberando al mismo tiempo CO₂, que entra en el ciclo de Calvin. El piruvato así formado vuelve a la célula del mesófilo donde por acción de la **piruvato ortofosfato dikinasa (EC 2.7.9.1)** produce fosfoenolpiruvato a partir de ATP, lo cual cierra el ciclo C4. Se puede apreciar que esta forma de asimilación requiere un ATP adicional respecto a la fijación C3 normal.

Otra variedad de fijación C4 aparece en la **figura 1.31**. El CO₂ entrante se combina con fosfoenolpiruvato por acción de la **fosfoenolpiruvato carboxilasa (EC 4.1.1.31)**, como en el caso anterior. El oxalacetato así formado transamina con α-cetoglutarato para dar aspartato (C4) mediante la **aspartato transaminasa (EC 2.6.1.1)**. Aspartato es transportado a las células de la vaina del haz. En sus mitocondrias la acción de la misma transaminasa da lugar a oxalacetato, que es reducido a L-malato por la **malato deshidrogenasa (EC 1.1.1.37)**. L-malato libera CO₂ por acción de la **enzima málica (NAD⁺) (EC 1.1.1.39)**, dando lugar a piruvato y CO₂ que entra en el ciclo de Calvin. Piruvato es transaminado a alanina por la **alanina transaminasa (EC 2.6.1.2)**. Alanina se transporta a la célula del mesófilo donde da lugar a piruvato gracias a la misma enzima y éste produce fosfoenolpiruvato a expensas de ATP por acción de la **piruvato ortofosfato dikinasa (EC 2.7.9.1)**, con lo cual se cierra el ciclo.



De esta forma el CO₂ se concentra en las células de la vaina del haz, evitando la alta presión parcial de oxígeno presente en las células del mesófilo, lo que favorecería la fotorrespiración.

1.3 El Ciclo del Nitrógeno

1.3.1 Generalidades

El nitrógeno es un elemento tan importante como el carbono para los seres vivos. Es un componente indispensable en proteínas y ácidos nucleicos y una multiplicidad de biomoléculas vitales, como la clorofila. El nitrógeno es el elemento más abundante en la atmósfera, donde aparece en forma de dinitrógeno N_2 ; también aparece en grandes cantidades en la litosfera, aunque al parecer este nitrógeno no entra en el ciclo propiamente dicho; es importante también su presencia en el suelo y en la hidrosfera.

El ciclo del nitrógeno consiste en la serie de transformaciones y flujos que este elemento presenta entre la biosfera, la atmósfera, el suelo y el océano. En dicho ciclo los procariontes, Bacterias y Arqueas, tienen un papel predominante.

Una descripción sucinta del mismo podría ser la siguiente (figura 1.32):

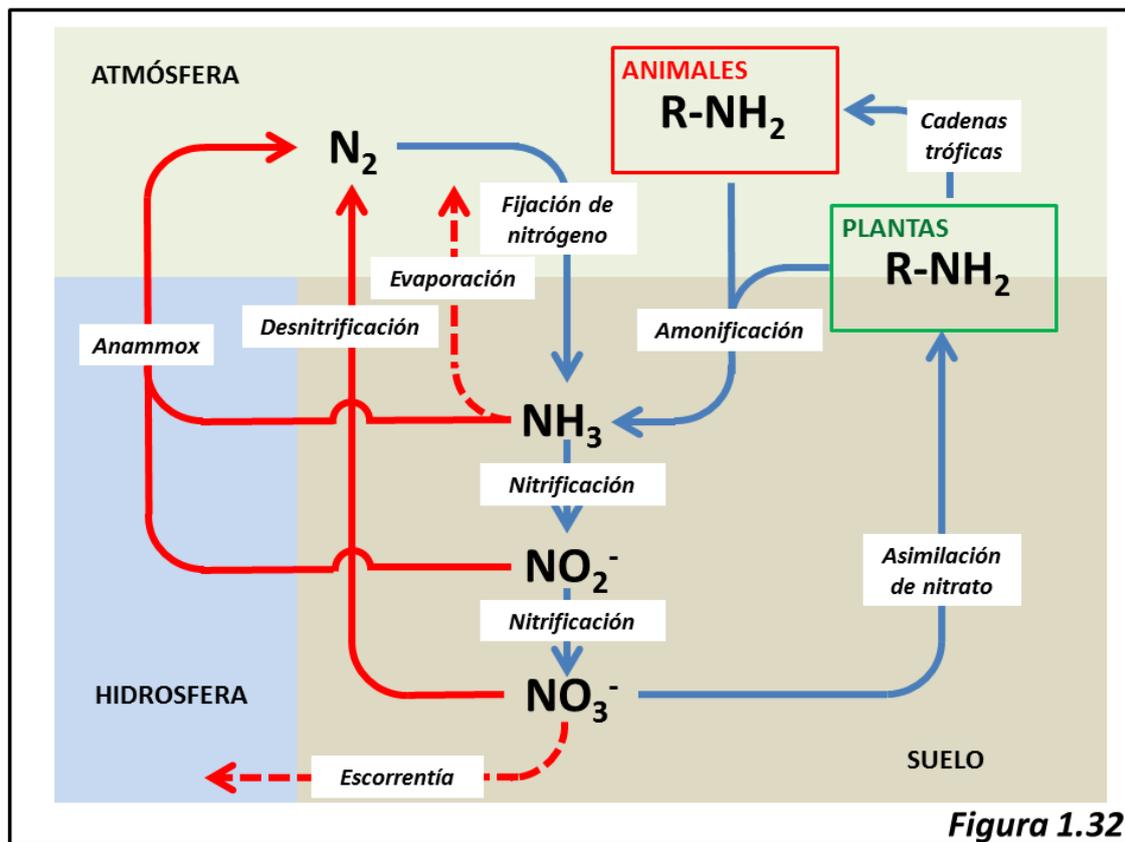


Figura 1.32

El nitrógeno procedente de la materia viva en descomposición (animal, vegetal, fúngica, etc.) junto con el nitrógeno excretado normalmente por los animales, pasa al suelo donde es transformado en amoníaco en el proceso llamado **amonificación**. Aunque el amoníaco puede ser directamente asimilado por la materia viviente, es oxidado primero a nitritos (NO_2^-) y luego a nitratos (NO_3^-) por bacterias que viven en el suelo, las **bacterias nitrificantes**, en el proceso conocido como **nitrificación**, que fija el nitrógeno al suelo (el amoníaco es volátil). Las plantas

verdes asimilan directamente el nitrato transformándolo en amoníaco (o en general, compuestos amínicos) que incorporan a biomoléculas nitrogenadas a través de los procesos catalizados por la **nitrato reductasa** y **nitrito reductasa** (ver sección 1.3.3). A través de las cadenas tróficas este nitrógeno organificado pasa a los animales, cuyo metabolismo termina por excretar el nitrógeno en diversas formas como urea, alantoína, ácido úrico, amoníaco, etc. con lo cual se completa el ciclo.

Hay tres pérdidas materiales importantes en este ciclo. Una depende de la **volatilidad del amoníaco**, que pasa por evaporación a la atmósfera, donde por acción de la radiación solar se transforma en diversos óxidos de nitrógeno (NO₂, NO, N₂O, etc.) que escapan del ciclo (siendo algunos de ellos importantes para el efecto invernadero), aunque también hay una producción significativa de nitrato (NO₃⁻) debida a la acción de las descargas eléctricas, y que puede ser directamente asimilado por las plantas. Otra pérdida significativa tiene lugar a través del proceso de **desnitrificación**, consistente en la producción de dinitrógeno N₂ a partir de nitratos y que llevan a cabo las **bacterias desnitrificantes**, las cuales obtienen su energía utilizando como oxidante nitrato en lugar de oxígeno. Desde hace algunos años se concede una importancia creciente en la desnitrificación al proceso de **Oxidación Anaeróbica de Amoníaco** (*Anaerobic Ammonia Oxidation*, **Anammox**), que tiene lugar principalmente en el océano. Otra pérdida adicional se debe al arrastre de nitratos solubles por las aguas superficiales o subterráneas (**escorrentía**).

El flujo material de nitrógeno llegaría a detenerse debido a estas pérdidas de no ser por la existencia del proceso de **Fijación de Nitrógeno**, consistente en la reducción del dinitrógeno atmosférico N₂ a amoníaco NH₃ que llevan a cabo las **Bacterias Fijadoras de Nitrógeno**. En cierto sentido, éste es el proceso clave en el ciclo del nitrógeno, del cual depende todo lo demás.

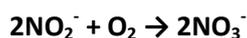
1.3.2 Amonificación y Nitrificación

El nitrógeno procedente de las excreciones de animales (en forma de urea, ácido úrico, alantoína, etc.), junto con el procedente de materia orgánica en descomposición (en forma de aminoácidos y otros compuestos nitrogenados), es transformado a amoníaco por bacterias y hongos presentes en el suelo o en el mar, en el proceso que llamamos **amonificación**. Éste es un proceso aeróbico que llevan a cabo todos los microorganismos implicados en la descomposición de materia orgánica. Dependiendo del pH del medio, se forma ion amonio NH₄⁺ o amoníaco NH₃.

El amoníaco así formado puede ser asimilado directamente por la práctica totalidad de los seres vivos. Ahora bien, dada la volatilidad del mismo (o en algunos casos, toxicidad), que permitiría pérdidas importantes de nitrógeno, el ciclo del nitrógeno continúa con la oxidación de este amoníaco primero a nitritos (por bacterias del tipo *Nitrosomonas*, *Nitrococcus*) y éstos a nitratos (por bacterias del tipo *Nitrobacter*) en el proceso que recibe el nombre de **nitrificación** (o también **mineralización**).

Las bacterias nitrificantes son quimioautótrofas (y de crecimiento muy lento), que obtienen su energía a partir de la oxidación aeróbica del amoníaco con la reducción concomitante de CO₂ a compuestos orgánicos. Las reacciones implicadas son:





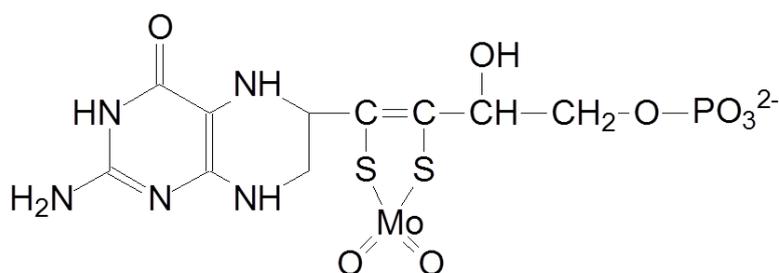
Una cantidad apreciable de nitrato procede de la oxidación del dinitrógeno N_2 en la alta atmósfera por la radiación solar y asimismo por efecto de las descargas eléctricas en las tormentas.

1.3.3 Asimilación de nitritos y nitratos

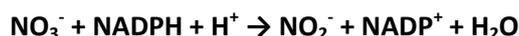
La práctica totalidad de las plantas verdes y algas son capaces de organificar nitratos mediante su reducción a amoníaco y a otros compuestos amínicos. El proceso de asimilación comprende dos fases: (1) Reducción de nitrato a nitrito, proceso catalizado por la **nitrato reductasa**, y (2) reducción de nitrito a amoníaco, cuya enzima es la **nitrito reductasa**.

1.3.3.1 Nitrato reductasa

Las nitrato reductasas (NR; EC 1.7.1.1-3) dependientes de NAD(P)H son enzimas que contienen molibdeno (característica que comparten con la nitrogenasa, ver más adelante) se encuentran en todos los organismos eucarióticos que asimilan nitrato (plantas verdes y algas) y en algunas cianobacterias. La nitrato reductasa es un homodímero de aproximadamente 100 kDa que presenta una serie de dominios estables a lo largo de su secuencia, cada uno de ellos encargado de la fijación de un cofactor. Estos dominios son: (a) Región ácida N-terminal; (b) dominio de fijación del cofactor **Molibdeno-molibdopterina** (Mo-MPT) conteniendo el sitio activo de reducción del nitrato; (c) dominio interfase; (d) dominio bisagra 1 que presenta una serina fosforilable a efectos de regulación; (e) dominio del **citocromo b-557**; (f) dominio bisagra 2; (g) dominio de fijación de **FAD**; (h) dominio de fijación de **NAD(P)H**. Hasta el momento sólo se dispone de estructuras tridimensionales parciales de la enzima, aunque se han construido modelos en los que se aprecia la similitud de esta enzima con las sulfito oxidasas. La estructura del cofactor Mo-MPT es la siguiente:



La reacción global catalizada por la nitrato reductasa es:

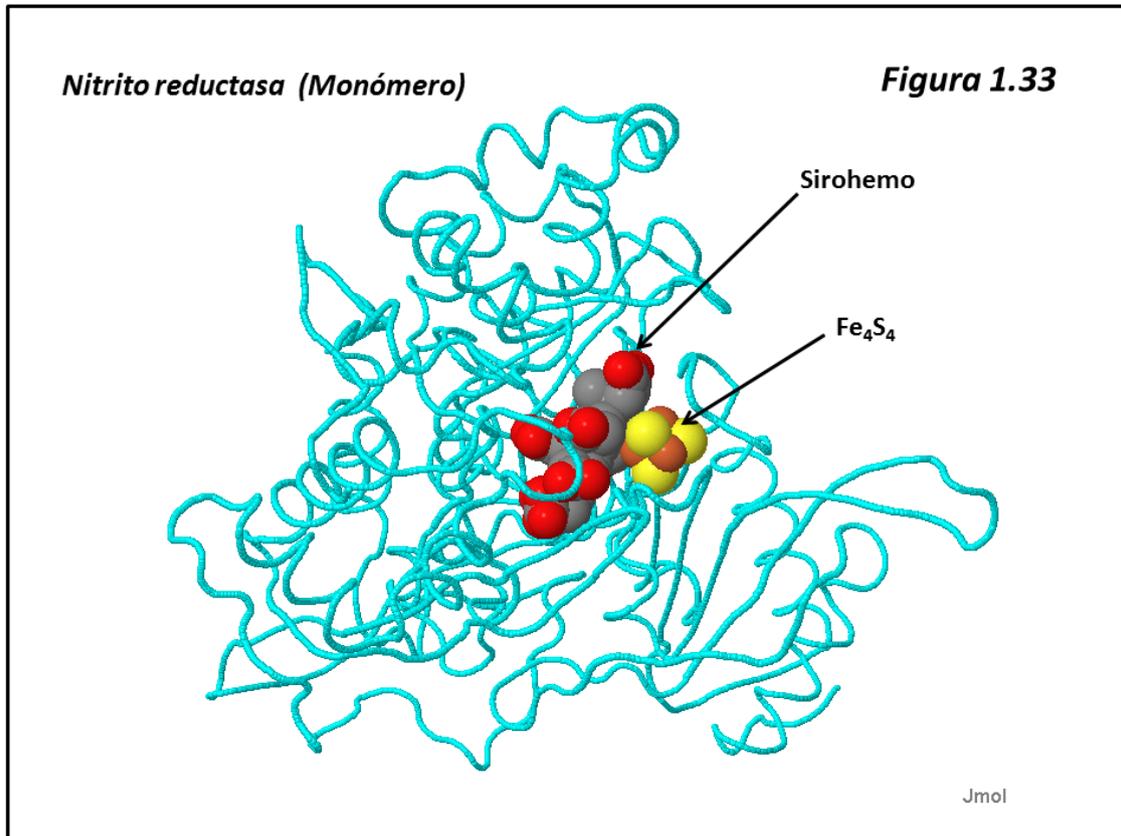


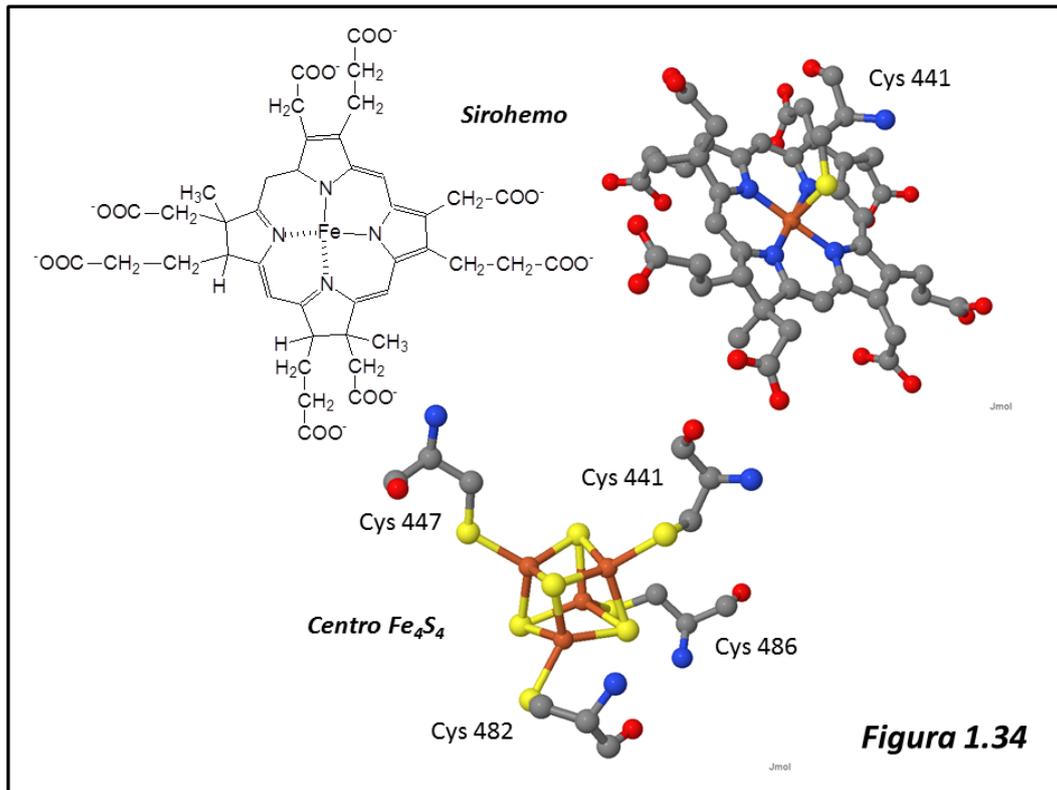
y el flujo electrónico (transferencia de dos electrones) es el siguiente:



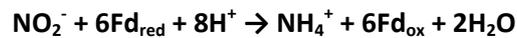
1.3.3.2 Nitrito reductasa

La nitrito reductasa (EC 1.7.7.1) cataliza la reducción de nitrito a amoníaco utilizando ferredoxina reducida (Fd_{red}) como dador electrónico. Las nitrito reductasas de plantas, algas y cianobacterias son monoméricas (P.M. 63 kDa) y contienen como cofactores un **centro Fe_4S_4** y un **sirohemio** (figura 1.33). Éste es una uroporfirina III modificada de tal manera que dos de los anillos pirrólicos aparecen reducidos (figura 1.34), y conteniendo un ion de hierro.

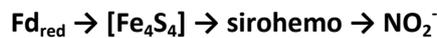




La reacción consiste en la cesión de seis electrones desde la ferredoxina reducida al ion nitrito, según la siguiente reacción global:



y en la que el flujo electrónico es



1.3.4 La fijación de nitrógeno

1.3.4.1 Introducción

Todos los seres vivos pueden asimilar (esto es, incorporar a biomoléculas) el amoníaco NH_3 . Por su parte, todas las plantas verdes y algunas bacterias son capaces de asimilar los iones nitrato (NO_3^-) y nitrito (NO_2^-) mediante su reducción a amoníaco. Ahora bien, el gran reservorio natural de nitrógeno es la atmósfera, en la que el gas dinitrógeno (N_2) es el componente mayoritario (70 %). La reducción del dinitrógeno a amoníaco, proceso que conocemos como **fijación de nitrógeno**, sólo puede ser llevada a cabo por un número muy reducido de especies, todas ellas bacterianas. Algunas son de vida libre en el suelo, como *Agrobacterium*, *Azotobacter*, *Klebsiella* y *Clostridium*; algunas son cianobacterias que viven en el océano, como *Trichodesmium*; y otras viven en simbiosis en los nódulos radiculares de las leguminosas, como *Rhizobium* y *Bradyrhizobium*.

La importancia de este proceso no puede ser en modo alguno minimizada, porque toda la vida sobre la Tierra depende del proceso de fijación de nitrógeno llevado a cabo por estos microorganismos. El nitrógeno excretado o eliminado del metabolismo de los seres vivos puede

tomar diversas formas (urea, ácido úrico, alantoína, amoníaco, etc.) que en último término darán lugar a amoníaco, el cual será oxidado en el suelo por las bacterias nitrificantes a nitratos y nitritos. Pero dada la volatilidad del amoníaco (que en la alta atmósfera es descompuesto por la radiación solar), la solubilidad del nitrato, y la actividad de las bacterias desnitrificantes, que utilizan el ion nitrato como oxidante reduciéndolo a dinitrógeno, la cantidad total de nitrógeno organificable (nitratos, nitritos) u organificado (amoníaco o compuestos amínicos) iría progresivamente en disminución de no ser por la reposición que supone la fijación de nitrógeno. Por tanto, podemos decir que la totalidad del ciclo del nitrógeno (y por tanto, la vida sobre la Tierra) depende de un número muy limitado de especies bacterianas fijadoras de nitrógeno.

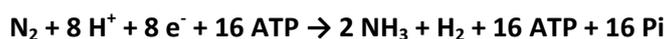
La radiación solar en la alta atmósfera es asimismo capaz de fijar cantidades relativamente pequeñas de nitrógeno mediante su oxidación a nitrato, que es una forma directamente organificable por las plantas verdes.

La actividad industrial humana lleva también a cabo una fijación artificial de nitrógeno gracias al llamado **Proceso Haber**, desarrollado en Alemania entre 1910 y 1914 por el químico **Fritz Haber**. Consiste en la síntesis de amoníaco NH_3 , a partir del nitrógeno atmosférico N_2 y del hidrógeno H_2 , sometiendo la mezcla de gases a temperatura y presión elevadas en presencia de catalizadores para dar amoníaco NH_3 . Este amoníaco se emplea en su mayor parte en la preparación de fertilizantes, dado que el nitrógeno siempre suele ser un elemento limitante en la producción agrícola. Hoy día la cantidad de nitrógeno fijado por este procedimiento llega prácticamente a igualar la cantidad fijada de manera natural por las bacterias. Las consecuencias ecológicas de esta fijación artificial están todavía por evaluar. Pero lo que sí sabemos es que el proceso Haber consume una gran cantidad de energía y su eficiencia es relativamente baja (en comparación con el proceso biológico); por lo que la investigación sobre la fijación de nitrógeno es un campo muy activo. Esta investigación se dirige esencialmente en dos sentidos: por una parte, el conocimiento químico detallado del proceso biológico; por otra, la genética del mismo, en un intento por caracterizar los genes responsables de la fijación de nitrógeno y su eventual transmisión o incorporación artificial a especies vegetales de significación económica.

1.3.4.2 La nitrogenasa

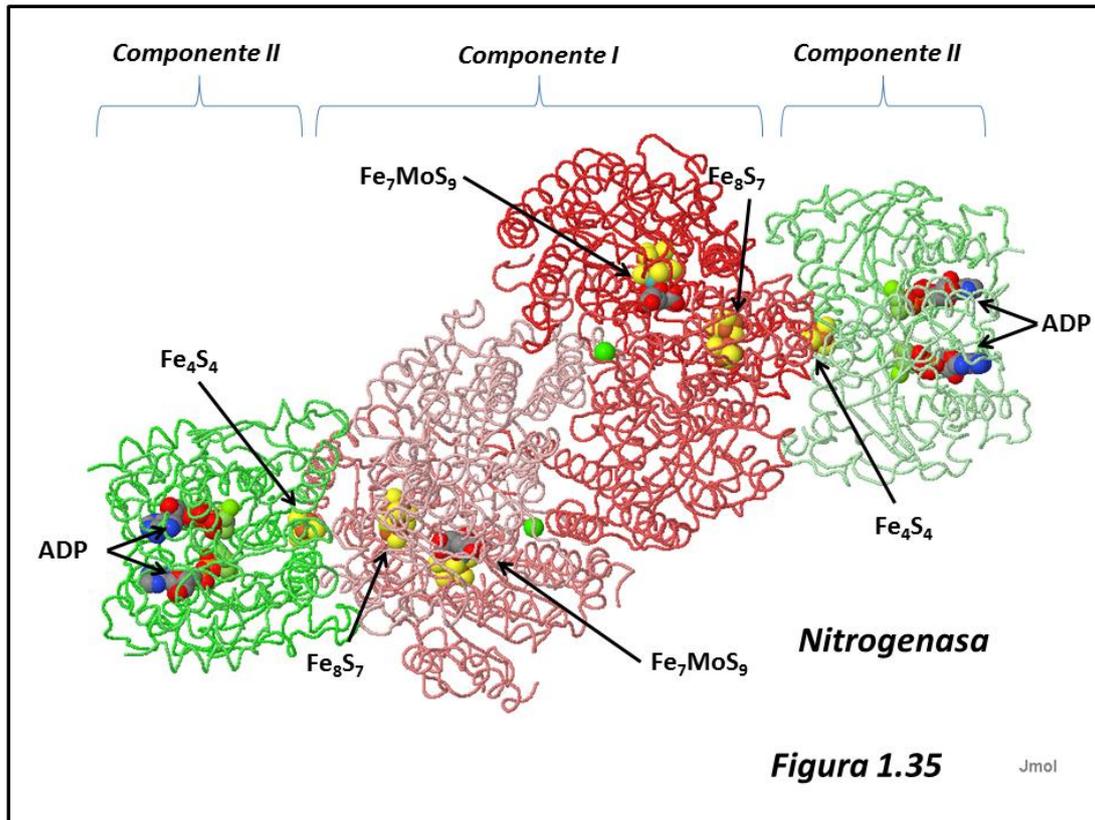
La rotura del triple enlace en la molécula de dinitrógeno y su combinación con hidrógeno para formar amoníaco es un proceso que, aunque tiene una entalpía standard negativa ($-45.2 \text{ kJ mol}^{-1}$) requiere una gran cantidad de energía de activación (420 kJ mol^{-1}) en la reacción no catalizada.

Las especies fijadoras de nitrógeno llevan a cabo este proceso mediante una enzima compleja, la **nitrogenasa**, que de forma global cataliza la siguiente reacción:



En la que vemos las siguientes características: (a) El proceso requiere ocho protones; de éstos, seis irán a formar dos moléculas de amoníaco y los otros dos rinden una molécula de hidrógeno molecular H_2 ; (b) El proceso requiere ocho electrones de muy alto potencial de reducción (o lo que es lo mismo, muy bajo potencial de oxidación), suministrados por **ferredoxina** o **flavodoxina**, seis para la reducción del nitrógeno a amoníaco y los otros dos para la formación de hidrógeno molecular; (c) La energía necesaria se obtiene mediante la hidrólisis de *al menos* 16 moléculas de ATP.

La enzima muestra una gran similitud en todas las especies estudiadas. Conocemos la estructura tridimensional de las de unas cuantas a alta resolución. En la [figura 1.35](#) se presenta el complejo nitrogenasa de *Azotobacter vinelandii*.

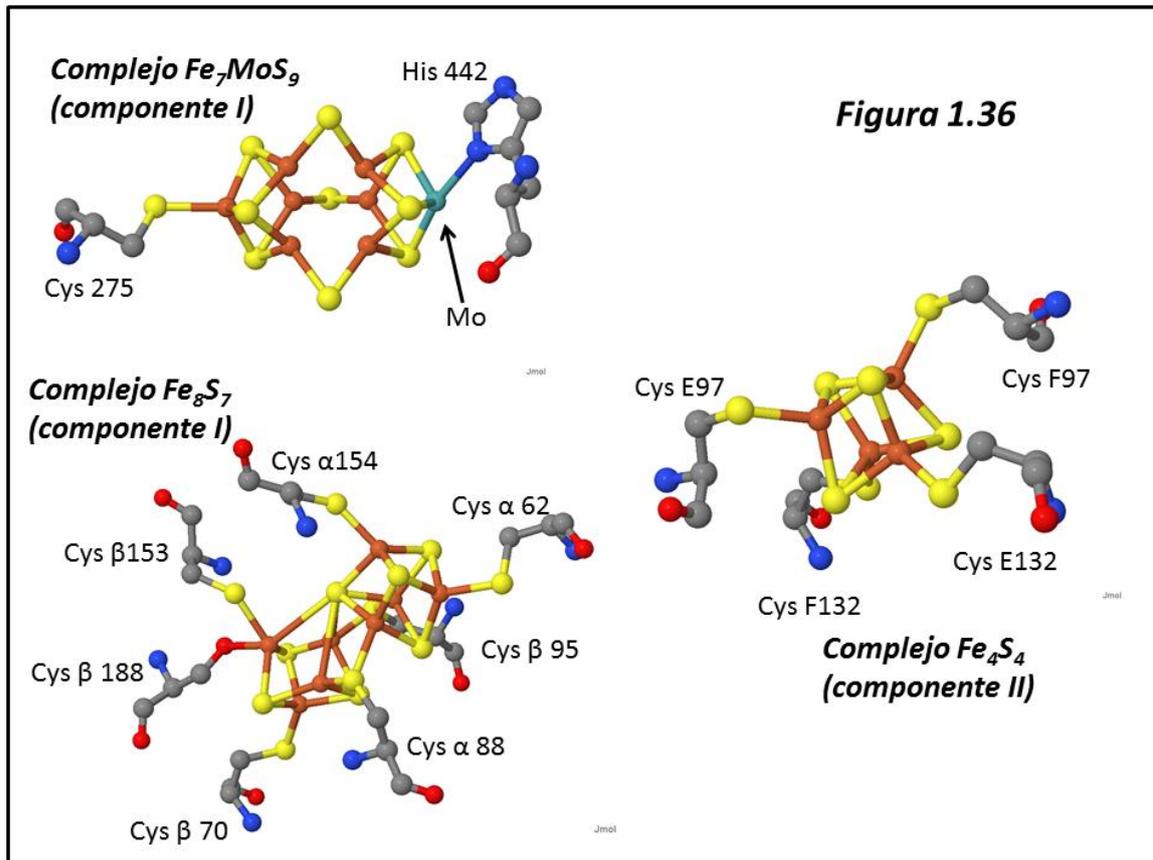


La nitrogenasa consta de dos componentes: (1) proteína Mo-Fe, también llamada componente I o nitrogenasa (propriadamente dicha) y (2) Proteína Fe, componente II o nitrogenasa reductasa.

La proteína Mo-Fe (componente I) es un heterotetrámero $\alpha_2\beta_2$, con cuatro subunidades iguales dos a dos. La subunidad α contiene un centro Fe_7MoS_9 , unido a la cisteína $\alpha 275$ y a la histidina $\alpha 442$. A este centro aparece fijada una molécula de homocitrato. La subunidad β presenta también un centro Fe_8S_7 , unido a las cisteínas $\alpha 62$, $\alpha 88$, $\alpha 154$, $\beta 70$, $\beta 95$, $\beta 153$ y $\beta 188$. El átomo de molibdeno parece ser el sitio activo de la enzima.

La proteína Fe (componente II) es un homodímero, y contiene un solo centro Fe_4S_4 que aparece unido a las cisteínas 97 y 132 de ambas subunidades. El complejo activo contiene dos copias de esta proteína, situadas en ambos extremos del mismo. Esta proteína contiene asimismo un sitio de fijación de nucleótidos de adenina (ADP o ATP).

La estructura de los distintos cofactores se presenta en la [figura 1.36](#).



1.3.4.3 Secuencia de reacciones

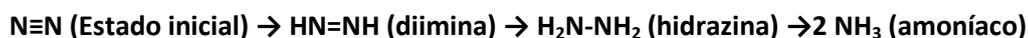
La reducción del triple enlace en la molécula de dinitrógeno requiere electrones con alto potencial de reducción, que normalmente son provistos por una ferredoxina reducida (o a veces, por una flavodoxina). La secuencia de reacciones es en realidad una serie de ocho transferencias monoeléctricas (seis para el nitrógeno y dos para el hidrógeno producido) y es un proceso en el que el oxígeno resulta extremadamente tóxico, por lo que se debe hacer en condiciones estrictamente anaeróbicas. Las bacterias simbióticas en los nódulos radiculares de las leguminosas poseen una proteína que fija oxígeno, la **leghemoglobina**, que tiene una gran similitud con la mioglobina de los vertebrados y que mantiene prácticamente a cero la concentración de oxígeno libre.

El proceso tiene lugar de manera que la nitrogenasa reductasa (componente II, proteína Fe) debe fijar en primer lugar ATP y ser reducida por la ferredoxina, momento en el que se fija al componente I y de esa manera está en condiciones de cederle electrones. Los electrones de la ferredoxina pasan al centro Fe_4S_4 del componente II; cuando éste queda fijado al componente I, los electrones pasan en primer lugar al centro Fe_8S_7 de éste y desde allí al centro Fe_7MoS_9 , al cual se fija la molécula de dinitrógeno y va siendo reducida progresivamente con cada electrón transferido. Esta transferencia requiere la hidrólisis de ATP, de tal manera que cuando dos electrones son transferidos y dos ATP hidrolizados, el componente II se disocia del complejo, de una forma parecida a como operan las proteínas G con la hidrólisis de GTP; al fijar dos nuevas moléculas de ATP, el componente II está en condiciones de transferir nuevamente electrones al componente I.

El flujo electrónico, por tanto, sigue el siguiente camino:



El nitrógeno fijado al complejo Fe_7MoS_9 se va reduciendo progresivamente con cada transferencia electrónica al tiempo que capta protones H^+ con cada transferencia. No se conocen los intermediarios del proceso; presumiblemente éste tiene lugar de la siguiente manera:



1.3.5 Desnitrificación

Algunas bacterias (*Pseudomonas sp.*, *Paracoccus denitrificans*, *Thiobacillus denitrificans*) obtienen energía a partir de la oxidación de nitrato NO_3^- a dinitrógeno N_2 . Estas bacterias contrarrestan la actividad de las fijadoras de nitrógeno, devolviendo este elemento a la atmósfera. La reacción global del proceso de desnitrificación es la siguiente:



y que presumiblemente pasa a través de los siguientes intermediarios, mediante las correspondientes reductasas:

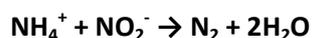


Existen asimismo desnitrificantes capaces de oxidar el amoníaco NH_3 a dinitrógeno N_2 .

El proceso de desnitrificación se utiliza de manera artificial en el tratamiento de aguas residuales para eliminar los nitratos presentes tras los procesos de amonificación y nitrificación. El ion nitrato provoca la **eutrofización** de las aguas, permitiendo un crecimiento desmesurado de algas y otros organismos que comprometen el aporte de oxígeno a otras especies y alterando con ello gravemente la flora y fauna naturales de las aguas. Se trata de un efecto parecido al que presentan los fosfatos como contaminantes ambientales.

1.3.6 Anammox (Oxidación anaeróbica del amonio)

Es un proceso de desnitrificación que produce dinitrógeno N_2 a partir de nitrito NO_2^- y amoníaco NH_3 , y que tiene lugar en condiciones anaeróbicas, fundamentalmente en medios acuáticos bajos en oxígeno, como manglares, lagos de agua dulce y estuarios, y al que se otorga una importancia creciente en el proceso global de desnitrificación. Se lleva a cabo por bacterias del tipo *Planctomycetes*. La reacción que llevan a cabo es



Estas bacterias tienen una serie de características únicas. Su ritmo de crecimiento es muy lento (lo que comparten tanto con las nitrificantes como con las desnitrificantes en general). El proceso se lleva a cabo en un compartimento intracelular rodeado de membrana, el **anammoxosoma**, y en las membranas de estas bacterias hay lípidos anómalos llamados **laderanos**. La reacción produce hidrazina $\text{H}_2\text{N}-\text{NH}_2$ como intermediario.

Este proceso, al igual que la desnitrificación, se utiliza hoy día en el tratamiento de aguas residuales para eliminar amoníaco y nitratos.

1.3.7 Influencia humana en el ciclo del nitrógeno

De la misma manera que vimos en el ciclo del carbono, el papel del hombre *como animal* es mínimo dentro del ciclo global del nitrógeno; se limita a utilizar compuestos amínicos producidos por plantas asimiladoras de nitrato, incorporarlos a sus biomoléculas y excretarlos eventualmente en forma de urea y en menor medida, de ácido úrico. En su metabolismo es posible también la organificación de amoníaco (ver capítulo 7) pero en una medida que globalmente es poco significativa.

Sin embargo, la cultura y civilización humanas han producido procesos que interfieren de forma muy significativa en el ciclo del nitrógeno, con una intensidad incluso mayor que en el ciclo del carbono. El ciclo del nitrógeno pasa por una serie de “cuellos de botella”, como el proceso de fijación de nitrógeno en los que cualquier acción puede tener consecuencias impredecibles. Por otra parte, no existiendo un ciclo lento como el caso del carbono, el ciclo del nitrógeno es mucho más sensible a cualquier interferencia de origen tecnológico.

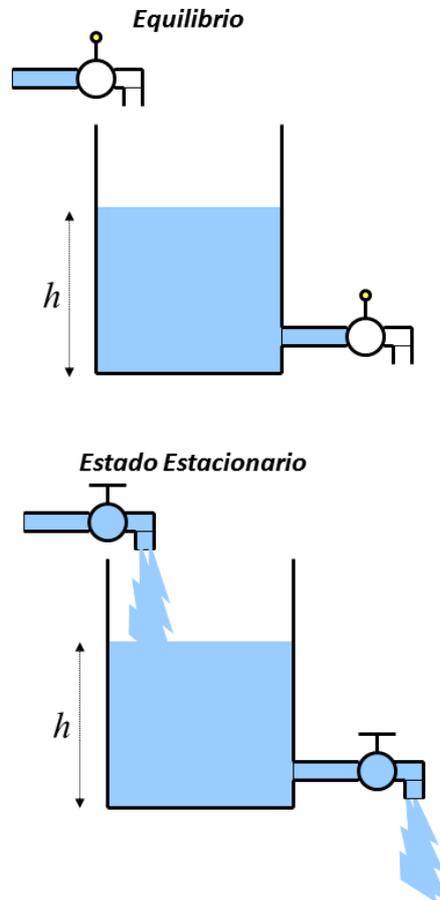
Quizá la alteración antropogénica del ciclo del nitrógeno más importante cuantitativamente es la fijación industrial de dinitrógeno N_2 a amoníaco NH_3 llevada a cabo por el proceso Haber (ver sec. 1.3.4.1), que en el momento actual prácticamente iguala, en términos anuales, a la fijación natural por bacterias. El proceso Haber se emplea para la producción de fertilizantes, esencialmente nitrato amónico $NO_3(NH_4)$, ampliamente empleado por la agricultura. Hasta tal punto es importante este proceso, que hoy día se estima que el 80 % del nitrógeno presente en el organismo humano es de origen industrial.

La adición generalizada de nitratos y de amoníaco al suelo produce una serie de consecuencias importantes. Los nitratos y el amoníaco son solubles en agua y por tanto, arrastrados por las aguas dulces superficiales y profundas, terminando en el océano. En el medio acuático la abundancia de nitrato produce un crecimiento desmesurado de algas (eutrofización) y de otros organismos, como dinoflagelados, que ponen en peligro las cadenas tróficas del medio y por tanto su biodiversidad, dañando el hábitat natural de forma frecuentemente irreversible. El crecimiento de dinoflagelados es responsable de brotes de alta mortalidad en la vida acuática y de contaminación tóxica del medio, que puede llegar a la alimentación humana a través del consumo de peces y mariscos.

Otras consecuencias indeseables de la actividad humana sobre el ciclo del nitrógeno son (a) un incremento de óxido nitroso N_2O , un gas de efecto invernadero, por la quema de combustibles fósiles y la deforestación; (b) pérdida de nutrientes del suelo como calcio y potasio; y (c) acidificación significativa de suelos y aguas.

Por todo ello, se debe tratar de eliminar nitratos, nitritos y amoníaco de las aguas residuales en la mayor medida posible. Los métodos más empleados hasta la fecha son biorreactores a base de bacterias desnitrificantes; y últimamente, está cobrando importancia la desnitrificación mediante bacterias *anammox*. Ahora bien, estos métodos son aplicables directamente a las aguas residuales urbanas; queda el problema, mucho más grave, de las aguas de riego agrícola que aparecen muy contaminadas por el uso indiscriminado de fertilizantes artificiales.

CAPÍTULO 2: Introducción al Metabolismo



2.1 Generalidades

Con el nombre de Metabolismo designamos al conjunto de reacciones químicas que tienen lugar en un ser vivo. Estas reacciones, en su conjunto, no constituyen meramente un fenómeno más dentro de lo que puede caracterizar a dicho ser vivo, sino que son la condición necesaria y suficiente para que podamos decir realmente que *está vivo*. Se estima en unos pocos millares (2000-4000) el número total de reacciones que constituyen el metabolismo; y en una primera aproximación (aunque no exacta del todo) podemos decir que cada una de estas reacciones es posible por estar catalizada por una enzima específica. Cada enzima, a su vez, es una proteína cuya secuencia de aminoácidos viene dictada por la secuencia de nucleótidos del DNA en su correspondiente gen. El metabolismo, por tanto, es un producto del genoma debidamente expresado.

Las reacciones metabólicas no tienen lugar aleatoriamente; todas ellas están concertadas y reguladas. Esta regulación se da tanto en organismos unicelulares como en los pluricelulares, y

se corresponde con las diferentes circunstancias ambientales con las que se puede encontrar el ser viviente a lo largo de su vida. En consecuencia, sabemos que en un momento dado no están teniendo lugar todas las reacciones posibles del metabolismo, sino solamente aquellas que corresponden a la circunstancia ambiental (espacial y temporal) en que se encuentra la célula o el organismo.

2.1.1 Reacciones constitutivas y adaptativas

Dentro de las reacciones metabólicas, distinguimos en principio dos tipos distintos: las **reacciones constitutivas** y las **reacciones adaptativas**. Las primeras son aquellas que tienen lugar de una forma constante y relativamente independiente de las circunstancias ambientales. Por ejemplo, la actividad de la **bomba de sodio** (ver caps. 3 y 10) encargada del mantenimiento de una baja concentración de sodio y alta de potasio en el interior celular. Otro ejemplo sería la **degradación aeróbica de glucosa en el cerebro** de los animales, que independientemente de las circunstancias ha de mantenerse siempre aproximadamente al mismo nivel debido al continuo requerimiento de energía de este órgano.

Las reacciones adaptativas, por el contrario, son aquellas que únicamente tienen lugar ante condiciones ambientales determinadas que se presentan de forma ocasional a lo largo de la vida de un organismo, uni- o pluricelular. Por ejemplo, la **degradación de glucógeno hepático** tiene únicamente lugar cuando el organismo animal requiere un suministro aumentado de glucosa ante circunstancias ocasionales, como serían un **ayuno** prolongado o una reacción ante un peligro potencial (**reacción de lucha o huida**), circunstancias que se presentan ocasionalmente y no de forma continua.

El hecho de que las reacciones metabólicas puedan ser caracterizadas de esta manera (constitutivas o adaptativas) implica que necesariamente han de estar reguladas; regulación que se ejerce tanto al nivel de información genética como de mecanismos enzimáticos específicos (ver Enzimología, caps. 8 y 9). Por lo tanto, en el estudio del metabolismo es absolutamente indispensable conocer las pautas y mecanismos de regulación de las distintas reacciones.

2.1.2 Equilibrio y Estado Estacionario

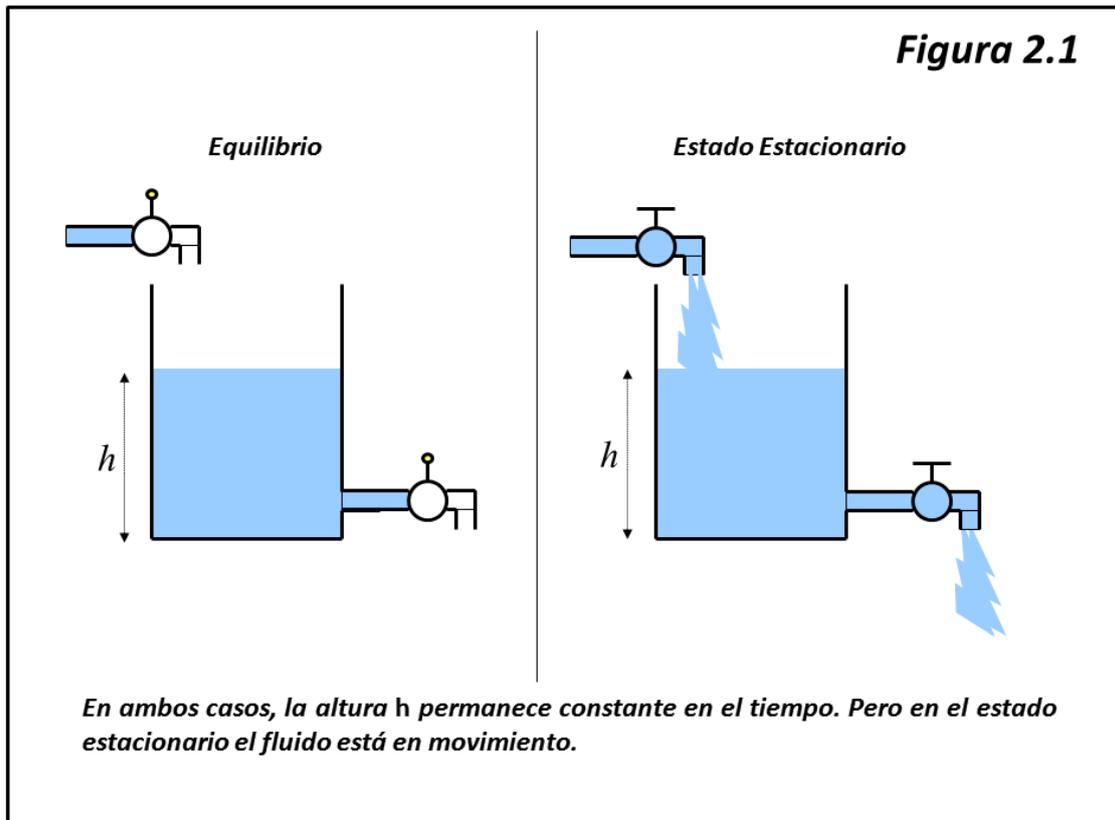
Una reacción química llega al **equilibrio** cuando se igualan las velocidades directa e inversa, de tal manera que las concentraciones de reactivos y productos permanecen constantes. En este momento, para una reacción $A + B \leftrightarrow C + D$ se cumple que

$$K_{eq} = \frac{[C][D]}{[A][B]}$$

siendo K_{eq} la constante de equilibrio de la reacción. Como veremos, el valor de esta constante de equilibrio está relacionado con la **energía libre standard** de la reacción. En el equilibrio, el intercambio de energía libre es igual a cero ($\Delta G = 0$); el sistema considerado ni absorbe ni desprende energía, y no hay flujo material desde o hacia fuera del sistema; se trata de un sistema **cerrado**.

Cuando consideramos un sistema metabólico determinado que está teniendo lugar en un ser vivo (por ejemplo, la **glucólisis** o degradación anaeróbica de glucosa), vemos que la concentración de los diversos intermediarios en la célula permanece constante; sin embargo,

no estamos ante un equilibrio, sino ante un **estado estacionario**. La diferencia entre equilibrio y estado estacionario aparece esquematizada con un símil hidráulico en la **figura 2.1**: en el caso del equilibrio no hay entradas ni salidas del sistema; la altura h del fluido en el recipiente (que representa la concentración de intermediarios) permanece constante. En el caso del estado estacionario dicha altura h permanece asimismo constante, pero esto se debe a que la entrada al sistema iguala a la salida del mismo, estando el fluido en movimiento. El estado estacionario se mantiene espontáneamente debido a que la energía libre del sistema en su conjunto es menor que cero ($\Delta G < 0$); y que hay entradas al sistema y salidas desde el mismo: estamos ante un sistema **abierto**.



El metabolismo, tanto en su conjunto como en las distintas vías consideradas aisladamente, es un estado estacionario, y no un equilibrio. En realidad, el equilibrio termodinámico de un sistema viviente sólo se alcanza con la muerte del mismo. Ahora bien, en el metabolismo algunos pasos intermedios pueden estar en equilibrio, aunque globalmente se trate de un estado estacionario, lo que se ilustra en la **figura 2.2**.

reacción citada, estando A y B a concentraciones respectivas [A] y [B], la energía libre del sistema viene dada por la expresión

$$\Delta G = \Delta G^{0'} + RT \ln \frac{[B]}{[A]}$$

Donde $\Delta G^{0'}$ es la **energía libre standard** del proceso, es decir, la energía libre del sistema con reactivos y productos a concentración unidad, a 273 °K, cuyo valor puede encontrarse en tablas publicadas o calcularse a partir de las energías libres de formación de los reactivos y productos; el signo prima (') alude a que la medición de esta energía libre standard se hace a pH 7. R es la constante universal de los gases y T la temperatura absoluta.

A partir de esta relación, conocidas las concentraciones [A] y [B], estamos en condiciones de calcular la energía libre; si esta es menor que cero la reacción cursará espontáneamente en el sentido A→B; si fuera mayor que cero, el sentido de la reacción espontánea sería B→A. Si fuera igual a cero, la reacción estaría en equilibrio.

Si la reacción llega al equilibrio, se igualan las velocidades directa e inversa de la reacción; en ese caso,

$$k_d[A]_{eq} = k_i[B]_{eq}$$

donde k_d y k_i son las constantes de velocidad de las reacciones directa e inversa respectivamente, y $[A]_{eq}$ y $[B]_{eq}$ las concentraciones respectivas de equilibrio de A y B. La constante de equilibrio se define entonces como

$$K_{eq} = \frac{k_d}{k_i} = \frac{[B]_{eq}}{[A]_{eq}}$$

Pero en el equilibrio la energía libre del sistema es igual a cero; en ese caso,

$$0 = \Delta G^{0'} + RT \ln \frac{[B]_{eq}}{[A]_{eq}}$$

y entonces,

$$\Delta G^{0'} = -RT \ln \frac{[B]_{eq}}{[A]_{eq}} = -RT \ln K_{eq}$$

Lo que nos indica la relación entre la constante de equilibrio K_{eq} y la energía libre standard de la reacción $\Delta G^{0'}$.

2.2.2 Acoplamiento energético

Las reacciones metabólicas solamente pueden tener lugar, pues, cuando para las concentraciones de estado estacionario de reactivos y productos, la energía libre ΔG es menor que cero (**reacciones exergónicas**). Sin embargo, muchas reacciones que consideramos en el metabolismo presentan aparentemente energías libres superiores a cero (**reacciones endergónicas**); por ejemplo, la formación de un enlace peptídico entre dos aminoácidos en el curso de la síntesis proteica.

Lo que ocurre en todos estos casos es que el proceso endergónico aparece invariablemente **acoplado** a otro proceso exergónico simultáneo, de tal manera que la suma algebraica de las

energías libres de ambos procesos es inferior a cero; y el proceso, por tanto, puede tener lugar.

Como ejemplo, consideremos la reacción de activación de ácidos grasos (unión del ácido graso a la coenzima A para dar el acil-CoA metabólicamente activo):

La unión del ácido graso a coenzima A es endergónica:



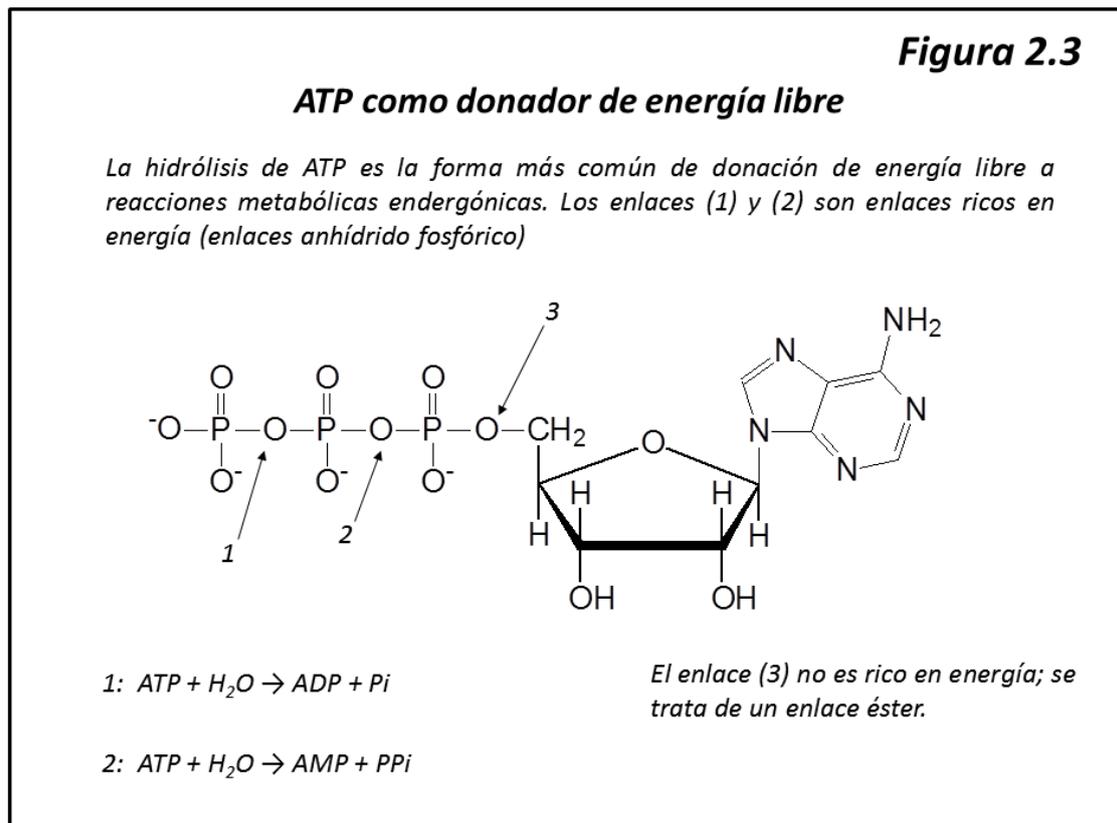
y por tanto no puede tener lugar espontáneamente. Pero en el metabolismo, esta reacción aparece acoplada a la hidrólisis de un enlace fosfato de alta energía del nucleótido ATP (adenosina-5'-trifosfato), proceso que es exergónico:



La suma algebraica de las energías libres (+31.3 - 41.7 = -10.4 kJ/mol) es negativa (-10.4 kJ/mol); y por tanto, el proceso metabólico

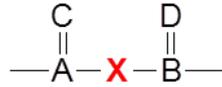


puede tener lugar espontáneamente. En la [figura 2.3](#) se presenta la estructura del nucleótido ATP con los dos enlaces ricos en energía, entre los fosfatos α y β y los fosfatos β y γ .

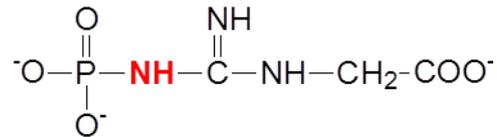


2.2.3 Compuestos ricos en energía

En el ejemplo del apartado anterior el componente exergónico de la activación de ácidos grasos consistía en la hidrólisis de un enlace anhídrido de alta energía de los dos presentes en el polifosfato presente en el nucleótido ATP. Enlaces similares aparecen en todos los nucleósido polifosfatos (GTP, UTP, CTP, etc.). La configuración de alta energía es la de anhídrido de ácido:



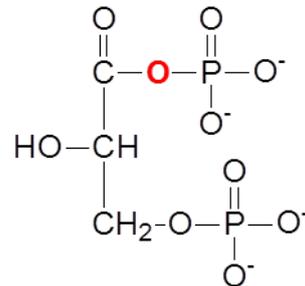
donde X representa el punto de hidrólisis de alta energía. Esta misma configuración se encuentra en muchos otros intermediarios metabólicos; por ejemplo, en la **fosfocreatina**:



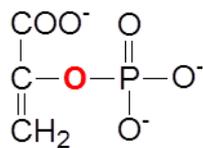
Cuya función es la de reservorio de energía en el músculo (fosfágeno) utilizado en el proceso de contracción muscular para regenerar en ATP consumido a partir de ADP, en una reacción catalizada por la creatin kinasa:



Otros compuestos de alta energía de hidrólisis, con configuración de anhídrido son el **1,3 bisfosfoglicerato**:



y el **fosfoenolpiruvato**:



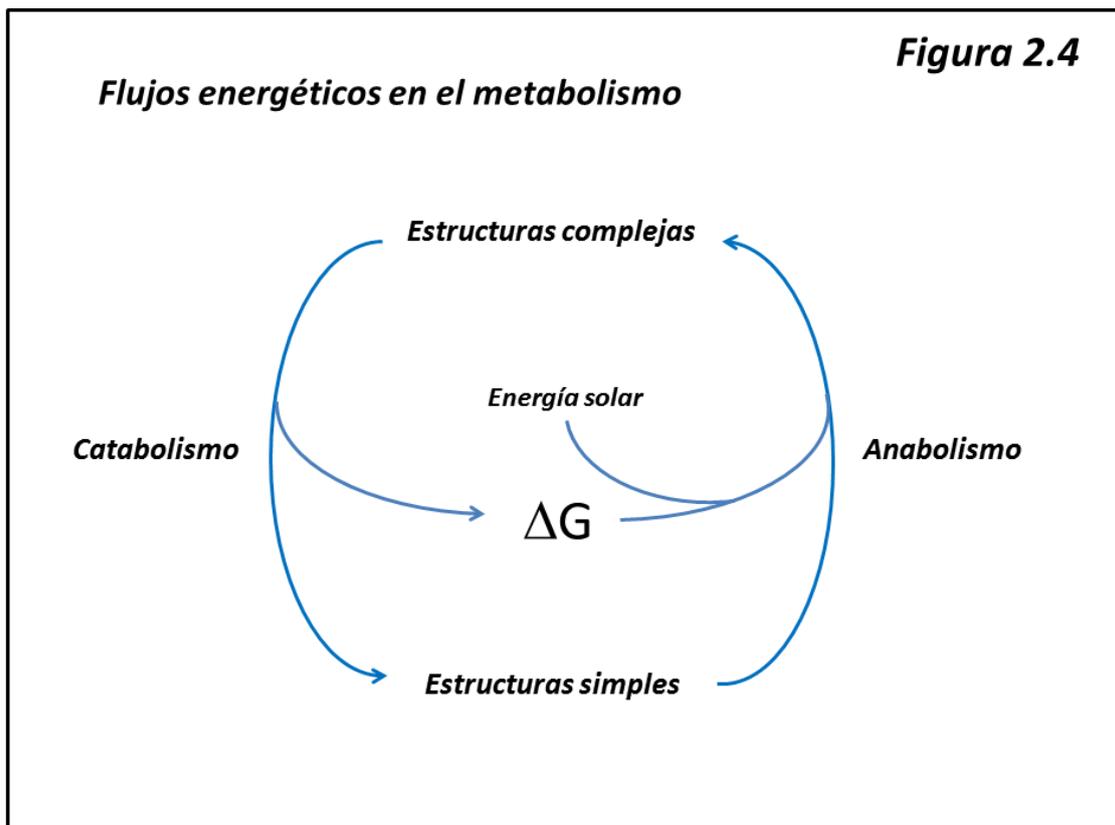
siendo ambos intermediarios glucolíticos que transfieren al ADP el enlace fosfato de alta energía para dar ATP, en procesos conocidos como fosforilación a nivel de sustrato.

Otros compuestos con alta energía de hidrólisis, aunque no tienen configuración de anhídrido, son los **tioésteres de coenzima A**, que son la forma metabólicamente activa de ácidos orgánicos (como en general, los ácidos grasos, ver cap. 6).

En líneas generales, el compuesto de alta energía de más amplia utilización en el metabolismo es el ATP (y en menor medida, el GTP o guanosina-5'-trifosfato).

2.2.4 Flujos energéticos en el metabolismo

La **figura 2.4** nos muestra un esquema general y altamente simplificado de los flujos energéticos del metabolismo. Determinadas rutas metabólicas consisten en la degradación de estructuras complejas para dar lugar a estructuras simples: son las **reacciones catabólicas** (ver sección 2.3) cuyo conjunto constituye el **catabolismo**; en líneas generales, estas reacciones son exergónicas, y liberan energía ($\Delta G < 0$). Otras reacciones metabólicas operan en sentido inverso, yendo desde estructuras simples a estructuras complejas: las **reacciones anabólicas**, que en conjunto constituyen el **anabolismo**, y que en general se trata de reacciones endergónicas ($\Delta G > 0$).



Por supuesto, el conjunto de reacciones no puede constituir un móvil perpetuo; las pérdidas son compensadas porque en último término todo el proceso viene a estar movido en la biosfera gracias a la luz solar en el proceso de fotosíntesis, descrito en el capítulo 1.

2.3 Rutas metabólicas

2.3.1 Definición

Una ruta metabólica es una serie de reacciones encadenadas que en conjunto sirven a un propósito fisiológico concreto. Por ejemplo: la degradación anaeróbica de glucosa o **glucolisis**, cuyo propósito es la producción de energía en forma de ATP; la síntesis de glucosa a partir de intermediarios no hidrocarbonados o **neoglucogénesis**, necesaria para mantener niveles

adecuados de glucosa en los medios orgánicos ante situaciones de ayuno; o las reacciones que recuperan las purinas liberadas en la degradación de ácidos nucleicos para regenerar nucleótidos, conocidas como **reciclado de purinas**.

Es evidente que el concepto de ruta metabólica es en principio arbitrario, puesto que corresponde a una particular visión subjetiva del metabolismo por nuestra parte; ahora bien, la experiencia ha demostrado que este concepto es especialmente útil, aunque nunca debemos olvidar el punto de vista expresado en la sección 2.1.2: el metabolismo es una realidad global, y como tal ha de ser considerada. Su división en rutas metabólicas concretas obedece, ante todo, a razones prácticas en cuanto a su estudio y a su exposición didáctica.

2.3.2 Tipos de rutas metabólicas

Tal como se adelantó en la sección 2.2 4, podemos distinguir dos grandes grupos de reacciones metabólicas (aunque añadiremos un tercero):

1. **Rutas catabólicas**, cuyo conjunto es el **Catabolismo** o metabolismo degradativo. Se trata de reacciones que degradan estructuras complejas para (a) la producción de energía libre química en una forma directamente aprovechable (generalmente, en forma de ATP); y (b) la producción de intermediarios de bajo peso molecular que puedan servir para la biosíntesis de estructuras complejas. En general, se trata de reacciones para las que $\Delta G < 0$.

2. **Rutas anabólicas**, que en conjunto constituyen el **Anabolismo** o metabolismo biosintético. Estas reacciones, consumidoras de energía (en general, $\Delta G > 0$), son las encargadas de la biosíntesis de estructuras complejas o macromoleculares a partir de intermediarios de bajo peso molecular.

Como productos del catabolismo encontramos intermediarios de bajo peso molecular a partir de los cuales tienen lugar las reacciones anabólicas o biosintéticas. En el metabolismo podemos encontrar multitud de reacciones destinadas a la interconversión de dichos intermediarios. Se trata, por lo general, de reacciones próximas a su equilibrio químico, de tal manera que pueden funcionar muy fácilmente en ambos sentidos según sean las necesidades celulares. Constituyen un tercer tipo de reacciones, que en conjunto denominamos

3. **Rutas anfibólicas**; al estar cercanas al equilibrio, suelen ser reacciones para las que $\Delta G \approx 0$.

2.3.4 Elementos de una ruta metabólica

En el estudio y descripción de una ruta metabólica se tienen en cuenta los siguientes elementos:

1. **Secuencia de reacciones**. Se trata de la enumeración ordenada de todas las reacciones que participan en la ruta, con las estructuras químicas de todos sus intermediarios.

2. **Enzimología**. Es la descripción de las enzimas que catalizan las distintas reacciones de la secuencia. Precisamente uno de los criterios que se exigen para validar una secuencia metabólica propuesta es el aislamiento y caracterización de todas las enzimas que participan en la misma.

3. **Función fisiológica**. Es la función que la ruta metabólica considerada cumple dentro de la fisiología celular.

4. Compartimentación celular. En el apartado siguiente veremos que los distintos compartimentos y organelas celulares se distinguen, entre otras cosas, por las rutas metabólicas que llevan a cabo; así, por ejemplo, la fosforilación oxidativa tiene lugar en la mitocondria, la destoxificación de xenobióticos en el retículo endoplásmico liso, la glucólisis en el citosol, etc.

5. Balance energético. La energía producida o consumida por la ruta metabólica; normalmente se hace en términos de ATP.

6. Regulación. Las rutas metabólicas están reguladas en su gran mayoría; y esta regulación tiene que ver con las circunstancias ambientales en las que se encuentra la célula. En el estudio del metabolismo, nos interesan las regulaciones a nivel celular (habitualmente a través de enzimas de comportamiento alostérico) y a nivel sistémico (que se suelen expresar mediante modificaciones covalentes de las enzimas implicadas).

2.3.5 Compartimentación celular

En los procariotas no existe una diferenciación de estructuras subcelulares como la que se aprecia en eucariotas. En todo caso, en aquéllos podemos diferenciar procesos que se llevan a cabo en el citoplasma y procesos que tienen lugar en la membrana plasmática.

Pero los eucariotas presentan un alto grado de diferenciación en dichas estructuras; y en cada una de ellas podemos ver especializaciones metabólicas. Así, en una enumeración no exhaustiva, podemos distinguir:

1. Núcleo: Replicación, reparación y recombinación del DNA; síntesis de RNA.

2. Mitocondria: Descarboxilación oxidativa de piruvato, ciclo de Krebs del ácido cítrico, β -oxidación de ácidos grasos, transporte electrónico acoplado a fosforilación oxidativa, reacciones parciales de neoglucogénesis y del ciclo de Krebs de la urea, etc.

3. Lisosomas: Procesos degradativos de partículas ingresadas en la célula por endocitosis o fagocitosis.

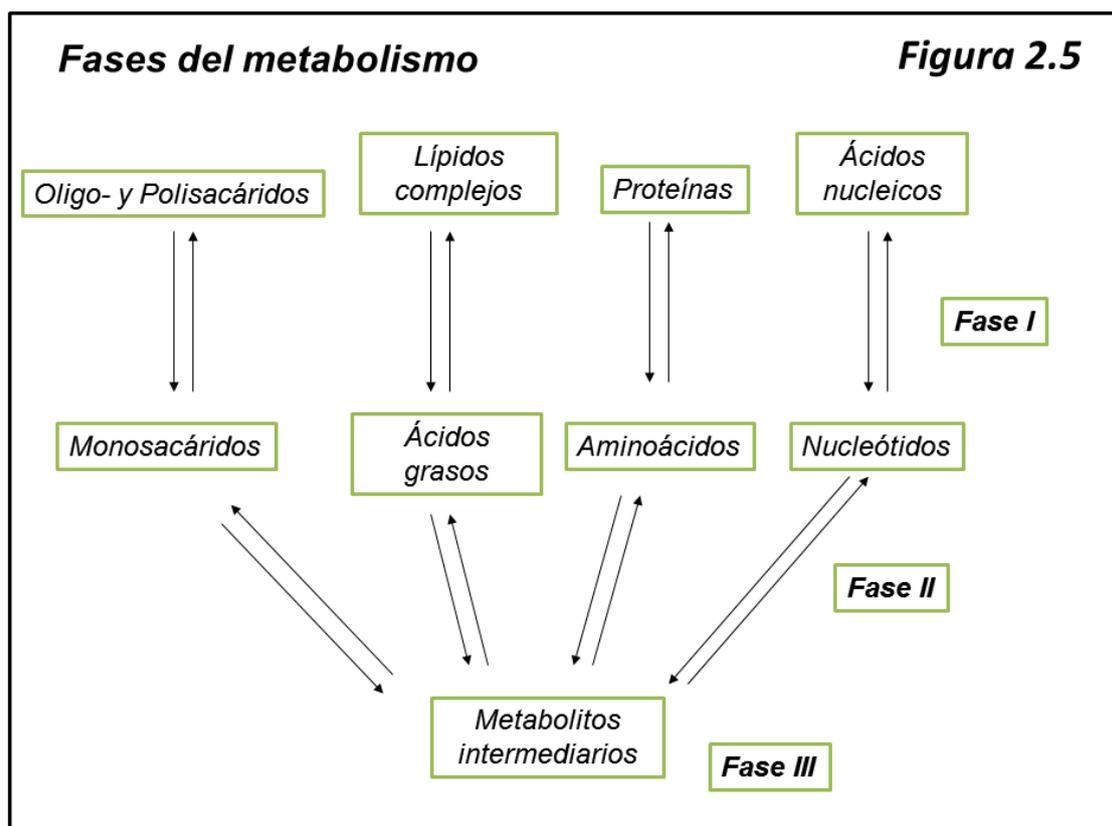
4. Peroxisomas: Procesos oxidativos no mitocondriales, reacciones antioxidantes.

5. Retículo endoplásmico y aparato de Golgi: síntesis de proteína, procesado postraducciona l de las mismas, metabolismo oxidativo de xenobióticos.

6. Citosol: Glucólisis, ruta pentosa-fosfato, metabolismo de glucógeno, biosíntesis de ácidos grasos y de esteroides, biosíntesis y degradación de nucleótidos, reacciones parciales de la neoglucogénesis y del ciclo de la urea, etc.

2.4 Fases del Metabolismo

En el conjunto del metabolismo podemos distinguir tres fases bien diferenciadas cuando consideramos las biotransformaciones de los cuatro grandes grupos de biomoléculas: Carbohidratos, Lípidos, Proteínas y Ácidos Nucleicos. Estas fases aparecen esquematizadas en la [figura 2.5](#).



2.4.1 Fase I del metabolismo

La Fase I del metabolismo consiste en las reacciones que unen a las biomoléculas complejas con sus elementos monoméricos o básicos, tanto en sentido catabólico como anabólico. Así, son las reacciones que hay (en ambos sentidos) entre polisacáridos y monosacáridos, proteínas y aminoácidos, ácidos nucleicos y nucleótidos, lípidos complejos y ácidos grasos.

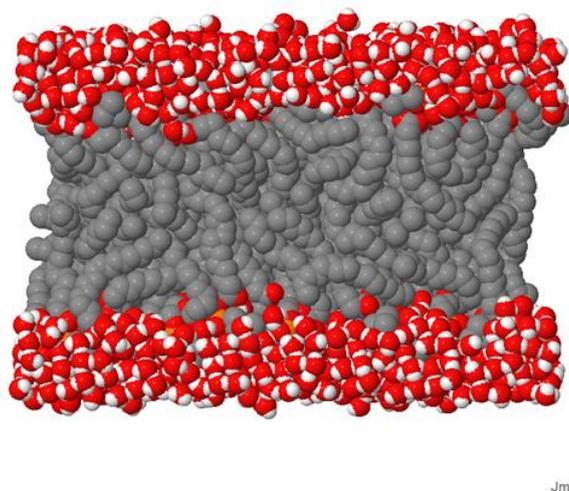
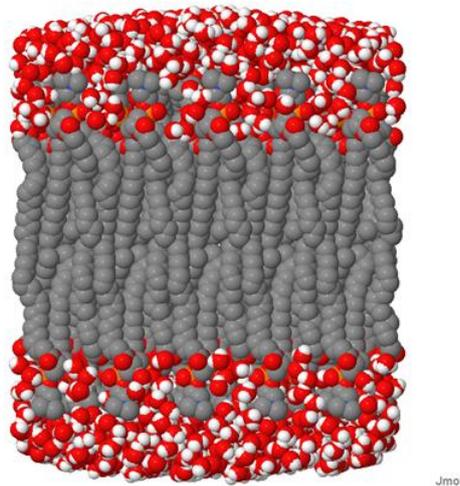
2.4.2 Fase II del metabolismo

La fase II del metabolismo conecta (igualmente, en ambos sentidos) los elementos monoméricos de las biomoléculas con un conjunto de intermediarios que pueden ser considerados **comunes**, puesto que son producto de degradación o punto de partida de biosíntesis de todo tipo de biomoléculas. Entre estos intermediarios podemos citar piruvato, acetil-CoA, los intermediarios del ciclo de Krebs del ácido cítrico, etc.

2.4.3 Fase III del metabolismo

Esta fase está constituida por el conjunto de interconversiones que se dan entre los metabolitos intermediarios, que como hemos visto, son comunes al metabolismo de todo tipo de biomoléculas. Se trata, por lo general de reacciones anfibólicas (ver sección 2.3.2).

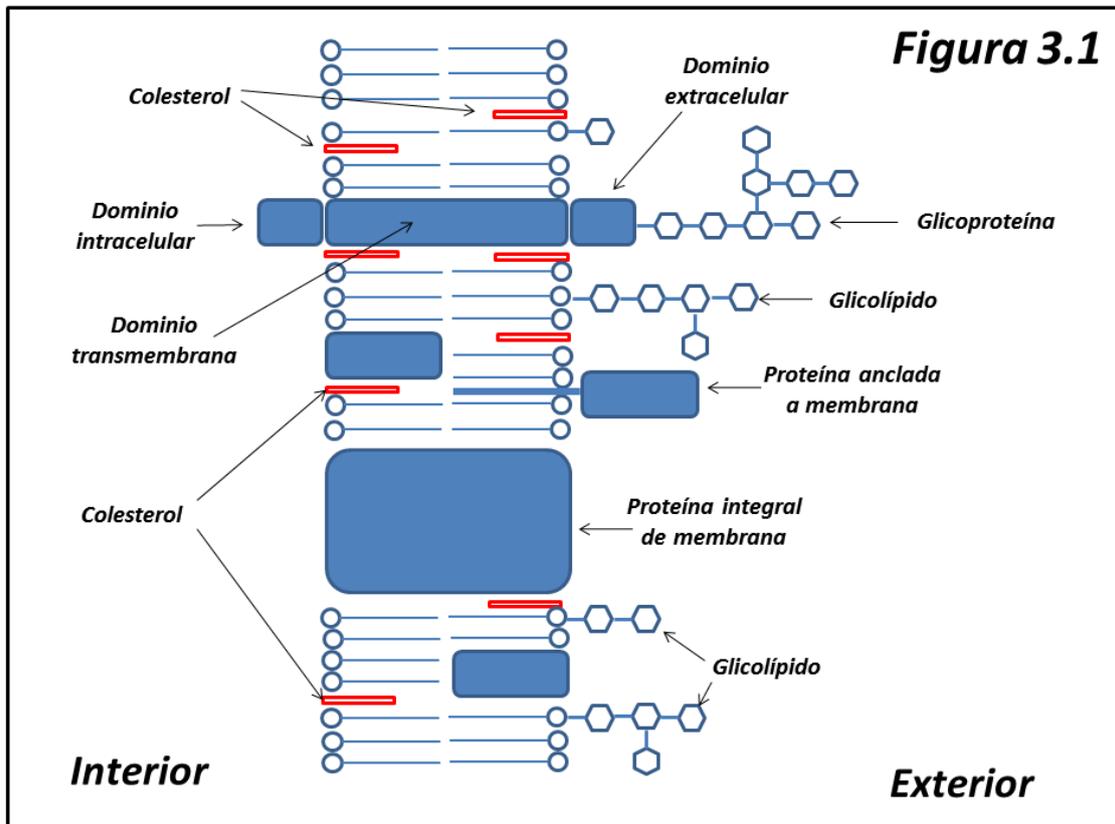
CAPÍTULO 3: Transporte a través de membranas



3.1 La membrana celular (membrana plasmática)

3.1.1 Estructura y composición

La individualidad de la célula se mantiene gracias a su delimitación por una membrana (en adelante, **membrana plasmática**) constituida por una bicapa lipídica que contiene cantidades variables de proteínas. El modelo más aceptado hoy día sobre la estructura molecular de la membrana sigue siendo el de **Singer** y **Nicolson** o del **mosaico fluido**, concepto a su vez construido sobre el de **Danielli** y **Davson**. La **figura 3.1** nos muestra esquemáticamente las principales características de este modelo.

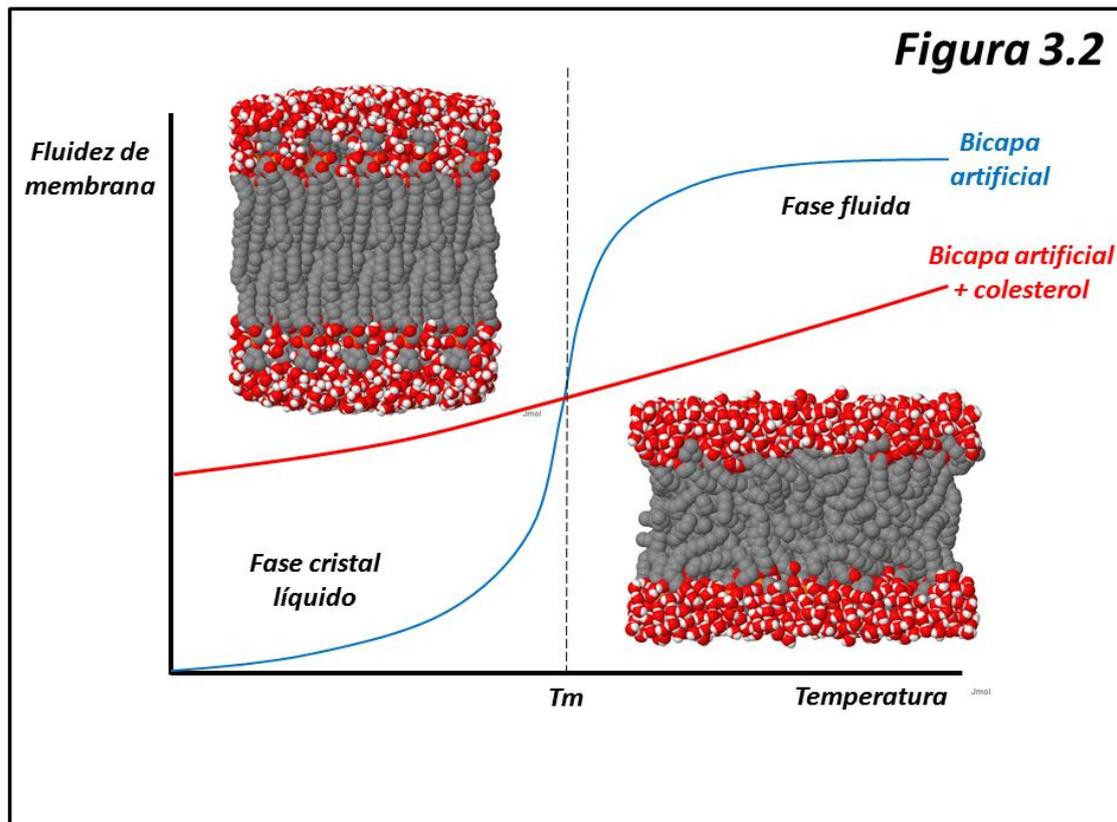


La membrana plasmática no es meramente una interfase entre la célula y el medio extracelular. Mediante las proteínas presentes en la misma, la membrana regula el flujo de sustancias entre célula y medio; mantiene gradientes de concentración con significación fisiológica (por ejemplo, gradientes protónicos o de iones Na^+ y K^+) y es en muchos casos el lugar de acción de señales químicas (hormonas, neurotransmisores, etc.)

La bicapa lipídica consiste en dos hojillas o láminas superpuestas formadas por lípidos anfipáticos, de manera que contactan las colas hidrofóbicas de los lípidos en el interior de la estructura mientras que las porciones polares se dirigen hacia fuera. El interior de la membrana, por tanto, es una región fuertemente hidrofóbica que no permite el paso de compuestos polares. Este tipo de construcción es en principio espontánea, dadas las características moleculares de los lípidos anfipáticos, sin necesidad de ningún tipo de información externa (autoestructuración; ver Biomoléculas, cap. 5) y aparece en aquellos lípidos en los que la sección transversal de la porción polar es aproximadamente igual o menor que la de las colas hidrofóbicas (si la sección transversal de la porción polar fuera mayor la autoestructuración daría lugar a micelas). Por tanto consideramos una hojilla externa, en contacto con el exterior, y una hojilla interna, en contacto con el interior celular (citoplasma). Aun cuando ambas hojillas están constituidas de la misma manera, difieren en su composición lipídica. La hojilla externa es rica en fosfatidil colina (lecitina), esfingomiélna y glicolípidos; la hojilla interna, por el contrario, está enriquecida en fosfatidil etanolamina y fosfatidil serina, faltando sin embargo esfingomiélna y glicolípidos. La porción glicídica de los glicolípidos se proyecta, por tanto, hacia fuera de la célula; junto con los oligosacáridos de las proteínas de membrana, que también se proyectan hacia fuera, se constituye una zona inmediatamente adyacente a la superficie externa de la membrana, rica en carbohidrato, que los histólogos distinguen como **glicocálix**.

Dentro de cada hojilla la movilidad de los lípidos es grande (movilidad lateral); esta movilidad se ve incrementada con el grado de insaturación de los lípidos (más móviles cuanto más

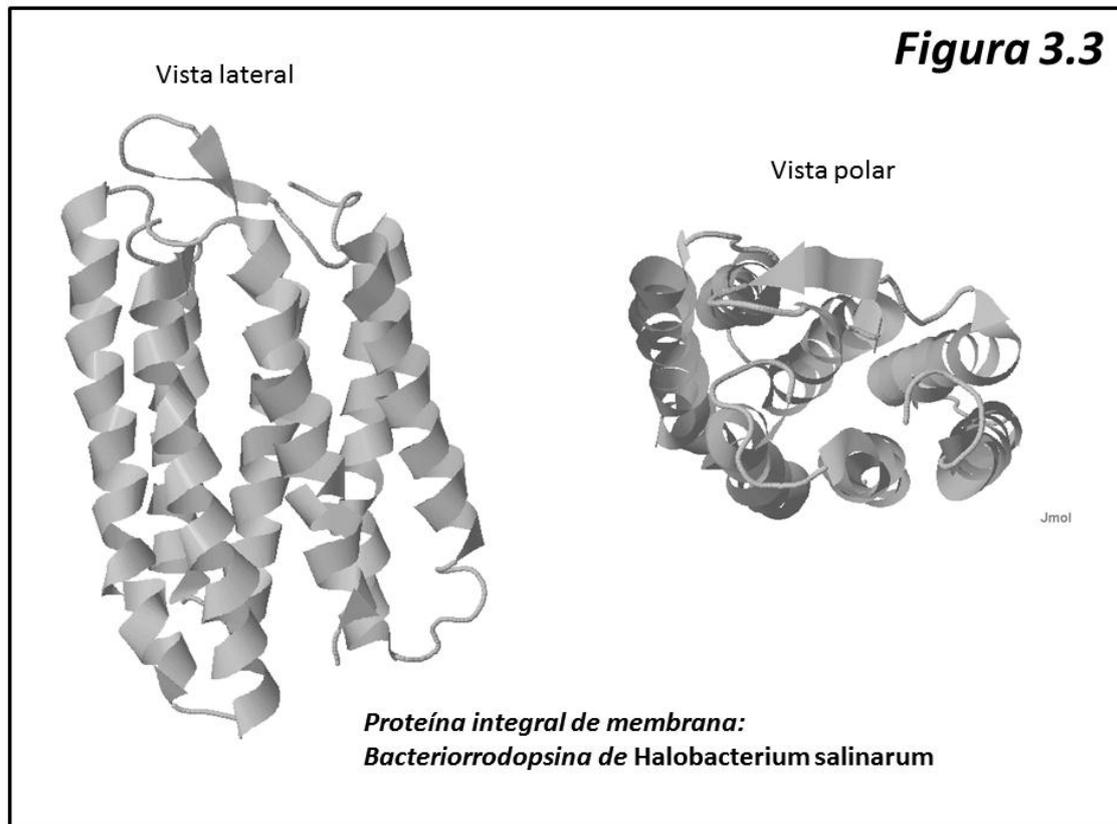
insaturados) y con la temperatura (mayor movilidad a mayor temperatura). Respecto a esta última, las membranas pueden llegar a existir en dos fases diferentes; a bajas temperaturas los lípidos se presentan empaquetados y ordenados (**fase cristal líquido**) mientras que a altas temperaturas desaparece esta ordenación y la mayor movilidad de los lípidos hace que se constituyan en **fase fluida**. En las bicapas artificiales, la transición entre una y otra es bastante abrupta y cooperativa (**figura 3.2**). La temperatura media de transición (T_m) depende de la composición lipídica. El movimiento entre una y otra hojilla (movimiento **flip-flop**) es bastante más difícil, y suele requerir moléculas auxiliares como los dolicol-fosfatos o cambios en la estructura general de la bicapa.



Ahora bien, las membranas de los eucariotas (y de las arqueas; no así las eubacterias) contienen otros componentes, particularmente los **esteroles** (zosterol en hongos, fitosterol y estigmasterol en plantas, colesterol en metazoos), que tienen una estructura débilmente anfipática debido al grupo hidroxilo en C3 (Biomoléculas, cap. 6) y que se intercalan entre los lípidos de la bicapa. La estructura rígida de los anillos esteroideos hace que la transición entre las fases cristal líquido y fluida se atenúe, eliminándose así la brusquedad de la transición que vemos en bicapas artificiales (**figura 3.2**) y favoreciendo así la adaptación a los cambios de temperatura. Los esteroides de membrana (el colesterol en particular) interactúan más fácilmente con ácidos grasos saturados de cadena larga, como los que se encuentran en los esfingolípidos. Así, en las membranas suele haber zonas en las que abundan colesterol y esfingolípidos. Estas zonas reciben el nombre de **balsas** (ingl. *rafts*) y hay proteínas de membrana que tienen especial afinidad por estas zonas.

En cuanto a las proteínas, algunas interactúan débilmente con la membrana, generalmente a través de la porción polar; pero la mayoría de las proteínas de interés están firmemente ancladas en la misma. Muy frecuentemente la proteína aparece totalmente integrada en la membrana: son las proteínas **integrales** de membrana, que pueden presentar dominios extra- e intracelulares, además del dominio transmembrana. Otras proteínas aparecen **ancladas** a la

membrana. Hay diversos tipos de anclaje. En ocasiones se trata de un radical palmitil o miristil unido a la proteína; otras veces consiste en un residuo poliprenil integrado en la bicapa unido a un residuo de cisteína de la proteína; en las membranas de eucariotas es frecuente ver anclajes más complejos: por ejemplo, un fosfatidilinositol integrado en la hojilla externa unido a un oligosacárido que a su vez se une mediante un residuo fosfoetanolamina al C-término de una proteína.



En las proteínas integrales las zonas de la proteína que interaccionan con los lípidos son ricas en residuos hidrofóbicos. En general, estas proteínas son ricas en tramos α -helicoidales, muy a menudo formando una estructura en barril, de tal manera que los helicoides presentan un lado hidrofóbico que interacciona con los lípidos y un lado polar que queda hacia el interior del barril. Se forma así un poro o canal a través del que pueden pasar iones o moléculas polares que de otro modo no podrían hacerlo (figura 3.3).

3.1.2 Permeabilidad de las membranas. Modalidades de transporte

Así constituidas, las membranas constan de una zona interna altamente hidrofóbica que no puede ser atravesada por iones o moléculas polares. A su través, sin embargo, pueden circular la mayor parte de moléculas hidrofóbicas o poco solubles en agua, como O_2 (oxígeno molecular), CO_2 (dióxido de carbono), lípidos neutros, vitaminas liposolubles, esteroides, etc.

Pero la vida de la célula depende de sus intercambios con el exterior (captación de alimentos, eliminación de productos de desecho, recepción de señales químicas, etc.) y estos intercambios implican, la mayoría de las veces, moléculas polares o iones. Esto hace que las membranas dispongan de sistemas de transporte, que por lo general son proteínas integrales de membrana que permiten el paso selectivo de moléculas polares o de iones. A veces estas

proteínas forman poros o canales (regulados o no) y otras son sistemas específicos de transporte que interactúan con los solutos transportados de manera estereoespecífica. La tabla I nos muestra los diferentes tipos de transporte que vamos a encontrar a través de las membranas plasmáticas.

Tabla I

Modalidades de transporte

Tipo	Transportador	Saturable	Gradiente	Energía
Difusión simple	No	No	A favor	No
Poros y canales	Sí	No	A favor	No
Transporte pasivo	Sí	Sí	A favor	No
Tr. activo primario	Sí	Sí	En contra	Sí (directa)
Tr. activo secundario	Sí	Sí	En contra	Sí (indirecta)

Esta tabla requiere una explicación de los distintos conceptos que aparecen en la misma.

La columna **Transportador** alude si el sistema citado requiere una estructura proteica o no. De esta manera vemos que todos los tipos de transporte (excepto la difusión simple) requieren la presencia de proteínas. En un caso (Poros y canales) las proteínas implicadas forman un canal a través de la membrana por el que pueden pasar moléculas, generalmente de forma selectiva. En los demás, el transportador interactúa con el soluto de manera estereoespecífica y la unión de ambos permite la translocación del soluto de uno a otro lado de la membrana.

La columna **Saturable** describe si la velocidad de transporte llega a una velocidad máxima que no puede ser superada por mucho que aumente el gradiente de concentración. Obsérvese que este caso es formal (y estructuralmente) idéntico a la relación entre la velocidad de una reacción enzimática y la concentración de sustrato. En ambos casos, se alcanza una velocidad máxima cuando están ocupados **todos los sitios** específicos de la enzima o del transportador; la interacción entre soluto y transportador es estereoespecífica del mismo modo que lo es la interacción enzima/sustrato. No es éste el caso de la difusión simple o del transporte a través de poros o canales; sí lo es de las otras modalidades.

La columna **Gradiente** indica si el transporte mediante la modalidad correspondiente se realiza a favor o en contra de gradiente. A favor de gradiente significa que la concentración de soluto en el compartimento de partida es mayor que en el de llegada; en contra de gradiente significa lo contrario.

La columna **Energía** está íntimamente relacionada con la anterior. Un transporte a favor de gradiente no requiere ningún aporte de energía externa; el transporte en contra de gradiente necesita indefectiblemente un aporte externo de energía, generalmente en forma de ATP.

3.2 Energética del transporte

Sean dos compartimentos, I (intracelular) y E (extracelular), separados por una membrana. Para un soluto S, presente a las concentraciones $[S_I]$ y $[S_E]$ respectivamente, la energía libre necesaria para el transporte desde E a I ($S_E \rightarrow S_I$) viene dada por la relación

$$\Delta G = RT \ln \frac{[S_I]}{[S_E]}$$

De esta relación se deduce que cuando $[S_E] > [S_I]$, el término ΔG será negativo (< 0) y el transporte (que en este caso es a favor de gradiente) puede tener lugar de forma espontánea. Pero al igual que en el caso de las reacciones químicas, esta relación nos informa acerca de *posibilidad*; no dice nada en torno a la *velocidad* del transporte.

En el caso contrario ($[S_E] < [S_I]$) el término ΔG será positivo (> 0) y el transporte (esta vez en contra de gradiente) no podrá tener lugar espontáneamente. Ahora bien, encontraremos muchos casos de transporte contra gradiente (transporte activo, ver más adelante). En ese caso, al igual que veíamos en las reacciones químicas en general (cap. 2), el transporte puede tener lugar si se acopla a un proceso exergónico ($\Delta G < 0$) de tal manera que la suma algebraica de ambos términos energéticos sea negativa. Los procesos de transporte contra gradiente están normalmente acoplados a la hidrólisis de fosfatos de alta energía como ATP.

Otra manera de acoplar un proceso exergónico a un transporte contra gradiente consiste en aprovechar un gradiente a favor de otro soluto que ha sido previamente transportado por otros medios. Así, si el transporte desde E a I del soluto S se hace contra gradiente ($[S_E] < [S_I]$, $\Delta G > 0$), puede acoplarse al transporte de A a B de otro soluto, S' que está a favor de gradiente (es decir, $[S'_E] > [S'_I]$, $\Delta G' < 0$) siempre y cuando $|\Delta G'| > |\Delta G|$. En este caso hablamos de **transporte activo secundario**. Muchos sistemas de transporte utilizan este procedimiento haciendo uso del gradiente de ion sodio Na^+ creado por la **bomba de sodio**, mediante la cual la concentración extracelular de sodio es de 140 mM y la intracelular de 5 mM ($[\text{Na}^+_E] > [\text{Na}^+_I]$).

Ahora bien, muchos solutos que deben ser transportados a través de la membrana celular tienen carga eléctrica. Tal es el caso de los iones (Na^+ , K^+ , Cl^- , HCO_3^-). En estas circunstancias hay que tener en cuenta no sólo la energía necesaria para el transporte, sino también la diferencia de potencial eléctrico entre ambos compartimentos. Todas las células vivientes tienen un interior electronegativo con respecto al exterior (entre -30 y -90 mV). La energía del transporte (considerado, como hasta ahora, en sentido $E \rightarrow I$) viene dada entonces por la relación

$$\Delta G = RT \ln \frac{[S_I]}{[S_E]} + zF\Delta\Psi$$

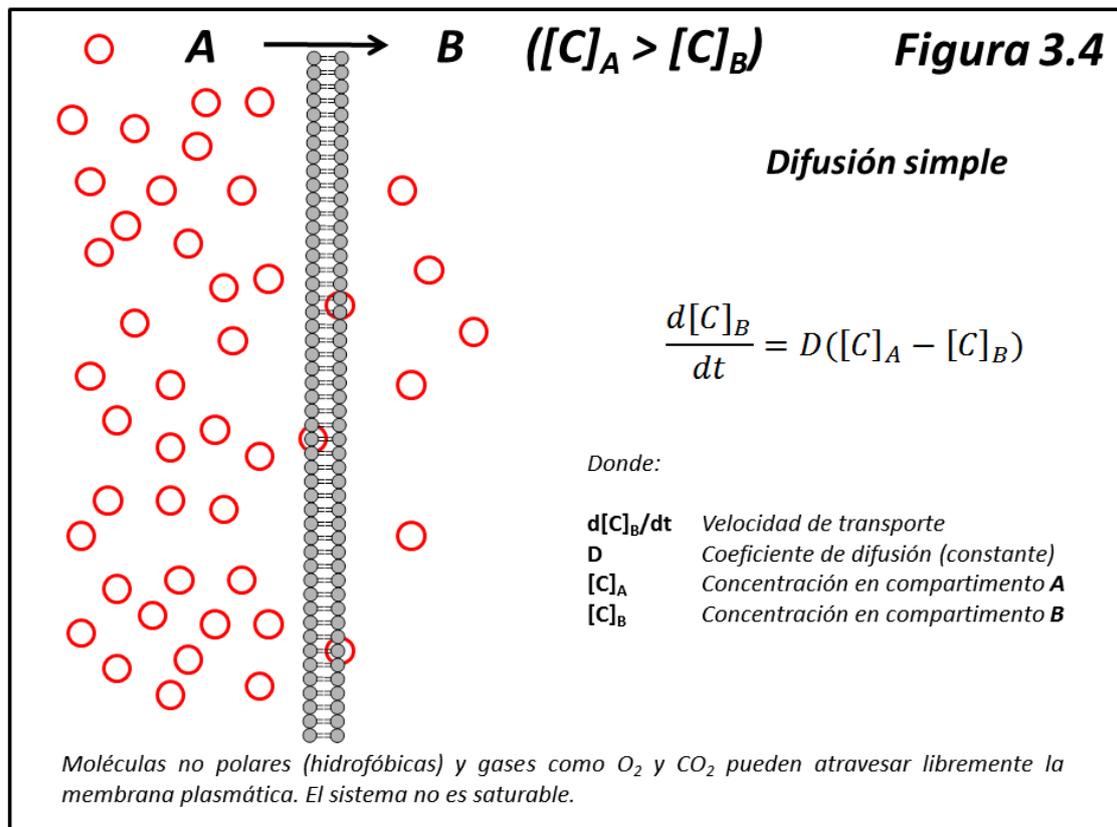
donde z es la carga eléctrica de la especie considerada (+1, +2, -1, -2, etc.); F la constante de Faraday ($96485 \text{ J.V}^{-1}.\text{mol}^{-1}$) y $\Delta\Psi$ la diferencia de potencial entre los compartimentos E e I.

Para el caso del ion sodio, ambos sumandos del lado derecho de esta relación tendrán valor negativo; por tanto, la entrada de sodio en la célula iría a favor tanto del gradiente de concentración como del gradiente eléctrico (pues en este caso $z = +1$ y $\Delta\Psi < 0$).

3.3 Transporte por difusión simple

La **figura 3.4** muestra las principales características del transporte por difusión simple. Dos compartimentos, A y B, aparecen separados por una membrana, representada

esquemáticamente por una bicapa lipídica. La concentración del soluto (representado por círculos rojos) es mayor en A que en B. Esta modalidad de transporte es propia de moléculas hidrofóbicas (lípidos neutros, esteroides, etc.) o de gases como O₂ y CO₂.



La velocidad de difusión a través de la membrana viene dada por la relación

$$\frac{d[C_B]}{dt} = D([C_A] - [C_B])$$

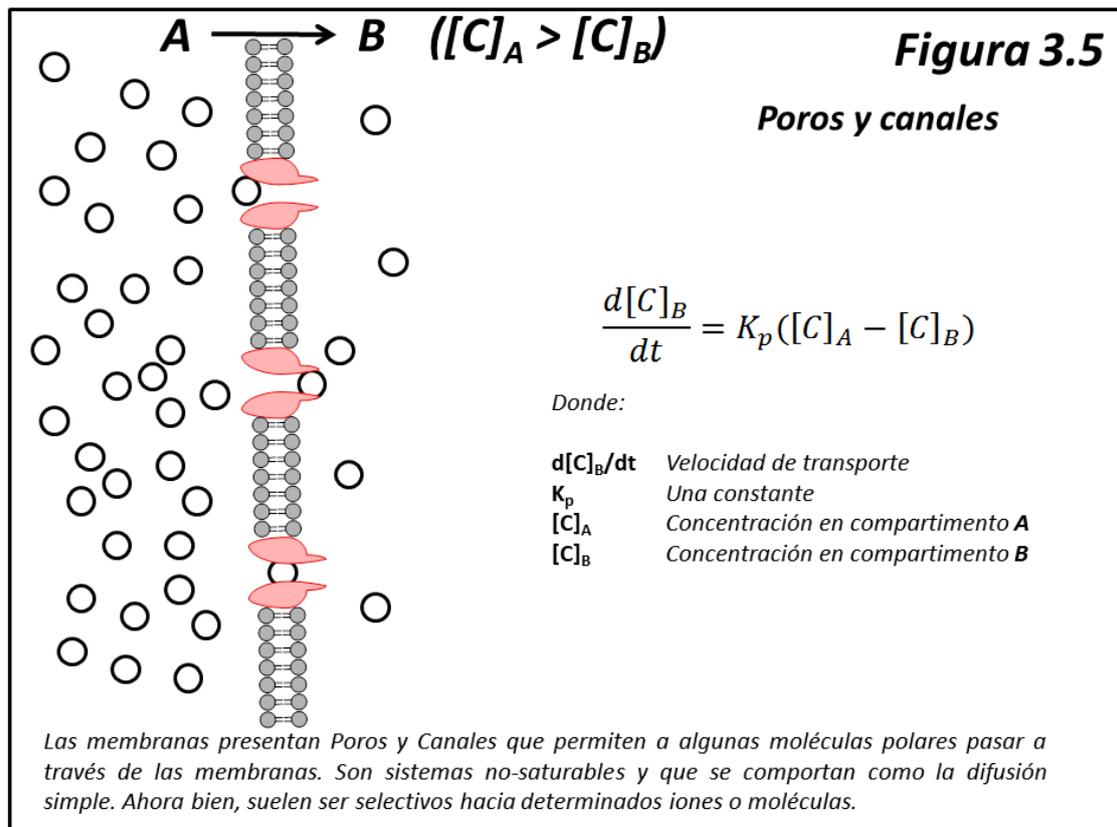
en donde $d[C_B]/dt$ es la velocidad de difusión; D, el coeficiente de difusión; $[C_A]$, concentración el compartimento A y $[C_B]$, concentración en el compartimento B. El término $([C_A] - [C_B])$ es el gradiente de concentración. Obsérvese que un valor negativo de éste indicaría que el transporte se hace desde B hasta A.

El sistema no requiere ningún tipo de transportador ni tampoco es saturable. El coeficiente de difusión D depende de la naturaleza de la molécula transportada y de la composición de la membrana.

3.3 Transporte mediante poros o canales

Las membranas presentan frecuentemente **poros** y **canales** que permiten la difusión de moléculas polares o iones. Tanto unos como otros son estructuras proteicas de forma generalmente cilíndrica, de tal manera que la proteína rodea un espacio que comunica el exterior con el interior celular. La propia proteína, con su estructura, permite de forma

generalmente selectiva el paso de moléculas o iones. Las características principales de esta modalidad de transporte se presentan en la [figura 3.5](#).



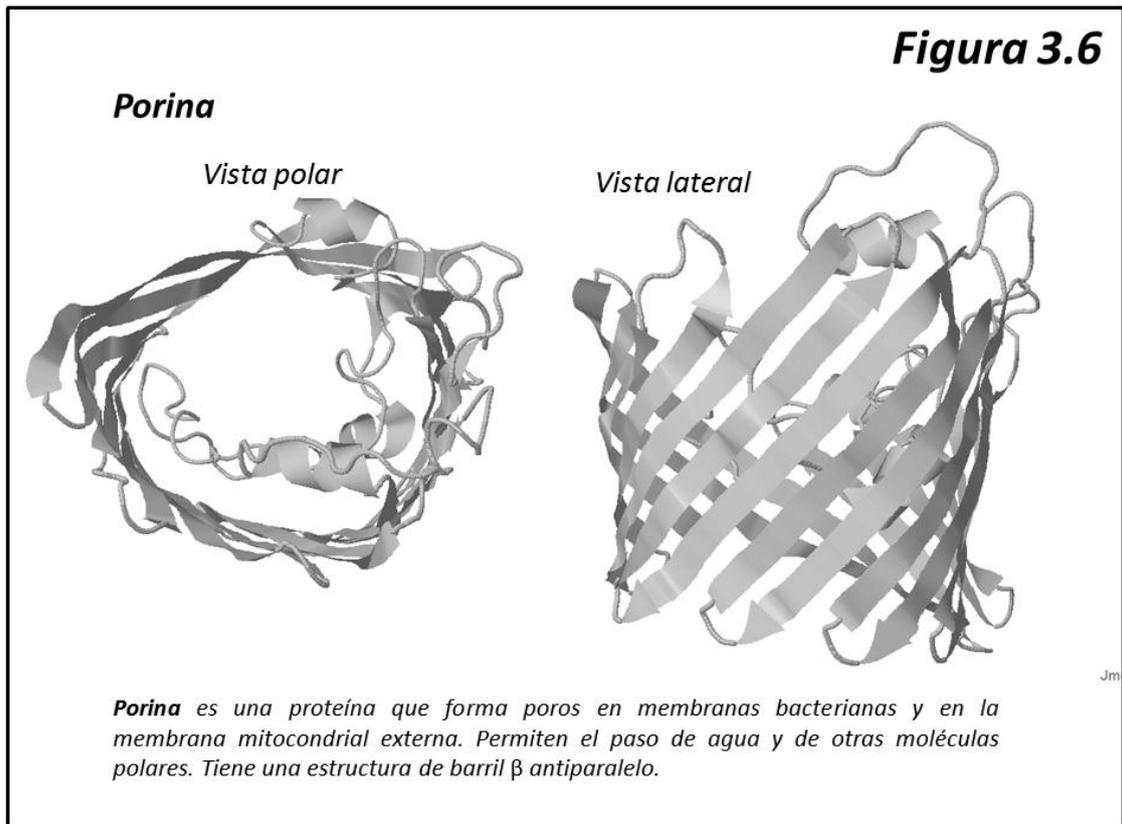
El transporte a través de estas estructuras se rige mediante una relación muy parecida a la difusión simple:

$$\frac{d[C_B]}{dt} = K([C_A] - [C_B])$$

en donde $d[C_B]/dt$ es la velocidad de difusión; K , una constante; $[C_A]$, concentración en el compartimento A y $[C_B]$, concentración en el compartimento B. El valor de la constante K depende de las características específicas del poro o del canal.

Los poros, en general, son estructuras *pasivas*, mientras que los canales son estructuras *reguladas*, es decir, están sometidas a señales químicas o eléctricas que determinan su apertura o su cierre.

Un ejemplo de poro aparece en la [figura 3.6](#). Está constituido por una única proteína integral de membrana, la **porina**. su estructura es la de un barril β antiparalelo que permite el paso de agua y otros solutos a su través. Está presente en membranas bacterianas y en la membrana mitocondrial externa.

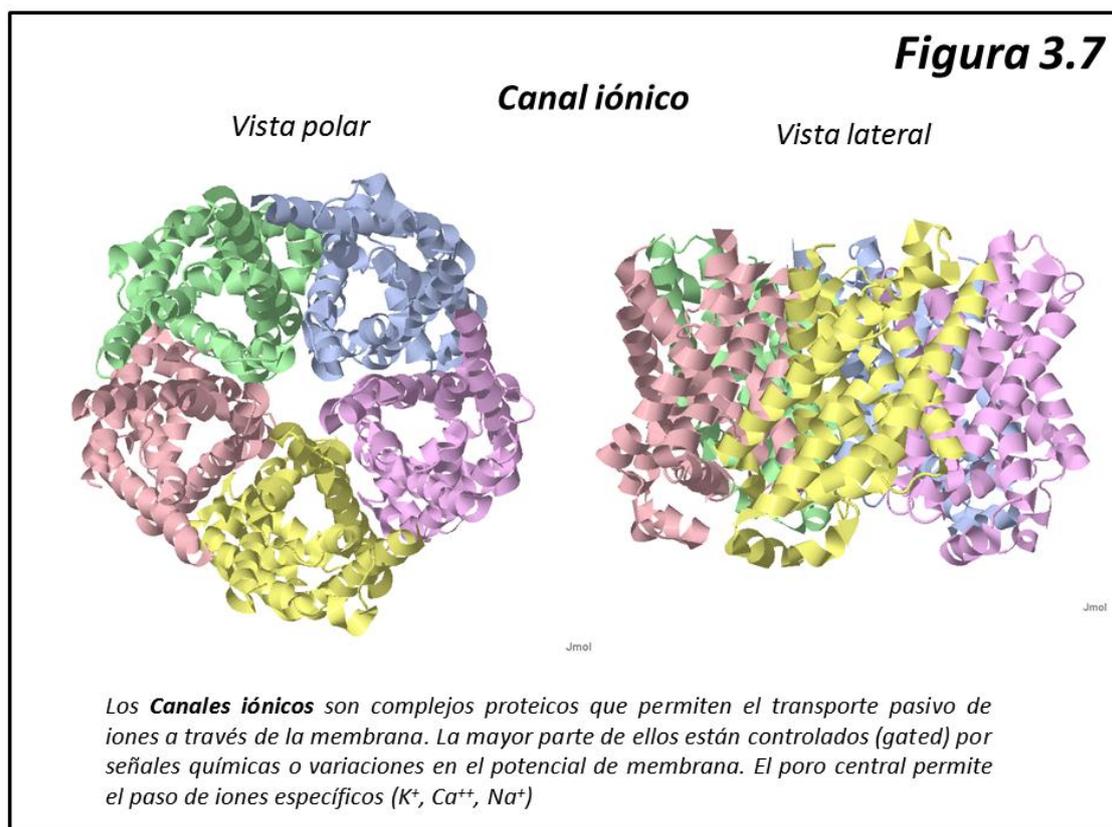


3.3.1 Canales iónicos

Los canales iónicos son estructuras supramoleculares integradas en la membrana que permiten selectivamente el paso de iones hacia o desde el interior de la célula. Por lo general, los canales iónicos están regulados (*gated*) por señales químicas o por variaciones en el potencial eléctrico de membrana.

Los canales están constituidos por lo general por varias subunidades de proteína estructuradas en torno a un canal central que determina su selectividad. Su apertura o cierre depende de la presencia de señales químicas (como neurotransmisores en el sistema nervioso) o de las variaciones en el potencial eléctrico de membrana, tal como ocurre en la transmisión del impulso nervioso. Un ejemplo de canal iónico aparece en la [figura 3.7](#).

Se conocen canales específicos para multitud de especies iónicas: Na^+ , K^+ , Cl^- , Ca^{++} . Por otra parte, estos canales son dianas específicas para muchas toxinas y fármacos. Dependiendo de su modalidad de activación, distinguimos entre **canales dependientes de voltaje**, **canales dependientes de ligando** y **canales regulados mecánicamente**. Entre los primeros tenemos el canal de sodio activado por el potencial de acción neural, responsable de la propagación del impulso nervioso. Entre los regulados por ligando, tenemos el canal Na^+/K^+ activado por acetilcolina en las sinapsis colinérgicas (como la unión neuromuscular) y responsable del potencial de placa motora.



En el capítulo 10 de esta misma obra (Metabolismo de Iones Inorgánicos) puede encontrarse una discusión algo más avanzada sobre canales iónicos.

3.4 Transporte mediado (pasivo y activo)

La mayor parte de los solutos polares son transportados a través de la membrana gracias a la presencia en ésta de transportadores de naturaleza proteica. El soluto interacciona con el transportador de forma **estereoespecífica**, al igual que la interacción enzima/substrato; por tanto, los transportadores son específicos hacia un único soluto o un conjunto de solutos de parecida estructura química. Este tipo de transporte se define como **transporte mediado** (a diferencia de los tratados hasta aquí).

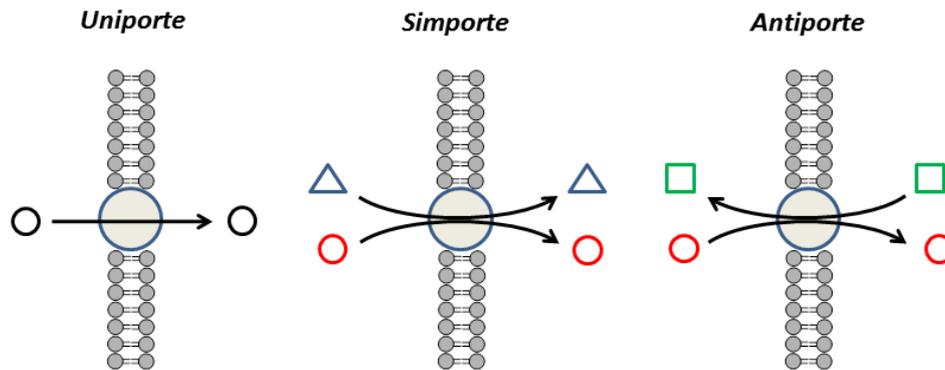
Al ser finito el número de transportadores presentes en la membrana, el sistema es **saturable**: es decir, llega un momento en el que por mucho que aumente la concentración de soluto, la velocidad de transporte no varía. Este fenómeno es enteramente análogo a lo que se observa en cinética enzimática. Igualmente, al ser estereoespecífica la fijación de soluto, se puede definir una constante de transporte K_t análoga a la K_m de la cinética enzimática. En este sentido, la K_t se mide en unidades de concentración, no depende del número de transportadores presentes y representa una medida inversa de la afinidad del soluto hacia el transportador (una K_t baja supone una afinidad alta, y viceversa).

El transporte mediado puede presentar distintas modalidades (**figura 3.8**). A veces es un **Uniporte**, cuando se transporta un único soluto; otras veces en un **Simporte**, cuando dos solutos fluyen en el mismo sentido; y en otras ocasiones es un **Antiporte**, cuando dos solutos son transportados en sentidos opuestos.

Transporte mediado

Figura 3.8

La mayoría de moléculas polares requieren un transportador proteico específico para atravesar la membrana. Esto es el Transporte Mediado; como depende del número de transportadores presentes, el sistema es saturable. Cuando el transporte va a favor de gradiente, hablamos de Transporte Pasivo (o Facilitado). Si va en contra de gradiente, se trata de **Transporte Activo**. Éste siempre requiere energía, normalmente en forma de ATP.



El transporte mediado funciona de tres maneras distintas: **Uniporte** (cuando el transporte afecta a un solo soluto); **Simporte** (cuando dos solutos circulan en el mismo sentido), y **Antiporte** (cuando dos solutos fluyen en sentidos opuestos)

Dependiendo de si se hace a favor o en contra de gradiente, distinguimos dos tipos de transporte mediado: el **Transporte Pasivo** (o Facilitado, o Difusión Facilitada), cuando el soluto es transportado a favor de un gradiente de concentración, y el **Transporte Activo**, cuando el transporte se hace en contra. En este último caso siempre es necesario un aporte de energía; bien en forma directa, acoplándose a la hidrólisis de ATP (**Transporte Activo Primario**) o bien en forma indirecta, aprovechando la energía potencial del gradiente de otro soluto previamente transportado (**Transporte Activo Secundario**).

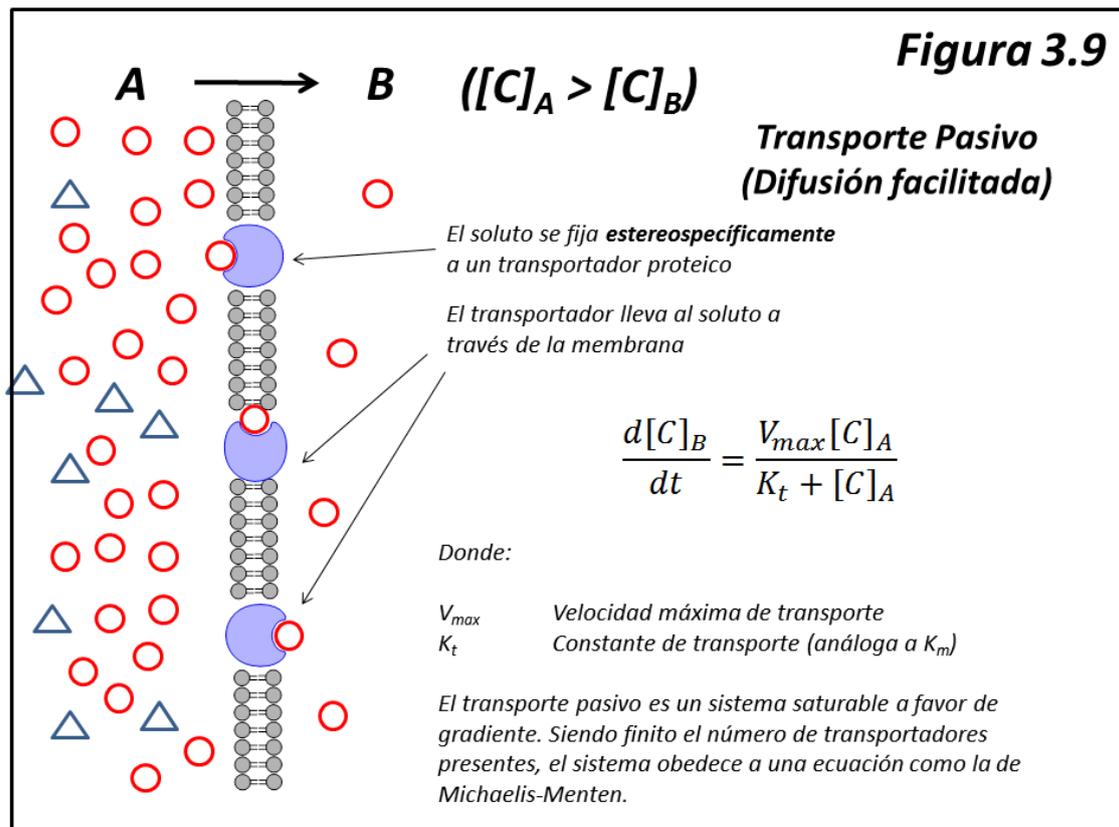
3.4.1 Transporte Pasivo

La **figura 3.9** nos muestra las principales características del transporte pasivo. En primer lugar, se hace a favor de un gradiente de concentración. Si consideramos el transporte desde el compartimento A hacia el B, $[C_A] > [C_B]$. El soluto se fija a un sitio específico del transportador, análogo al centro activo de una enzima. La interacción entre soluto y transportador hace variar la estructura tridimensional de éste de manera que el soluto puede ser transportado a través de la bicapa hidrofóbica de la membrana; una vez en el otro lado, el soluto se disocia del transportador, que queda en condiciones de aceptar una nueva molécula de soluto. Evidentemente, la velocidad de transporte será siempre proporcional a la concentración local de complejo ST (solutos/transportador) y por tanto esta velocidad obedece a una relación idéntica a la ecuación de Michaelis-Menten en cinética enzimática:

$$\frac{d[C_B]}{dt} = \frac{V_{max}[C_A]}{K_t + [C_A]}$$

Donde $d[C_B]/dt$ es la variación instantánea de la concentración del soluto en el compartimento B (es decir, la velocidad de transporte); V_{max} es la velocidad máxima (asintótica) de transporte;

$[C_A]$ es la concentración del soluto en el compartimento A; y K_t es la constante de transporte, análoga a la K_m de la cinética enzimática michaeliana.



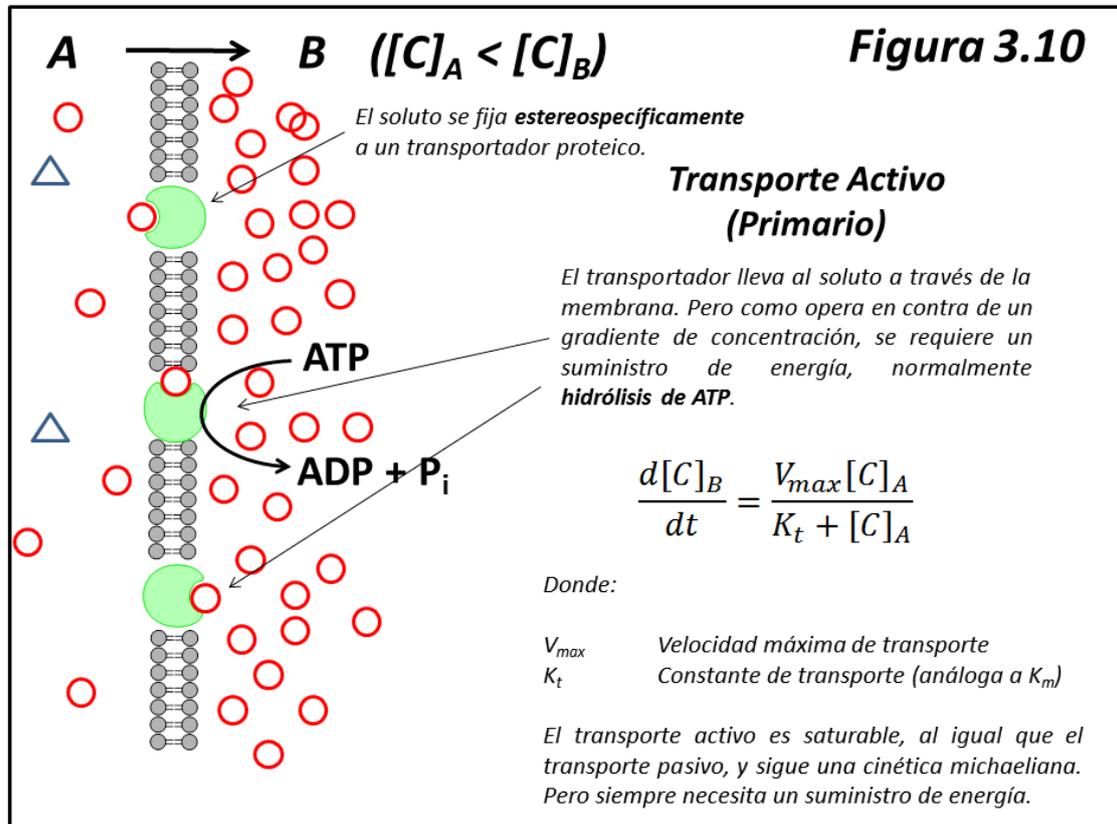
Muchos solutos entran en la célula mediante transporte pasivo. Así, transportadores pasivos de glucosa existen prácticamente en todas las células del organismo. Por lo general, la glucosa (que la célula utiliza como combustible primario) está a una concentración intracelular más baja que la extracelular (que en el organismo humano es de 5 mM); por lo cual, la glucosa entra en la célula a favor de gradiente. Se conocen hasta 12 transportadores distintos de glucosa, que reciben el nombre de GLUT1, GLUT2, GLUT3, etc. GLUT1 es un transportador que aparece en la gran mayoría de células y tejidos; GLUT2 en hígado y los transportadores de intestino y túbulo renales (éstos no pasivos, ver más abajo); GLUT3 parece específico de neuronas. GLUT4, por su parte, es dependiente de insulina (ver cap. 4) y está presente en el tejido muscular y en el tejido adiposo.

El transporte de glucosa es, en la mayoría de los casos, un transporte mediado pasivo. Hay dos importantes excepciones a esta regla: la absorción digestiva de glucosa y la reabsorción de glucosa en los túbulo renales. En ambos casos se trata de un transporte contra gradiente, y por tanto, transporte activo (como veremos, de tipo secundario).

Otro transporte mediado pasivo interesante es el antiporte bicarbonato/cloruro presente en la membrana plasmática del hematíe (también conocido como transportador aniónico). En los tejidos periféricos transporta HCO_3^- desde el interior de la célula al exterior, intercambiándolo con Cl^- (por tanto, no es electrogénico); el ion HCO_3^- procede de la hidratación del CO_2 (que a su vez es producto de la respiración celular) llevada a cabo por la anhidrasa carbónica. En los pulmones tiene lugar el proceso opuesto: se intercambia HCO_3^- por Cl^- , en sentido contrario; el bicarbonato, por acción de la misma enzima, produce CO_2 que se libera al espacio respiratorio.

3.4.2 Transporte activo

Cuando el transporte mediado se hace en contra de un gradiente de concentración recibe el nombre de Transporte Activo, y sus principales características se muestran en la **figura 3.10**. Se trata de un sistema saturable enteramente análogo al transporte mediado pasivo, con la excepción de que requiere energía al ir contra gradiente.



El soluto se fija estereoespecíficamente al transportador, y el complejo es translocado a través de la membrana al tiempo que capta energía. Si esta energía es suministrada por la hidrólisis de un enlace fosfoanhídrido del ATP, hablamos de **transporte activo primario**. Otras veces la energía es suministrada por la energía potencial del gradiente de otro soluto previamente transportado mediante transporte activo primario; se trata entonces de **transporte activo secundario** (normalmente acoplado al gradiente de ion sodio producido por la bomba de sodio). En uno y otro caso se rigen por la misma relación que el transporte pasivo:

$$\frac{d[C_B]}{dt} = \frac{V_{max}[C_A]}{K_t + [C_A]}$$

Donde los símbolos tienen exactamente el mismo significado.

3.2.4.1 Transporte activo primario: ejemplos

Un ejemplo importante de transporte activo primario es la ya citada **Bomba de Sodio** (ATPasa Na^+/K^+ dependiente, **figura 3.11**). Se trata de un antiporte que bombea contra gradiente tres iones Na^+ desde el interior hacia el exterior celular al tiempo que dos iones K^+ son bombeados,

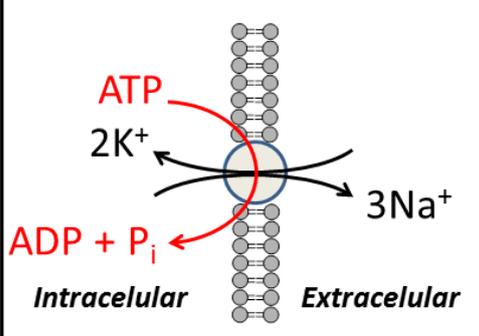
también contra gradiente, desde el exterior hacia el interior celular. Esta relación 3/2 está acoplada a la hidrólisis de un enlace rico en energía del ATP, y por tanto, es electrogénica, dado que elimina de forma neta carga electropositiva del interior de la célula.

Figura 3.11

Un ejemplo importante de Transporte Activo Primario:

Bomba de sodio: Es un antiporte que bombea tres iones de Na^+ desde el interior celular al exterior, al tiempo que dos iones K^+ se bombean en sentido opuesto (ambos contra gradiente), y acoplados a la hidrólisis de un enlace fosfoanhídrido del ATP.

La bomba de sodio explica la distribución asimétrica de iones a ambos lados de la membrana (145 mM Na^+ y 4 mM K^+ en el exterior frente a 10 mM Na^+ y 160 mM K^+ en el interior)



La energía requerida por la bomba de sodio supone aproximadamente **un tercio** de la energía total consumida por el organismo en condiciones basales.

La actividad de la bomba de sodio es inhibida por los **digitálicos**, fármacos ampliamente utilizados en el tratamiento de la insuficiencia cardíaca.

La bomba de sodio es en último término responsable de la diferencia de potencial que existe entre el interior y el exterior celular (en torno a -90 mV en células nerviosas, electronegativo el interior). Este potencial, a su vez, varía con las condiciones de excitabilidad de la célula; de manera que las células excitables (neuronas y células musculares) dependen también de la bomba de sodio para mantener su funcionalidad. Por ello no es extraño el hecho de que la bomba de sodio consuma un tercio de la energía total producida por el organismo en condiciones basales; y el hecho de que el cerebro, no suponiendo más que un 2 % de la masa total del organismo, consuma el 15 % de la energía producida en tales condiciones.

La actividad de la bomba de sodio puede ser inhibida por los fármacos denominados **cardiotónicos**, entre los cuales destacan los **digitálicos** (glicósidos extraídos de plantas como *Digitalis purpurea* o *Digitalis lanata*). Estos fármacos están indicados (y se emplean ampliamente) en la insuficiencia cardíaca, ya que mejoran el inotropismo (contractilidad) y el dromotropismo (conductividad) cardíacos. Su uso se remonta nada menos que a los antiguos egipcios, aunque su estudio científico se hizo a partir de las observaciones de **Withering** en la Inglaterra del siglo XVIII. Los cardiotónicos estimulan las funciones cardíacas gracias a un aumento en la concentración intracelular de Na^+ . En esas condiciones, se estimula también el intercambio $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$; un aumento intracelular de Ca^{++} mejora la contractilidad del músculo cardíaco.

Hay muchos otros sistemas de transporte activo dependiente de ATP que generalmente están relacionados con la translocación de iones a uno y otro lado de la membrana. La bomba de sodio pertenece al grupo **ATPasas tipo P**; a este mismo grupo pertenecen la **bomba protónica del estómago** (ATPasa Na^+/H^+ dependiente), encargada de la secreción de protones hacia la luz

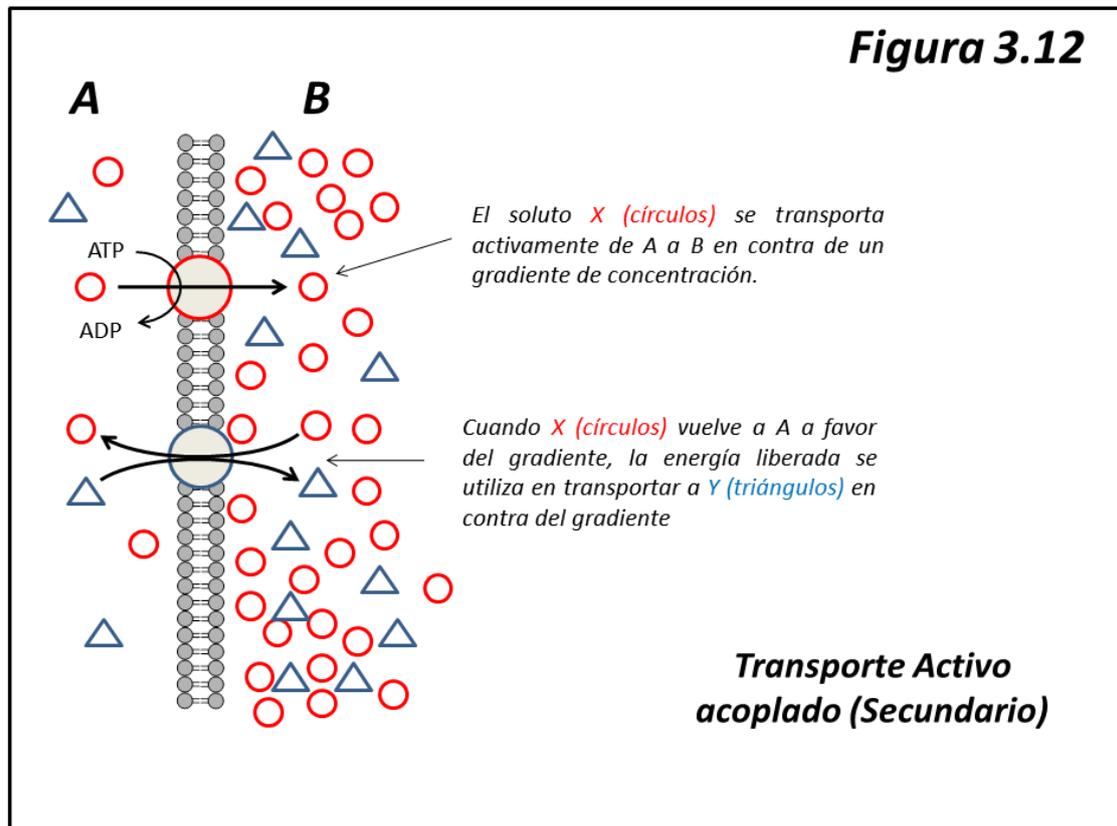
gástrica (intercambiando H^+ por Na^+) y la **bomba de Ca^{++} del retículo sarcoplásmico** (ATPasa Ca^{++} -dependiente) que mantiene retenido el Ca^{++} en las vesículas de éste manteniendo baja su concentración citoplásmica.

Dentro del grupo de **ATPasas tipo V** encontramos la **bomba protónica lisosomal**, que acidifica el interior de los lisosomas favoreciendo así la actividad de las enzimas líticas presentes en estas organelas.

En cuanto a las **ATPasas tipo F**, representan más bien la actividad contraria: generan ATP aprovechando la energía generada por un gradiente protónico. Así, el complejo F_0F_1 de la membrana mitocondrial interna pertenece a este grupo (ver cap. 5).

3.2.4.2 Transporte activo secundario: ejemplos

Un ejemplo de transporte activo secundario (figura 3.12) es la absorción intestinal de glucosa.

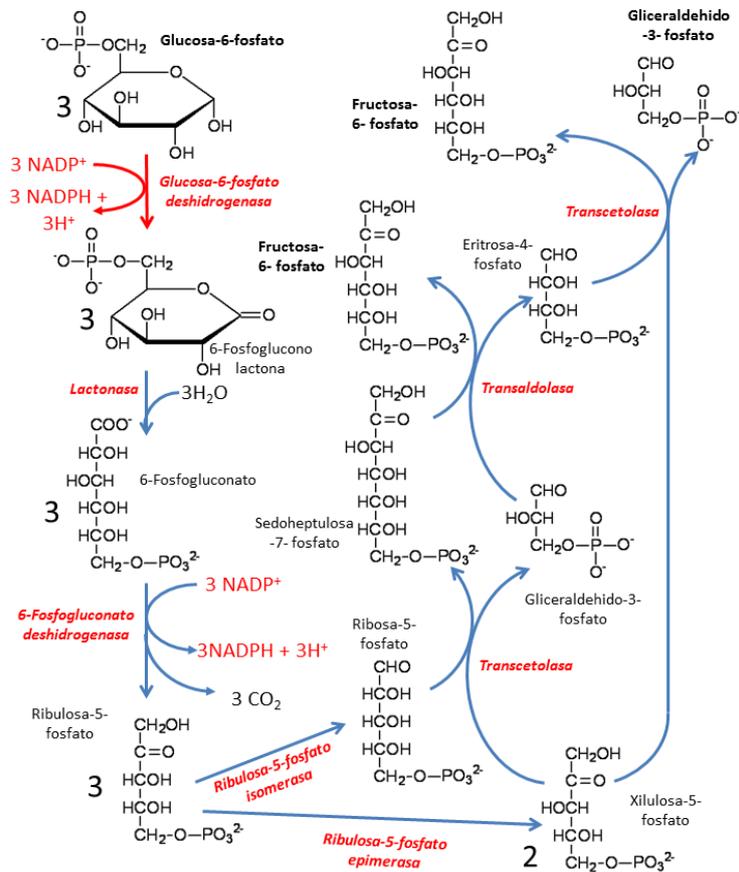


La glucosa está en el interior de las células de la mucosa intestinal a una concentración mayor que en la luz intestinal; su absorción requiere, pues, un transporte activo. En este caso se trata de un transporte activo secundario (sodio-dependiente) ya que la energía es suministrada en este caso por la presencia del gradiente de sodio producido por la bomba. La translocación de una molécula de glucosa está acoplada al transporte (a favor de gradiente) de un ion de sodio desde la luz intestinal hacia el interior del enterocito. Un transporte similar tiene lugar en los túbulos renales, donde se reabsorbe activamente glucosa gracias al gradiente de sodio. Cuando la glucosa alcanza una concentración crítica, el sistema se satura y la glucosa aparece entonces en orina (glucosuria); en condiciones normales la glucosuria es negativa (es decir, en la orina normal nunca aparece glucosa).

Otros sistemas de transporte activo secundario, ligados al gradiente de sodio, son el transporte de aminoácidos desde la luz intestinal al interior del enterocito, y el antiporte $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$ presente en las células musculares miocárdicas y responsable de la acción inotrópica de los cardiotónicos digitálicos.

En el capítulo 10 de esta misma obra (Metabolismo de iones inorgánicos) podemos encontrar una discusión algo más avanzada sobre bombas de transporte iónico.

CAPÍTULO 4: Metabolismo de Hidratos de Carbono



El estudio detallado del metabolismo suele dividirse según los grandes apartados de biomoléculas: metabolismo de Hidratos de Carbono, de Lípidos, de Aminoácidos y Proteínas, de Nucleótidos y Ácidos Nucleicos. Normalmente esto se hace así porque lo que hemos definido como fases I y II del metabolismo en el capítulo anterior están lo suficientemente compartimentadas como para permitir el estudio de las mismas por separado. Por razones probablemente históricas, prácticamente todos los manuales de Bioquímica comienzan por el estudio del metabolismo de los Hidratos de Carbono y a continuación se estudia del metabolismo Intermediario (la fase III, común a todas las biomoléculas). Esta obra no es excepción.

A lo largo de los siguientes capítulos estudiaremos por separado el metabolismo degradativo (catabolismo) y el metabolismo biosintético (anabolismo). Lo hacemos así para dejar claro que uno no es simplemente la reversión del otro. Comenzaremos por la vía glucolítica para seguir con la glucogenólisis, el catabolismo de hexosas y la vía pentosa-fosfato; y a continuación, las vías biosintéticas: neoglucogénesis y síntesis de glucógeno.

4.1 Glucolisis

4.1.1 Introducción

Con el nombre de **Glucolisis** o **Glicolisis** conocemos el proceso metabólico de degradación anaeróbica de glucosa. Hay dos cuestiones de nomenclatura importantes a este respecto: Una es que tanto el término Glucolisis como el término Glicolisis (a veces también *Glucólisis* o *Glicólisis*) se refieren al mismo proceso; la diferencia entre ambos deriva de la incapacidad en español de transcribir correctamente la letra griega u (úpsilon); el término correcto sería en realidad *Glycolysis* (que coincide con la denominación en inglés), pronunciando la Y a la manera de la francesa U. En segundo lugar hay quien distingue entre “glucolisis anaerobia” y “glucolisis aerobia”. Para nosotros, tal como hemos adelantado en la definición, glucolisis se refiere únicamente al proceso anaerobio. La degradación aeróbica de la glucosa exige entrar en otras vías metabólicas (en concreto, el ciclo de Krebs) que son comunes con otras biomoléculas, como lípidos y aminoácidos. Por esta razón los procesos aeróbicos se estudian bajo el epígrafe de “Metabolismo intermediario”, dando a entender su carácter de vía final (o inicial) común a todas las biomoléculas y no sólo a los carbohidratos (lo que llamábamos en un capítulo anterior Fase III del metabolismo)

La glucolisis es un proceso que podemos encontrar, casi sin excepción, en todo tipo de célula viviente. Desde las más sencillas, del tipo de *Mycoplasma*, *Rickettsia* o *Chlamydia*, procariotas cuya estructura celular representa un mínimo, hasta complejas neuronas del sistema nervioso de mamíferos, pasando por eucariotas unicelulares de gran complejidad citológica, como *Paramecium* o *Trypanosoma*, todas ellas son capaces de degradar anaeróticamente glucosa. Sin duda, pues, es el proceso metabólico más general que podemos encontrar en la biosfera, y como veremos, su estructura es notablemente similar, casi idéntica, en todos los organismos estudiados. A esta característica hemos de añadir otra de gran importancia en los organismos llamados superiores: células de un alto grado de diferenciación ontogénica, como las neuronas del sistema nervioso o los hematíes de la sangre, utilizan casi exclusivamente glucosa como combustible celular; en el primer caso, a través de glucolisis y su posterior continuación aeróbica; en el segundo, exclusivamente anaeróbica (es notable la paradoja de que el metabolismo de las células transportadoras de oxígeno en sangre, los hematíes, sea estrictamente anaerobio).

En otro orden de cosas, la glucolisis es un proceso de extraordinaria importancia biotecnológica. Desde el Neolítico la Humanidad conoce y practica los procesos de **fermentación**, mediante los cuales obtenemos alimentos tales como el pan, el vino o la cerveza. Todos ellos tienen su fundamento en la vía glucolítica. No cabe exagerar la importancia social y económica de estos procesos. De hecho, como veremos, fue su estudio científico el que dio con las claves básicas del proceso; y por razones históricas, su estudio constituyó el punto de partida metodológico del conocimiento de todas las demás vías metabólicas.

4.1.2 Historia

Conocidos de forma empírica desde el Neolítico, los procesos fermentativos de producción de pan, vino y cerveza han formado una parte destacada de la historia económica de la

Humanidad. Todos ellos parten de una fuente rica en carbohidratos (zumo de uva, malta de cebada, harina de trigo, etc.) a la que se añade un componente de naturaleza no aclarada por aquel entonces (la levadura) y con el transcurso del tiempo se obtiene el producto deseado. En el caso de la producción de vino, se observa durante el proceso fermentativo un burbujeo constante de gas, lo que dio en principio nombre al proceso: *Fermentación*, del latín *fervere*, hervir.

Hacia finales del siglo XVIII, este proceso comenzó a recibir atención científica. En 1779 la Academia de Ciencias de Francia estableció un premio consistente en una libra de oro para el trabajo que arrojara luz sobre el hasta entonces misterioso proceso químico. Aunque este premio fue retirado en 1793, no hay duda de que contribuyó decisivamente a nuestro actual conocimiento sobre las fermentaciones y sobre la glucólisis.

J.L.Gay-Lussac (1778-1850) reconoció como productos el etanol y el CO₂, aunque sus datos no establecieron la estequiometría del proceso. **C.Cagniard-Latour** (1777-1859) sugirió la naturaleza celular de la levadura, estimando su diámetro en 6-7 μm y observando el proceso de gemación. Igualmente demostró las diferencias entre la levadura de cerveza y la del vino; desde el punto de vista químico, comprobó el requerimiento de compuestos nitrogenados en el proceso. Observaciones similares fueron llevadas a cabo por **F.T.Kützing** (1807-1893) y por **T.Schwann** (1810-1882).

Justus von Liebig (1803-1873), junto con **F.Wöhler** (el autor de la síntesis de urea) consideraban la levadura como una sustancia química "inestable" que al comunicar al azúcar su inestabilidad lo degradaba a alcohol. Esto entraba en contradicción con el punto de vista sostenido por Schwann, Kützing y Cagniard-Latour, es decir, la naturaleza celular de la levadura. Por tanto se planteó la cuestión de si las fermentaciones dependían de la propia calidad "viviente" de la célula o bien se trataba de un componente "inanimado" de la misma. Liebig defendía esta última postura, mientras que Schwann sostenía la primera.

Una brillantísima serie experimental llevada a cabo por **Louis Pasteur** (1822-1895) pareció dar la razón enteramente a Schwann. En 1860 escribía lo siguiente:

"...El acto químico de la fermentación es esencialmente un fenómeno correlativo a un acto vital, que comienza y termina con éste. Creo que la fermentación alcohólica no puede tener lugar si no viene acompañada de la organización, desarrollo y multiplicación de las células, o bien de la vida continua de las células ya formadas"

A consecuencia de este punto de vista, se estableció la distinción entre *fermentos organizados* (o formes), de los que la levadura era el ejemplo, y *fermentos no organizados* (o informes) como la *diastasa*, *pepsina*, *emulsina*, *invertasa*, etc. (descubiertos como catalizadores de reacciones concretas y específicas, y cuya lista iba en aumento), que podían ser extraídos de las células. Precisamente para evitar esta complicada nomenclatura, **Kühne** introdujo en 1878 el término "enzima" (literalmente, "en la levadura") para denominar los hasta entonces conocidos como "fermentos no organizados", indicando así que estaban dentro de la célula, pero que no eran la célula.

El punto de vista de Pasteur prevaleció momentáneamente, a pesar de que algunas voces se alzaron en contra (en particular las de **Claude Bernard**, **Berthelot** y **Traube**; citamos a este último (1878):

"...Los fermentos no son, como creía Liebig, sustancias inestables que transmiten a materiales normalmente no reactivos su vibración química, sino que son sustancias químicas, relacionadas con las proteínas y que como todas las demás sustancias poseen una estructura química definida... La hipótesis propuesta por Schwann y Pasteur de que la fermentación ha de ser considerada como expresión de la actividad vital de los organismos inferiores no es satisfactoria... Los fermentos son la causa de los procesos químicos vitales no sólo en los organismos inferiores, sino también en los superiores".

En 1897 **E. Büchner** (1860-1917) dio con la clave final al preparar un extracto acelular de levadura capaz de fermentar azúcar, lo que echó por tierra la teoría celular de la fermentación (y todo el vitalismo que implicaba); la totalidad del proceso fermentativo podía ser llevada a cabo por enzimas individuales en el sentido de los definidos por Kühne (es decir, los "no organizados").

Y por fin, **Arthur Harden** y **William J. Young** utilizaron el sistema acelular de Büchner mediante una metodología que pasó a ser clásica en todos los estudios metabólicos; resumimos a continuación algunos de sus hallazgos:

1. El sistema acelular capaz de fermentar glucosa puede descomponerse en dos componentes básicos:

- Un componente termolábil (inactivado por el calor) y no dializable (es decir, de alto peso molecular), a la que este autor dio el nombre de *zimasa*
- Un componente termoestable y dializable (de bajo peso molecular), al que llamó *cozimasa*

2. El proceso depende enteramente de la presencia de fosfato inorgánico (ortofosfato)

3. El tratamiento del sistema con *arseniato* (AsO_3^{3-}) inhibe enteramente la fermentación acelular; bajo estas condiciones se puede aislar del sistema el compuesto *fructosa-1,6-bisfosfato* (Éster de Harden-Young)

Podemos interpretar estos resultados bajo la óptica de lo que hoy conocemos sobre el proceso glucolítico. La *zimasa* de Harden es el conjunto de enzimas que catalizan las doce reacciones del proceso de fermentación alcohólica. La *cozimasa* son las coenzimas necesarias en el proceso: NAD^+ , ATP, ADP, fosfato, etc. El fosfato se requiere porque la mayoría de los intermediarios en el proceso son ésteres fosfóricos (como el propio éster de Harden y Young). El arseniato, análogo de fosfato, inhibe específicamente a la enzima Gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa, y de ahí la acumulación de un metabolito proximal al punto de inhibición, fructosa-1,6-bisfosfato.

Los estudios llevados a cabo por Arthur Harden constituyeron el paradigma clásico de estudio de las distintas vías metabólicas: Un sistema acelular sometido a diversas condiciones experimentales como calor, inhibidores, diálisis, etc.

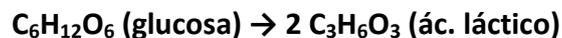
El estudio ulterior de este sistema es el que permitió unos años más tarde a **Embden**, **Meyerhof**, **Parnas** y otros enumerar una a una todas las enzimas y reacciones de la fermentación alcohólica, que con poquísimas variaciones, es el esquema aceptado universalmente hoy día.

4.1.3 Fermentación alcohólica y fermentación láctica

La estequiometría de la fermentación alcohólica es la siguiente:



El número de organismos capaces de llevar a cabo la fermentación alcohólica es relativamente limitado: unos cuantos hongos unicelulares (levaduras, principalmente del género *Saccharomyces*) y determinadas bacterias. En la mayoría de los organismos (en la totalidad de los animales, por ejemplo), el proceso glucolítico no termina en etanol, sino en **ácido láctico**, sin que haya desprendimiento de CO_2 ; en este caso se trata de



Por lo cual hablamos de **fermentación láctica**, y en este caso concreto, de **fermentación homoláctica** (ya que en el proceso se producen dos moléculas de ácido láctico). Este tipo de glucolisis es el que estudiaremos nosotros. Algunos microorganismos presentan la llamada **fermentación heteroláctica**, en la que se produce una molécula de ácido láctico, una de etanol y una de CO_2 .

Además de ser la vía glucolítica propia de organismos superiores como el humano, la fermentación láctica tiene también muchísimas aplicaciones biotecnológicas, tales como la producción de yogur y de *sauerkraut*, llevada a cabo por microorganismos como *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, etc.

Ahora bien: hasta ahora nos hemos fijado en productos “finales” que son en realidad productos de desecho: el etanol y el ácido láctico. Porque la función principal de la vía glucolítica es la producción de energía en forma de ATP. En este sentido, una estequiometría más cercana a la realidad de la célula sería la siguiente:



(Donde Pi representa ortofosfato inorgánico)

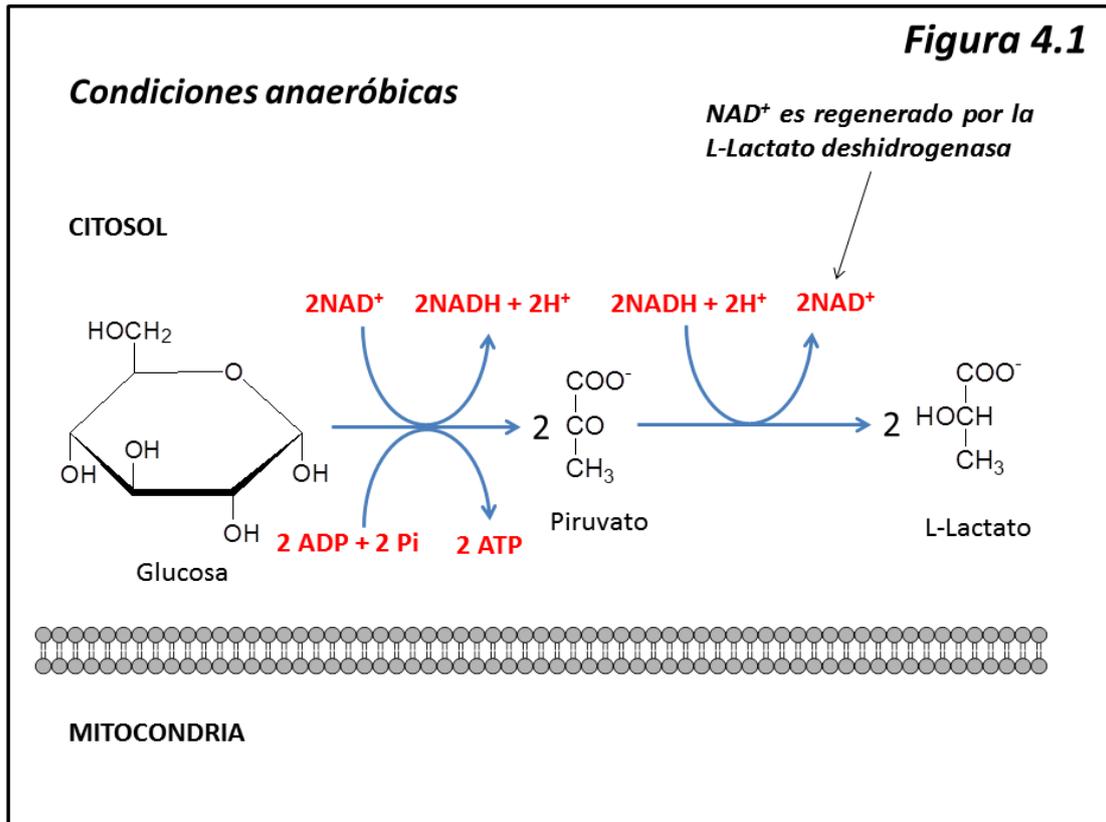
De manera que la energía derivada de la fermentación láctica de la glucosa se aprovecha en forma de dos moles de ATP por mol de glucosa.

A partir de ahora, mientras no se especifique lo contrario, nos referiremos a la fermentación homoláctica como sinónimo de glucolisis.

4.1.4 Condiciones anaeróbicas y aeróbicas

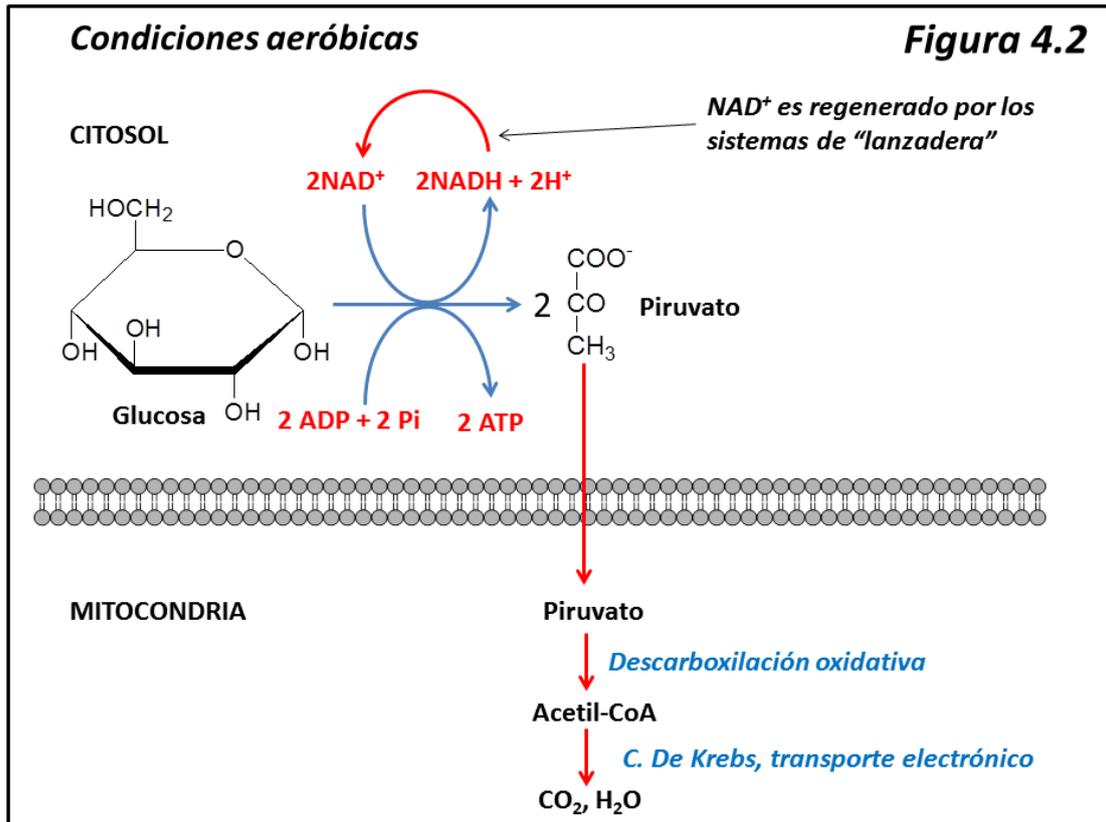
La glucolisis es una vía metabólica que en su totalidad se lleva a cabo en el citoplasma celular.

La [figura 4.1](#) nos muestra un resumen del proceso glucolítico en condiciones anaeróbicas.



La molécula de glucosa es escindida en dos moléculas de **piruvato** al tiempo que (a) tiene lugar una producción neta de dos moléculas de ATP a partir de dos moléculas de ADP y otras dos de fosfato inorgánico, y (b) la coenzima NAD^+ es reducida a NADH con liberación de un protón, H^+ . A continuación, y en la última reacción de la secuencia, catalizada por la enzima **lactato deshidrogenasa** (EC 1.1.1.27), el NAD^+ es regenerado en el momento en que piruvato es reducido a lactato. Esta última reacción, por tanto, tiene por objeto únicamente la regeneración de NAD^+ . De no ser así, la glucólisis se detendría pues no hay otras fuentes citoplásmicas de esta coenzima, y por otra parte, la membrana mitocondrial es impermeable a la misma.

En condiciones aeróbicas, el piruvato ingresa en la mitocondria donde a través del proceso de **descarboxilación oxidativa** produce **acetil-CoA** que ingresará en el *ciclo de Krebs* para su degradación aeróbica (figura 4.2).

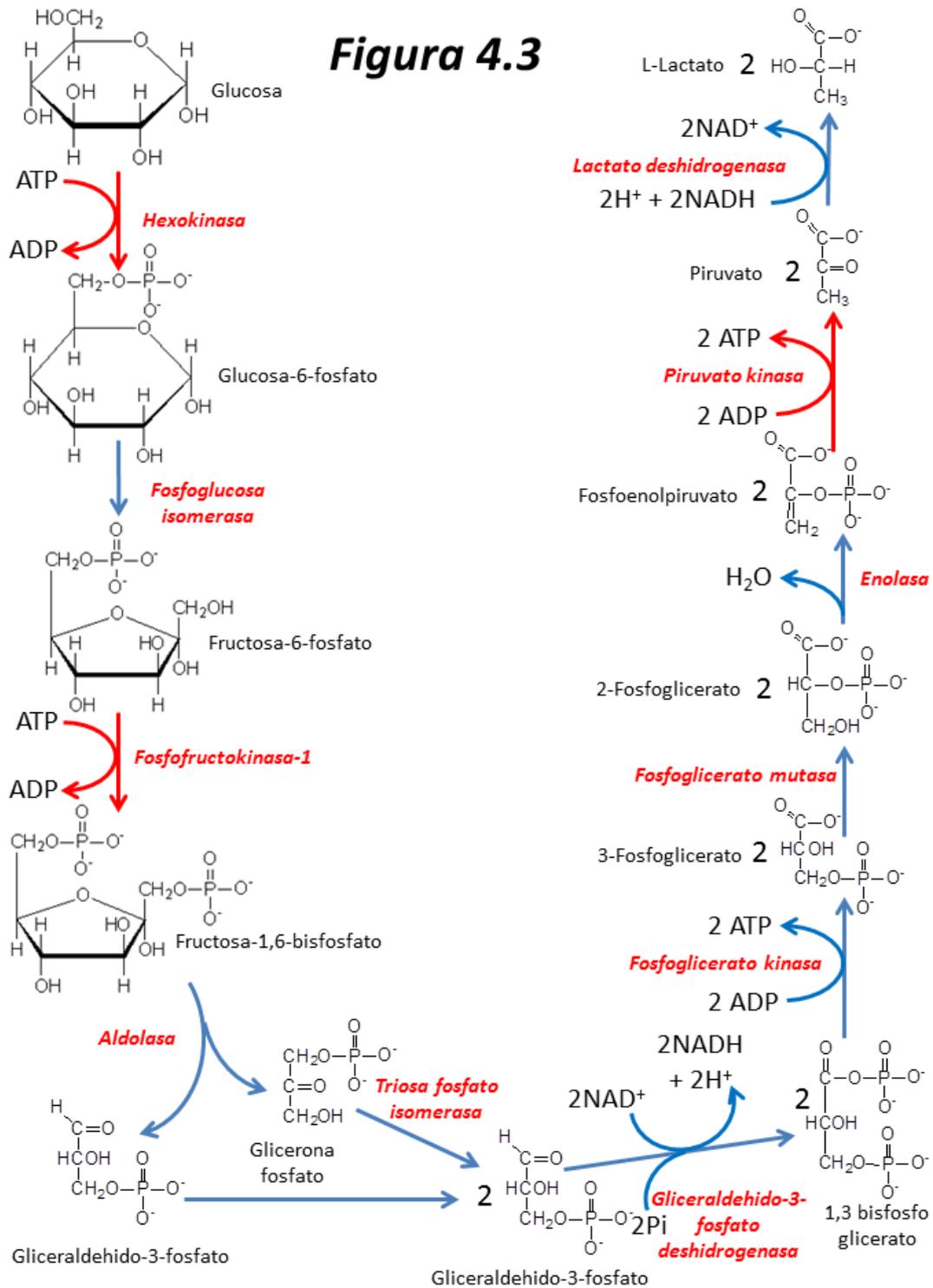


En este caso, pues, el NAD^+ producido en la glucólisis no se regenera y la glucólisis llegaría a detenerse; no es éste el caso, porque el NADH se reoxida a NAD^+ a través de los llamados **sistemas de lanzadera**, mediante los cuales los equivalentes de reducción del NADH pasan a la mitocondria por vías indirectas, dada la impermeabilidad de la membrana mitocondrial interna hacia estas coenzimas. Allí serán oxidados a NAD^+ gracias al sistema de transporte electrónico mitocondrial, y aquél, a su vez, y nuevamente por vías indirectas (las lanzaderas) volverá a ser regenerado en el citoplasma, según veremos en el capítulo siguiente de esta obra.

4.1.5 Secuencia de reacciones

La fermentación láctica consta de once reacciones distintas, cada una de ellas catalizada por una enzima específica. La secuencia completa aparece en la [figura 4.3](#).

Figura 4.3



Se suelen distinguir dos fases en la secuencia glucolítica: Una, que podríamos llamar **fase preparativa**, y otra, como fase **resolutiva** (*pay-off phase*). En la primera, la glucosa es activada por fosforilación dos veces para rendir fructosa-1,6-bisfosfato, que a su vez se escinde en dos triosas-fosfato (glicerona fosfato y gliceraldehido-3-fosfato); en la segunda, las triosas fosfato generan enlaces ricos en energía que son transferidos al ADP para formar ATP. De esta forma el balance energético de la glucolisis queda establecido como: (a) dos ATP empleados en la fase resolutiva y (b) cuatro ATP formados en la fase resolutiva, con lo que se obtiene un beneficio energético neto de 2 ATP por molécula de glucosa. Como veremos, este beneficio

energético se ve muy incrementado cuando consideramos la degradación *aeróbica* de la glucosa.

Al mismo tiempo, tiene lugar la reducción de dos equivalentes de NAD^+ a NADH que posteriormente serán reoxidados en la última reacción de la fermentación láctica, catalizada por la **lactato deshidrogenasa**.

Debemos tener en cuenta que ésta es una forma arbitraria de definir la glucólisis. En realidad, el primer paso comprometido en la degradación de la glucosa es la fosforilación de fructosa-6-fosfato para dar fructosa-1,6-bisfosfato, que estudiamos tradicionalmente como el paso nº 3. Hasta entonces, la glucólisis puede ser origen de otras vías metabólicas, como por ejemplo la formación de glucógeno, la ruta pentosa-fosfatos o la interconversión de hexosas. Sólo a partir del intermediario citado, fructosa-1,6-bisfosfato, la glucosa queda definitivamente comprometida con su degradación. Por esa razón, y desde el punto de vista de la fisiología celular, deberíamos considerar a esta reacción nº 3 como en realidad la primera reacción puramente glucolítica; veremos también como la principal regulación alostérica de esta vía tiene lugar al nivel de esta tercera enzima.

Cuando consideramos las concentraciones de estado estacionario de los distintos intermediarios glucolíticos ([figura 4.3](#)) en la célula (datos de hematíe humano, [tabla I](#)) se puede apreciar que de las once reacciones, ocho están aproximadamente en equilibrio mientras que las otras tres están lejos de su equilibrio termodinámico.

Tabla I

Concentración de estado estacionario de intermediarios glicolíticos (hematíe humano)

Intermediario	Conc. (mM)
Glucosa	5.0
Glucosa-6-fosfato	0.083
Fructosa-6-fosfato	0.014
Fructosa-1,6-bisfosfato	0.031
Gliceraldehido-3-fosfato	0.019
Glicerona fosfato	0.14
1,3-bisfosfoglicerato	0.001
3-Fosfoglicerato	0.12
2-Fosfoglicerato	0.03
Fosfoenolpiruvato	0.023
Piruvato	0.051
ATP	1.85
ADP	0.14
Pi (fosfato inorgánico)	1.0

Estas reacciones lejos del equilibrio son (a) la reacción nº 1, catalizada por la **hexokinasa**, que representa la activación de la glucosa; (b) la reacción nº 3, catalizada por la **fosfofructokinasa**, que es la reacción a la que aludíamos más arriba como primera reacción comprometida con la glucólisis; y la reacción nº 10, catalizada por la **piruvato kinasa**. Como veremos, estas tres reacciones lejos del equilibrio son precisamente las tres reacciones reguladas alostéricamente en la secuencia glucolítica. Al estar lejos del equilibrio, estas reacciones son consideradas como irreversibles (pero solamente desde el punto de vista cinético; desde el punto de vista termodinámico, todas las reacciones enzimáticas son reversibles).

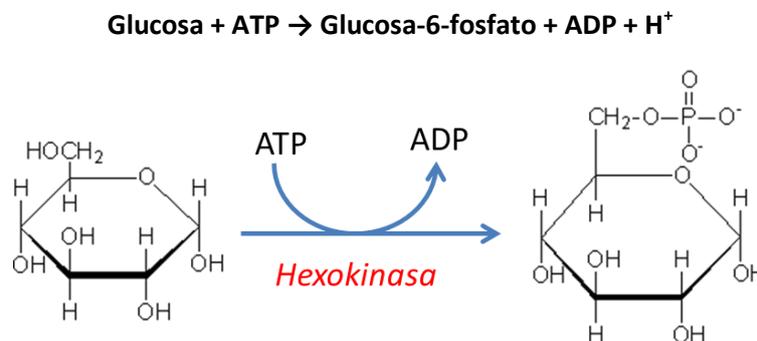
Reacción 1: Activación de glucosa: hexokinasa (EC 2.7.1.1)

La glucosa entra en la célula gracias a los diferentes mecanismos de transporte que hemos visto en el capítulo anterior. Considerando el hematíe como un buen modelo para el estudio de la glucólisis, encontramos que la glucosa intracelular aparece a una concentración idéntica a la del medio extracelular (5 mM). Sin embargo, no podemos generalizar esta afirmación a otros órganos o tejidos.

La glucosa es transformada en el éster fosfórico **glucosa-6-fosfato** por acción de la enzima **hexokinasa**. Glucosa-6-fosfato es el metabolito activo de la glucosa, pudiendo ser encaminado hacia distintas rutas metabólicas: (a) La secuencia glucolítica propiamente dicha, que estudiamos en este apartado; (b) la ruta pentosa-fosfato; (c) la síntesis de glucógeno. Estos tres destinos nos indican los principales usos que la célula da a la glucosa. En el caso de (a) producción de energía en forma de ATP; en el caso (b) la generación de poder reductor en forma de NADPH, utilizado en síntesis citoplásmicas (ácidos grasos, colesterol, etc.) o en reducciones de “mantenimiento” (p.e., reducción de metahemoglobina a hemoglobina, procesos de detoxificación, etc.); en el caso (c), el almacenamiento de glucosa como reserva energética, en forma del polisacárido **glucógeno**, en momentos de exceso de aporte de glucosa.

La Hexokinasa es una enzima ampliamente distribuida en todos los seres vivos y en todos los tejidos diferenciados. Al tener la glucosa-6-fosfato destinos metabólicos distintos, no es extraño que nos encontremos con diversas **isoenzimas** de la hexokinasa.

La reacción catalizada por la hexokinasa es

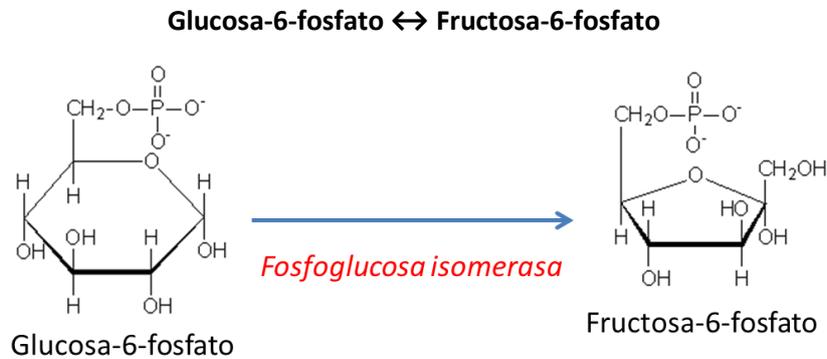


Por lo general, esta enzima es capaz de fosforilar muchas otras hexosas además de glucosa; de ahí su nombre usual. Sus diversas isoenzimas reflejan las distintas necesidades metabólicas de los tejidos. Así, la hexokinasa I (cerebro de mamífero) presenta una K_m muy baja, del orden μM , indicativa de lo importante que es para este órgano la captación rápida de glucosa; mientras que la hexokinasa IV, característica del hígado, presenta una K_m muy alta, del orden mM, de tal manera que sólo funciona significativamente ante altas concentraciones de glucosa, que son las que se dan en este órgano en las condiciones de una absorción digestiva activa y un aporte abundante de glucosa procedente de la circulación portal. Esta isoenzima, hexokinasa IV, es conocida también como glucokinasa, dado que, a diferencia de otras hexokinases, solamente es activa sobre glucosa y no sobre otras hexosas.

La Hexokinasa es una enzima sometida a controles alostéricos. Muestra cooperatividad positiva hacia los substratos glucosa y ATP, y el producto de la reacción, glucosa-6-fosfato, inhibe alostéricamente a la enzima. Estos efectos no aparecen en la hexokinasa IV o glucokinasa. El significado funcional de esta regulación será discutido más adelante.

Reacción 2: Fosfoglucosa isomerasa (EC 5.3.1.9)

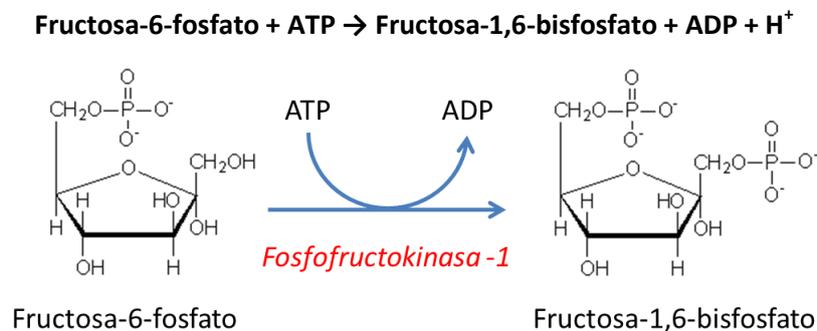
En la siguiente reacción de la secuencia, glucosa-6-fosfato se transforma en **fructosa-6-fosfato**, en una reacción catalizada por la **fosfoglucosa isomerasa**. Esta reacción está prácticamente en equilibrio y no está sometida a ningún tipo de regulación.



Reacción 3: Segunda fosforilación; Fosfofructokinasa-1 (EC 2.7.1.11)

A continuación, el éster fructosa-6-fosfato es fosforilado en el grupo alcoholístico del carbono 1 a fructosa-1,6-bisfosfato, siendo esta reacción catalizada por la enzima **fosfofructokinasa-1**. Este nombre se debe a la existencia de otra enzima, la **fosfofructokinasa-2**, que como veremos tiene un papel fundamental en la regulación de la glucólisis.

La reacción catalizada es



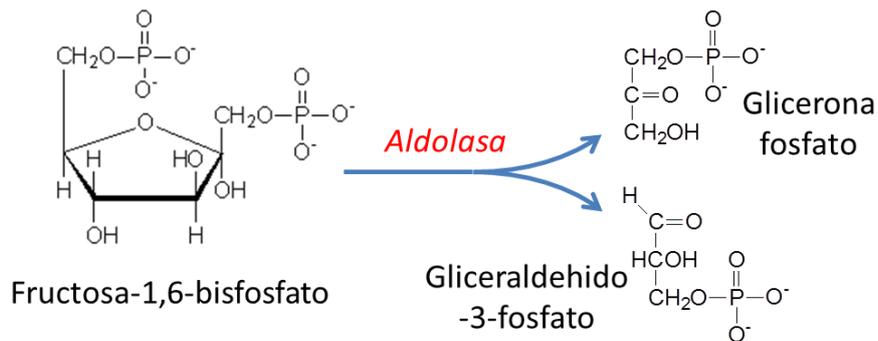
En la que las concentraciones de sustratos y productos medidos en el interior de las células nos indican, como en el caso de la hexokinasa, que es una reacción lejos del equilibrio, y por tanto, cinéticamente irreversible.

La reacción de la fosfofructokinasa-1 es, según vimos más arriba, la primera reacción *comprometida* en la degradación glucolítica de la glucosa. No es extraño, por tanto, que se trate de una enzima fuertemente regulada. Así, encontramos cooperatividad positiva en la fijación de sustratos y efectos heterotrópicos mediados por (a) inhibidores alostéricos como ATP, citrato y NADH y (b) activadores alostéricos como ADP, AMP y fructosa-2,6-bisfosfato. El significado de estas regulaciones es muy claro desde el punto de vista fisiológico. ATP, citrato y NADH son indicadores de un estado energético alto en la célula; mientras que ADP y AMP representan un estado energético bajo. En lo que respecta a fructosa-2,6-bisfosfato, es, como veremos, un producto de la fosfofructokinasa-2 (EC 2.7.1.105), enzima cuyo papel es el de coordinar la regulación celular de la glucólisis con la regulación sistémica del metabolismo de glucosa (mediada por las hormonas **insulina y glucagón**)

El hecho de que uno de sus productos (ADP) funcione al mismo tiempo como activador alostérico de la enzima es un ejemplo de **retroalimentación positiva** (a diferencia de lo que vemos en muchas otras rutas metabólicas, que es **retroalimentación negativa**). Desde el punto de vista dinámico, se constituye así un sistema en el que son posibles fenómenos de **metaestabilidad**, tales como comportamientos oscilatorios estables. De hecho se observan en determinados sistemas glucolíticos (en la levadura, p.e.) comportamientos oscilatorios en esta ruta metabólica, que muy probablemente son debidos a la metaestabilidad inherente a este particular sistema enzimático.

Reacción 4: Escisión a triosas-fosfato; Aldolasa (EC 4.1.2.13)

En el siguiente paso glucolítico, la fructosa-1,6-bisfosfato se escinde en dos triosas fosfato: **Glicerona fosfato** (también llamada **Dihidroxiacetona fosfato**) y **Gliceraldehido-3-fosfato**, reacción catalizada por la enzima **Aldolasa**:



La reacción es fácilmente reversible y su equilibrio se sitúa a favor de la hexosa-bisfosfato, por lo que la reacción tiene lugar preferentemente como **condensación aldólica** (alcohol + aldehído, de donde le viene el nombre a la enzima), aunque en la célula la reacción tiene lugar en el sentido de la escisión, debido a la rapidez de eliminación del gliceraldehido-3-fosfato por la gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa.

Llegados a este punto conviene seguir el rastro de los distintos carbonos de la glucosa. Como puede apreciarse en la **figura 4.4**, los tres primeros carbonos de la fructosa-1,6-bisfosfato (que corresponden, a su vez, con los tres primeros carbonos de la glucosa inicial) dan origen a la glicerona-fosfato, mientras que los tres últimos se convierten en gliceraldehido-3-fosfato.

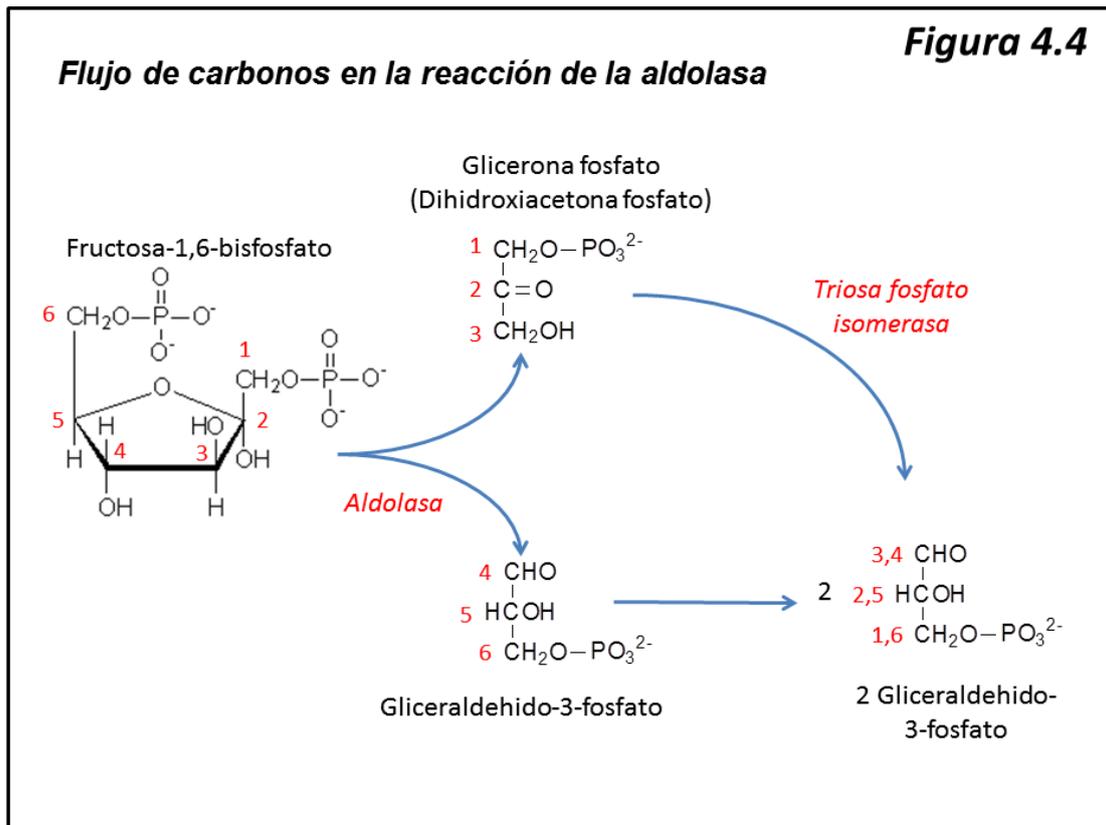
Reacción 5: Triosa fosfato isomerasa (EC 5.3.1.1)

Esta enzima cataliza la conversión fácilmente reversible entre las dos triosas fosfato producidas en la reacción anterior. El equilibrio de esta reacción favorece a la glicerona fosfato; pero dado que el gliceraldehido-3-fosfato es rápidamente atacado por la siguiente enzima, podemos considerar que su sentido principal es





Esta conversión se realiza como aparece en la **figura 4.4**, esto es, el carbono sn-3 de glicerona fosfato (el carbono esterificado a fosfato, que corresponde al carbono 1 de la fructosa-1,6-bisfosfato) pasa a ser el carbono 3 de la nueva molécula de gliceraldehido-3-fosfato formado por la acción de esta enzima.



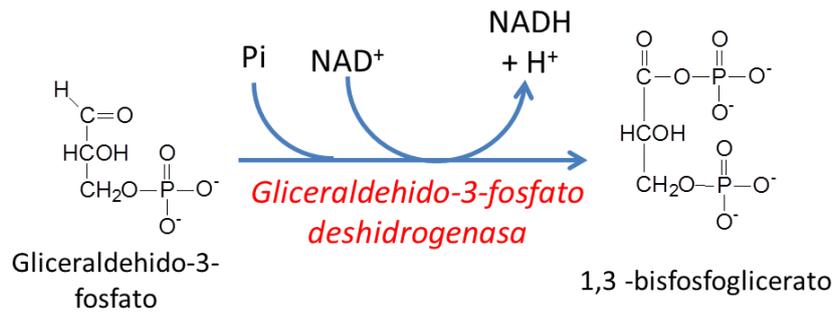
De esta manera, el flujo de carbonos en la glucólisis queda establecido de forma que el carbono 1 del gliceraldehido-3-fosfato procede de los carbonos 3 y 4 de la fructosa-1,6-bisfosfato (y por tanto, de la glucosa inicial); el carbono 2 procede de los carbonos 2 y 5 de las hexosas; y el carbono 3 (esterificado a fosfato), de los carbonos 1 y 6 (**figura 4.4**).

Como es lógico, a partir de este punto tenemos que considerar en cada reacción *dos* moléculas de los correspondientes intermediarios para mantener la estequiometría correcta de la glucólisis.

Reacción 6: Primera fosforilación; Gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa (EC 1.2.1.12)

Esta reacción representa un punto central en la secuencia glucolítica. La reacción catalizada por esta enzima es



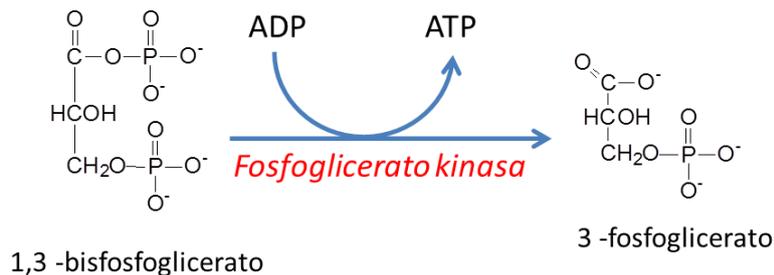


Donde Pi representa ortofosfato inorgánico ($\text{PO}_4\text{H}_2^-/\text{PO}_4\text{H}^{2-}$). La reacción tiene lugar en dos fases. Una es la oxidación a expensas de NAD^+ del grupo aldehído para dar un grupo ácido; y otra es la incorporación de fosfato inorgánico a este grupo ácido dando una configuración anhídrido de alta energía (glicerato-fosfato) que en la siguiente reacción será transferido al ADP para formar ATP.

La enzima posee un grupo $-\text{SH}$ en el centro activo que es vital para su actividad catalítica. Así, la inhibición de la glucólisis mediada por reactivos de grupos $-\text{SH}$ (yodoacetato, 4-hidroximercuribenzoato, etc.) se debe a la inhibición específica de esta enzima, con acumulación de todos los productos anteriores, y en particular, de fructosa-1,6-bisfosfato. El mismo efecto aparece ante el tratamiento con arseniato (AsO_3^{3-}) que compite con el fosfato; ésta fue la clave con la que **Harden** y **Young** pudieron describir por primera vez este paso como central en la glucólisis.

Reacción 7: Transferencia de fosfato al ADP; fosfoglicerato kinasa (EC 2.7.2.3)

El grupo fosfato de alta energía formado en la reacción anterior será a continuación transferido al ADP para formar ATP, en la reacción fácilmente reversible catalizada por la **fosfoglicerato kinasa**:



Se forman así dos moléculas de ATP por cada glucosa metabolizada; por tanto, al llegar a este punto, el balance energético de la glucólisis queda a cero: dos moléculas de ATP consumidas (hexokinasa y fosfofructokinasa-1) frente a dos moléculas de ATP producidas en esta reacción.

Reacción 8: Isomerización del 3-fosfoglicerato a 2-fosfoglicerato; fosfoglicerato mutasa (EC 5.4.2.1)

A continuación el grupo fosfato que esterifica al carbono 3 es transferido al carbono 2, en la reacción catalizada por la **fosfoglicerato mutasa**:

2 3-fosfoglicerato → 2 2-fosfoglicerato



A pesar de parecer una sencilla reacción monosustrato, la realidad es algo más compleja. Esta enzima utiliza como cofactor el 2,3 bisfosfoglicerato (2,3-BPG), de manera que la reacción tiene lugar en realidad como

3-fosfoglicerato + 2,3-bisfosfoglicerato → 2,3-bisfosfoglicerato + 2 fosfoglicerato

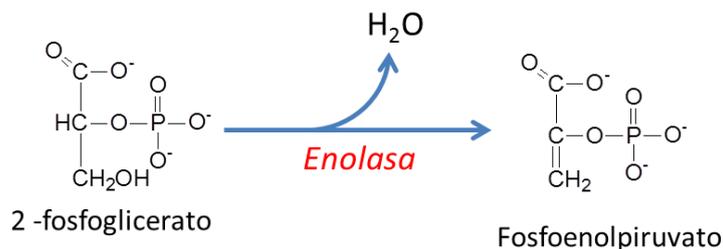
En la que vemos que se trata en realidad de una transferencia de fosfato desde el carbono 3 del bisfosfato al carbono 2 del 3-fosfoglicerato, quedando pues el bisfosfato convertido en 2-fosfoglicerato y el 3-fosfoglicerato en 2,3-bisfosfoglicerato.

El 2,3 bisfosfoglicerato aparece a altas concentraciones en el hematíe; y ante circunstancias de baja oxigenación (como por ejemplo en la aclimatación a la altura o en estados anémicos) se observa que su concentración aumenta. Esto es una adaptación que favorece el desprendimiento de oxígeno por parte de la hemoglobina, ya que el 2,3-BPG es un inhibidor alostérico de la hemoglobina (Biomoléculas, cap. 11 y Enzimología, cap. 8). En otras especies, esta función es llevada a cabo por inositol-fosfatos.

Reacción 9: Deshidratación y formación de enlace rico en energía; Enolasa (EC 4.2.1.11)

El 2-fosfoglicerato formado en la reacción anterior sufre una deshidratación para dar el compuesto fosfoenolpiruvato, en la reacción catalizada por la enzima **Enolasa**:

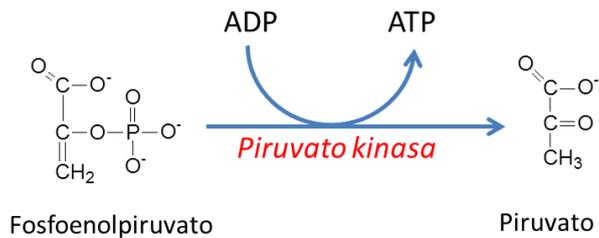
2 2-fosfoglicerato → 2 fosfoenolpiruvato + 2 H₂O



En esta reacción lo que era un éster fosfórico adquiere por deshidratación una estructura de anhídrido, siendo por tanto una configuración de alta energía de hidrólisis. Se trata de una reacción reversible, cercana al equilibrio.

Reacción 10: Transferencia de fosfato al ADP: Piruvato kinasa (EC 2.7.1.40)

La siguiente reacción en la secuencia glucolítica está catalizada por la enzima **piruvato kinasa**. Al igual que hexokinasa y fosfofructokinasa-1, esta reacción está muy lejos de su equilibrio a las concentraciones intracelulares de reactivos y productos. Por tanto, se considera cinéticamente irreversible. La reacción catalizada es

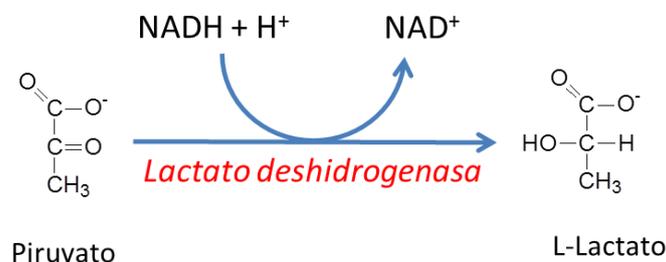


Al completarse esta reacción, el balance energético de la glucólisis se hace positivo; hasta el momento se han consumido dos moléculas de ATP (hexokinasa y fosfofructokinasa-1) y se han producido cuatro (dos en la reacción 7, fosfoglicerato kinasa, y otras dos en la presente reacción), con lo que queda un balance global de 2 ATP por molécula de glucosa.

Asimismo, esta enzima está sometida a regulación alostérica. Muestra cooperatividad positiva en la fijación de fosfoenolpiruvato y ATP; Es inhibida por ATP, citrato y NADH (indicadores de exceso energético) y es activada por el intermediario fructosa-1,6-bisfosfato, producto de la fosfofructokinasa-1, constituyendo un ejemplo de **feedforward regulation**, regulación hacia delante.

Reacción 11: Regeneración de NAD⁺; Lactato deshidrogenasa (EC 1.1.1.27)

La reacción 6, gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa, consume NAD⁺ que se emplea en la oxidación del gliceraldehido-3-fosfato. Si la glucólisis terminara en piruvato, se acumularía en el citoplasma NADH hasta que todo el NAD⁺ se agotara, momento en el cual la glucólisis se detendría. Se hace, pues, necesaria la regeneración de NAD⁺ a partir de NADH. Este cometido, en la fermentación láctica, lo tiene la enzima **Lactato deshidrogenasa**, que cataliza la reacción (fácilmente reversible):



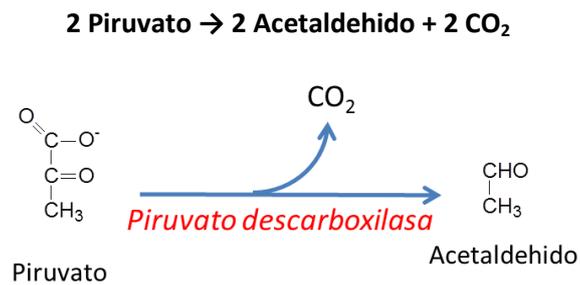
se trata de una enzima muy ampliamente distribuida. La enzima de mamífero es específica por el L-lactato, mientras que la enzima bacteriana suele operar sobre el D-lactato.

4.1.6 Fermentación alcohólica: otra manera de regenerar NAD⁺

En algunos hongos (levaduras, fundamentalmente del género *Saccharomyces*) la regeneración de NAD⁺ se consigue mediante la reducción del piruvato a etanol, alcohol etílico. Este proceso está catalizado por dos enzimas, la piruvato descarboxilasa y la alcohol deshidrogenasa:

Reacción 1: Piruvato descarboxilasa (EC 4.1.1.1)

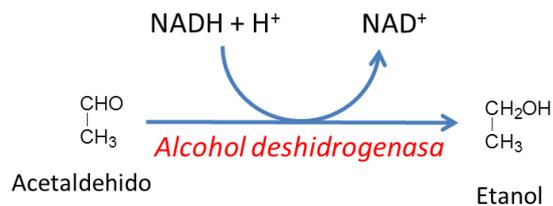
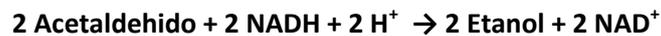
Esta reacción elimina el grupo carboxilo del piruvato que se desprende en forma de CO₂:



Esta enzima requiere como cofactor *tiamina pirofosfato*.

Reacción 2: Alcohol deshidrogenasa (EC 1.1.1.1)

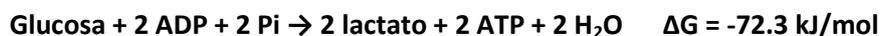
En esta reacción el acetaldehído se reduce a etanol a expensas de la oxidación de NADH, resultando así la regeneración de NAD⁺:



Con lo cual queda cerrada la degradación anaeróbica de la glucosa.

4.1.7 Balance energético de la glucólisis

La reacción global de la fermentación láctica es



El incremento negativo en energía libre es el observado a las concentraciones intracelulares de intermediarios que se encuentran en el hematíe. El proceso glucolítico conduce a la formación

de dos moléculas de ATP (que es la forma de energía directamente aprovechable por los procesos celulares). Este balance se obtiene de la siguiente manera:

R#	ATP consumido		R#	ATP producido		Total
1	Hexokinasa	-1	7	Fosfoglicerato kinasa	+2	
3	Fosfofructokinasa-1	-1	10	Piruvato kinasa	+2	
		-2			+4	+2

Si tenemos en cuenta que la energía liberada por la hidrólisis del enlace fosfoanhídrido β - γ del ATP es de -30.4 kJ/mol y que se producen 2 ATP, encontramos que el proceso glucolítico produce una energía libre aprovechable de $2 \times -30.4 = -60.8$ kJ/mol. Teniendo en cuenta que el proceso libera una energía de -72.3 kJ/mol, de ello resulta una altísima eficiencia del $(-60.8/-72.3) \times 100 = 84.1$ %. Bien es verdad que la degradación aeróbica completa de glucosa libera aproximadamente -2854 kJ/mol; pero esta degradación completa cursa con la producción de unas 32 moléculas de ATP. Siguiendo el mismo razonamiento, encontraríamos que la eficiencia de la degradación aeróbica de la glucosa sería de $(-973.3/2854) \times 100 = 34.1$ %, es decir, bastante menor que la degradación anaeróbica. Por otra parte, como veremos, el proceso de degradación aeróbica es mucho más lento. Y por fin, hemos de tener en cuenta que muchos tejidos (miocardio, músculo, hígado, cerebro) son capaces de degradar aeróbicamente el lactato producido en la glucolisis.

4.1.8 Regulación de la glucolisis

La glucolisis es, en todos los organismos estudiados, una vía realmente central en el metabolismo. Supone la entrada del principal combustible de uso inmediato (los hidratos de carbono) en el metabolismo general; así, veremos como las reservas hidrocarbonadas (en forma de glucógeno) o bien otros hidratos de carbono como fructosa, galactosa, tiene su metabolismo degradativo entroncado a la glucolisis. Pero además, los intermediarios glucolíticos son el punto de partida de otras vías metabólicas no necesariamente relacionadas con el metabolismo energético. Así, veremos como estos intermediarios pueden dar lugar a la síntesis de otras biomoléculas como aminoácidos y lípidos; o bien participar en el proceso de neoglucogénesis, la síntesis de glucosa a partir de biomoléculas no hidrocarbonadas, como aminoácidos, vía que estudiaremos con detalle más adelante en este mismo capítulo.

No es de extrañar, por tanto, que encontremos a lo largo de la secuencia glucolítica numerosos puntos sometidos a regulación. En principio, podemos señalar tres puntos principales: los correspondientes a las reacciones cinéticamente irreversibles, a saber: las catalizadas por las enzimas hexokinasa, fosfofructokinasa-1 y piruvato kinasa.

Estas tres enzimas presentan comportamiento alostérico, siendo su actividad modulada de tal manera que un exceso energético (en forma de concentraciones elevadas de ATP) tiende a inhibir el flujo glucolítico, mientras que un defecto energético (en forma de concentraciones elevadas de ADP o AMP) estimula el flujo glucolítico. Este principio general fue por vez primera estudiado por **Louis Pasteur**, quien observó que una elevación en el consumo de oxígeno inhibía la actividad fermentativa de las células (**efecto Pasteur**). Hoy día interpretamos este fenómeno en el sentido de que la degradación aeróbica produce cantidades de ATP muy superiores a las que produce la glucolisis; y estas concentraciones de ATP son inhibitorias del flujo glucolítico. La glucolisis, además, está controlada por señales sistémicas en mamíferos,

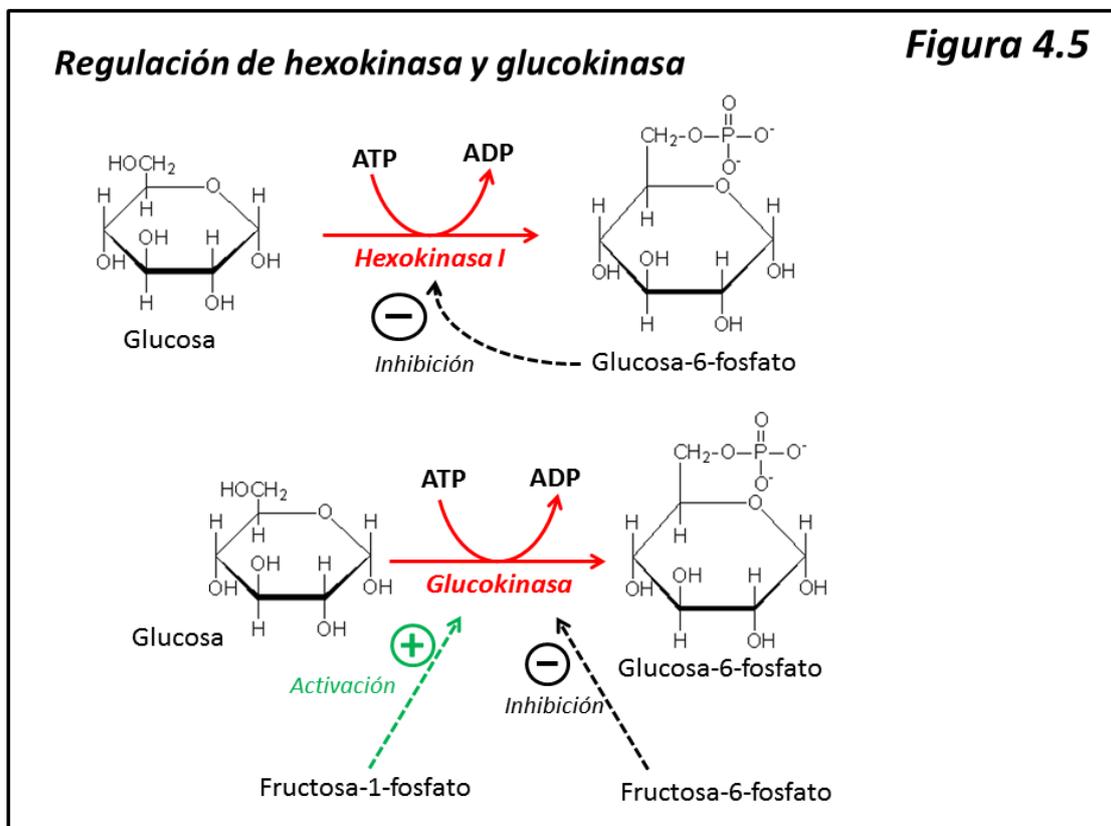
como las hormonas insulina y glucagón. Veremos asimismo en qué puntos de la secuencia glucolítica se produce esta conjunción de señales.

4.1.8.1 Regulaciones alostéricas de la glucolisis

Como hemos visto, estas regulaciones aparecen en las tres reacciones cinéticamente irreversibles de la glucolisis: Hexokinasa, Fosfofructokinasa-1 y Piruvato kinasa.

Hexokinasa

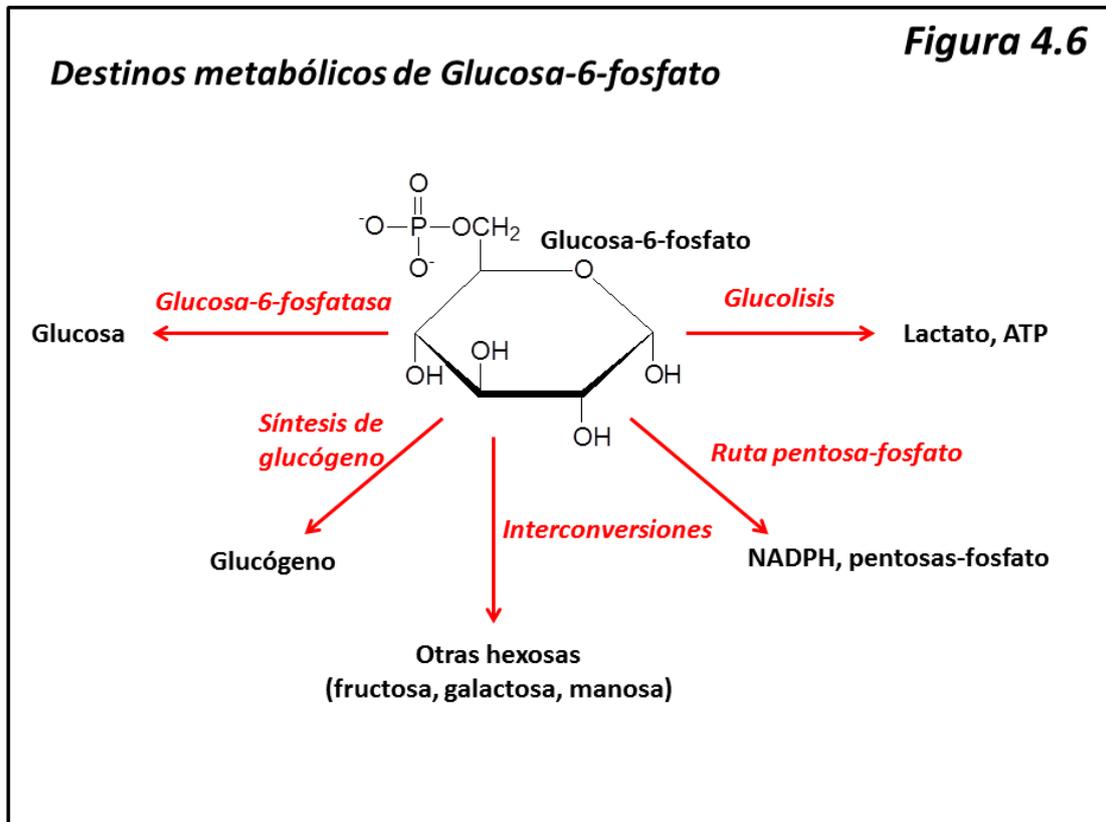
La hexokinasa es una enzima que se presenta en varias formas isoenzimáticas en los diferentes tejidos, conocidas como hexokinasa I, II, III y IV. las hexokinasa I, II y III se caracterizan por tener una K_m baja hacia el sustrato glucosa y por ser inhibidas alostéricamente por el producto de la reacción, glucosa-6-fosfato (figura 4.5).



La glucosa entra en la mayoría de las células (con la notable excepción de las células de la mucosa intestinal y de los túbulos renales) mediante un proceso de difusión facilitada ligada a una familia de transportadores de glucosa llamados GLUT1 – GLUT6, gracias a que en todas estas células la concentración de glucosa es bastante menor que en el medio extracelular (del orden de 5 mM). Cuando la glucosa es fosforilada por la hexokinasa, el producto glucosa-6-fosfato ya no puede salir de la célula dada la impermeabilidad de la membrana hacia este intermediario.

A su vez, glucosa-6-fosfato puede tomar distintos destinos metabólicos, que aparecen en esquema en la figura 4.6.

Estos destinos son los siguientes: (1) puede seguir la secuencia glucolítica que hemos estudiado; (2) puede entrar en la ruta pentosa-fosfato (cuya función es la producción de poder reductor en la célula en forma de NADPH) que estudiaremos más adelante; (3) puede dar lugar a otras hexosas, como galactosa o manosa; (4) puede ser almacenado en forma de glucógeno en el caso de un exceso intracelular; y (5) puede ser transformado hidrolíticamente de nuevo en glucosa, mediante la enzima Glucosa-6-fosfatasa. Este último destino será estudiado más detenidamente otras secciones de este mismo capítulo: Glucogenolisis y Neoglucogénesis.



Por lo tanto, un exceso de glucosa-6-fosfato en el interior de la célula indica que ninguna de estas cuatro vías está siendo activamente transitada, y por tanto, no es necesaria la entrada de más glucosa en el metabolismo celular.

Por otra parte, y a diferencia de las otras enzimas reguladas en la glucolisis, la hexokinasa no responde en principio en cambios en la carga energética de la célula. Siendo la producción de ATP el cometido principal de la glucolisis, este hecho es indicativo de que la hexokinasa no es propiamente una enzima glucolítica (aunque la estudiemos como tal). En realidad, la primera enzima glucolítica propiamente dicha sería la fosfofructokinasa-1, dado que cataliza el primer paso realmente *comprometido* en la degradación glucolítica. Todos los metabolitos proximales a esta enzima pueden seguir otras rutas; pero el producto de ésta, fructosa-1,6-bisfosfato, queda destinado únicamente a su degradación glucolítica.

En el hígado existe la isoenzima hexokinasa IV, también llamada **glucokinasa**. A diferencia de las hexokinasa I, II y III, la glucokinasa tiene especificidad por glucosa, y no por otras hexosas. Además, no es inhibida alostéricamente por glucosa-6-fosfato y presenta una K_m por la glucosa mucho más elevada que aquéllas (del orden de 2-10 mM). En la célula hepática la glucosa se presenta a una concentración prácticamente igual a la del medio extracelular; y esta concentración aumenta cuando, a partir del proceso digestivo de absorción de glucosa, el hígado recibe cantidades importantes de la misma por la circulación portal. Es en este

momento, ante concentraciones elevadas de glucosa, cuando la glucokinasa presenta su actividad máxima. A diferencia pues de otros tejidos, en los que el metabolismo de glucosa es crítico (como el cerebro y el hematíe) y continuo en el tiempo, el hígado únicamente metaboliza glucosa en los períodos de absorción digestiva; esta glucosa, en su mayor parte, pasará a formar glucógeno. La glucokinasa presenta una regulación *sui generis*, diferente a las demás hexokinatas. La enzima presenta una cinética sigmoide, característica de enzimas alostéricas. Este carácter aumenta (y por tanto disminuye la actividad enzimática) en presencia de una proteína regulatoria específica, que a su vez es activada por el intermediario fructosa-6-fosfato, el cual, por tanto, se comporta como elemento inhibitorio de la glucokinasa. Esta inhibición desaparece en presencia de fructosa-1-fosfato, metabolito producido a partir de la fructosa presente en la dieta, por lo que la enzima se ve activada durante el proceso de absorción digestiva (figura 4.5)

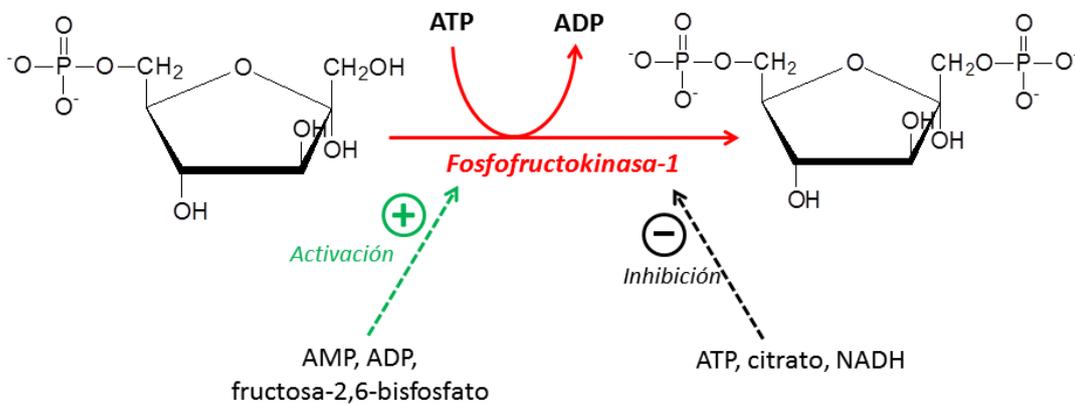
Fosfofructokinasa-1

El segundo sitio de regulación de la glucólisis es la fosfofructokinasa-1, enzima que hemos visto que representa el primer paso comprometido en la degradación de la glucosa y que por tanto, puede ser considerado como la primera enzima glucolítica propiamente dicha.

Se trata de una enzima compleja, oligomérica (un tetrámero en mamíferos) cuya actividad se ve inhibida por ATP (que además es sustrato de la reacción) a través de un efecto K, es decir, un aumento aparente de la K_m hacia fructosa-6-fosfato, el otro sustrato de la reacción. Otros inhibidores son citrato y NADH, todos ellos indicadores de un exceso energético en la célula. Al mismo tiempo, AMP y ADP actúan como activadores de la enzima (figura 4.7) (siendo como son indicadores de un déficit energético). El significado de estas regulaciones está claro: un exceso energético inhibe el flujo glucolítico y un déficit energético lo aumenta. Por tanto, podemos ver que la regulación de esta enzima es la causa del efecto Pasteur a escala molecular.

Regulación de fosfofructokinasa-1

Figura 4.7



Ya vimos anteriormente que el hecho de que ADP sea a la vez producto de la reacción y activador alostérico conduce a un fenómeno de **feedforward** positivo, causa a su vez de **metaestabilidad** en el sistema. Esta metaestabilidad puede en ocasiones manifestarse en un comportamiento oscilatorio de esta reacción, el cual a su vez, produce un comportamiento oscilatorio de la glucólisis en su conjunto.

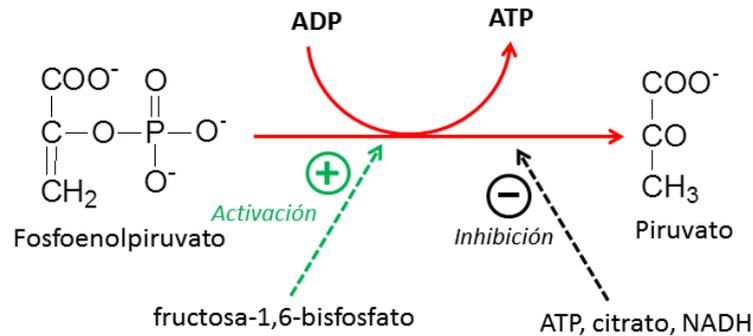
Pero además la enzima tiene otro importante elemento regulatorio, la **fructosa-2,6-bisfosfato**, que se comporta como activador de la reacción. Este intermediario está producido por la enzima **fosfofructokinasa-2**, que como veremos es el principal punto de contacto entre las regulaciones sistémica e intracelular del metabolismo de la glucosa.

Piruvato kinasa

Se trata asimismo de una enzima alostérica que presenta cooperatividad homotrópica positiva hacia el sustrato fosfoenolpiruvato (es decir, cinética sigmoide). Los indicadores de exceso energético (ATP, NADH, citrato) inhiben casi completamente la actividad de la enzima, desplazando la curva sigmoide hacia la derecha; por el contrario, el intermediario fructosa-1,6-bisfosfato es un intenso activador de la enzima, desplazando la curva hacia la izquierda y, a concentraciones suficientemente grandes, convierte la curva en hiperbólica (figura 4.8)

Regulación de piruvato kinasa

Figura 4.8



Regulación covalente:

Forma fosforilada (PKA): enzima inactiva

Forma defosforilada: enzima activa

La piruvato kinasa presenta también una regulación covalente. La fosforilación de la enzima por la protein kinasa A reduce significativamente su actividad; éste es otro punto de contacto entre las regulaciones celular y sistémica de la glucólisis, dado que la protein kinasa A es estimulada por la hormona glucagón.

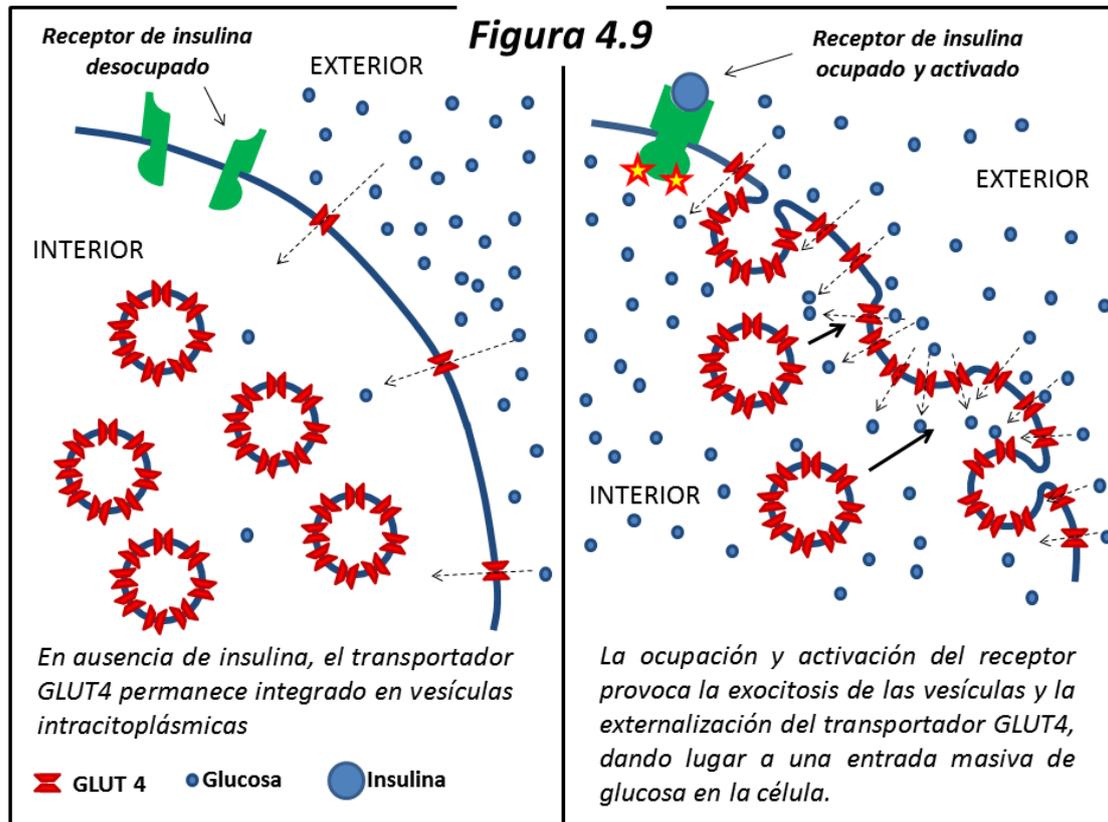
4.1.8.2 Regulación sistémica de la glucólisis

La homeostasis de la glucosa es un importantísimo proceso en todos los animales superiores. En el hombre una cuestión clave radica en el hecho de que el cerebro es prácticamente dependiente de glucosa. Por tanto, el mantenimiento de un nivel adecuado de glucemia (en torno a 5 mM, como ya hemos visto) es vital para todas las funciones superiores del organismo. Igualmente, los hematíes o glóbulos rojos sólo pueden utilizar glucosa para sus necesidades energéticas, para la generación de poder reductor (el que mantiene la hemoglobina en estado ferroso) y para el mantenimiento del equilibrio iónico adecuado a su función transportadora de oxígeno.

Dos son las hormonas que controlan principalmente la glucemia, ambas producidas por el tejido insular (endocrino) del páncreas: La **Insulina**, producida en las células β de los islotes de Langerhans, y el **Glucagon**, producido en las células α del mismo órgano. En una primera aproximación podemos pensar que la insulina es la hormona propia del estado pletórico, bien alimentado; mientras que el glucagon es la hormona del estado de ayuno, el indicador de necesidad de glucosa en el organismo. En este sentido, la insulina estimula todos aquellos procesos que tienden al almacenamiento de glucosa en forma de diversas reservas, bien como glucógeno o bien como ácidos grasos; mientras que la acción del glucagon tiende a incrementar la cantidad de glucosa circulante, bien sea a través de la degradación del glucógeno de reserva o bien inhibiendo su utilización en otras vías metabólicas. El modo de

acción de ambas hormonas está relacionado con procesos de modificación covalente de enzimas: el glucagon a través del estímulo de la protein quinasa A, que fosforila, activando o inactivando en su caso, las enzimas implicadas en dichos procesos; mientras que la insulina favorece las acciones contrarias mediadas por protein fosfatasa.

La acción mejor conocida (entre otras) de la insulina tiene que ver con el transporte de glucosa mediado por el transportador GLUT4 (figura 4.9).

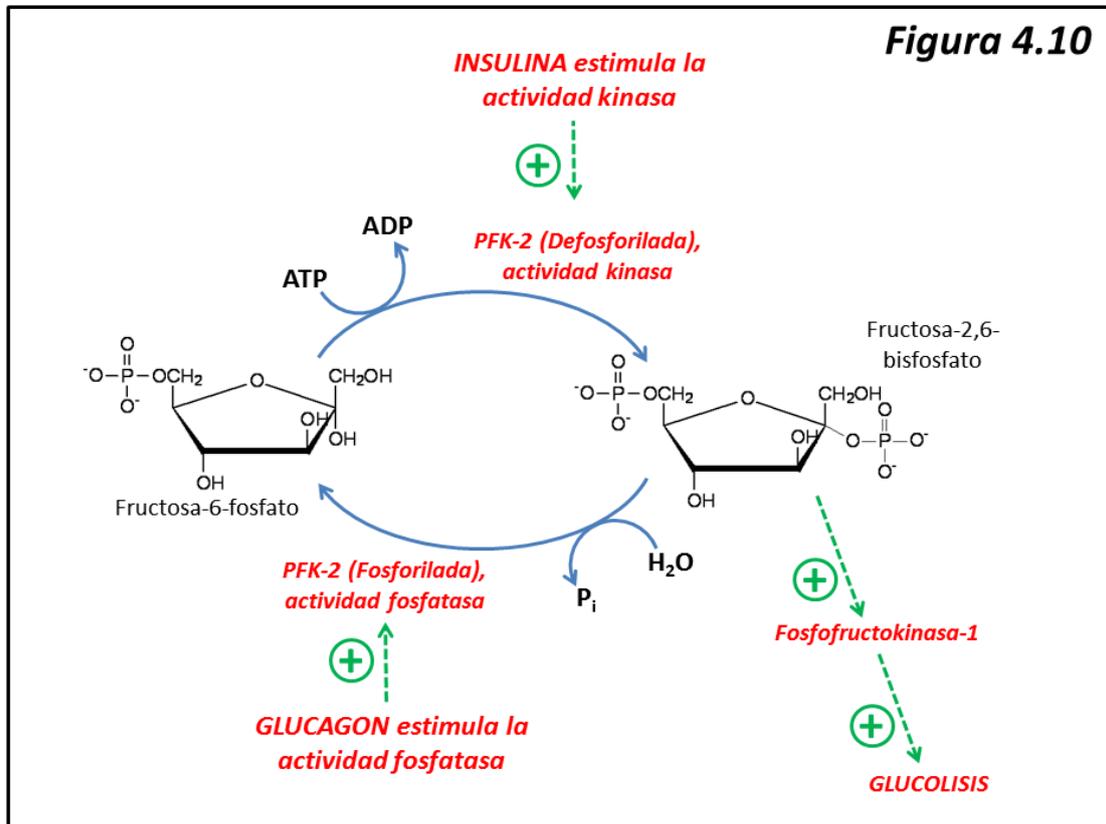


Este transportador se encuentra en las células del tejido muscular o adiposo, formando parte de vesículas de membrana intracelulares. Cuando la insulina interacciona con su receptor, situado en la membrana plasmática de las células (musculares o adiposas), se activa una cadena de señalización que culmina con la emigración de dichas vesículas y su fusión con la membrana celular, con lo que aumenta la cantidad de transportador GLUT4 a disposición de la glucosa extracelular, lo cual estimula (a veces en órdenes de magnitud) la entrada de glucosa a estas células. Dada la masa de ambos tejidos, muscular y adiposo, el efecto de la insulina se traduce a nivel sistémico por un descenso acusado de la glucemia.

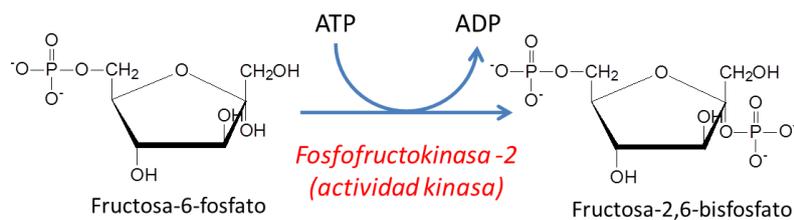
El glucagon, por su parte, entre otras acciones, estimula a través de una cadena de señalización bien conocida (ver más adelante y Enzimología, cap. 9) la degradación del glucógeno hepático, lo cual se traduce en un incremento marcado de la glucemia.

Además de insulina y glucagon, otras hormonas afectan a los niveles de glucosa en sangre. Así, los glucocorticoides promueven un incremento de la glucemia debido a un estímulo específico de la neoglucogénesis (ver más adelante); la hormona de crecimiento o somatotropina eleva asimismo la glucemia a través de una acción antiinsulínica (inhibiendo la acción de la insulina sobre tejidos periféricos) y por estímulo de la neoglucogénesis hepática.

El punto de contacto entre la acción de insulina/glucagon sobre la glucólisis radica en la enzima **fosfofructokinasa-2 (PFK-2, EC 2.7.1.105)**, cuya acción aparece esquematizada en la **figura 4.10**. Se trata de una enzima bifuncional, que puede funcionar como kinasa y como fosfatasa dependiendo de su estado de fosforilación.

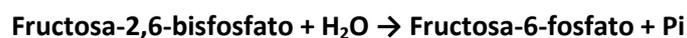


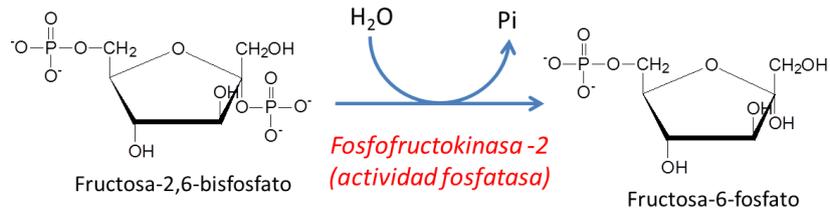
Al estado defosforilado, la PFK-2 presenta actividad kinasa:



Y la fructosa-2,6-bisfosfato es un poderoso activador alostérico de la fosfofructokinasa-1 (PFK-1), con lo cual se estimula la glucólisis.

Al estado fosforilado, la PFK-2 presenta actividad fosfatasa:





Al disminuir así la concentración de Fructosa-2,6-bisfosfato se inhibe el flujo glucolítico.

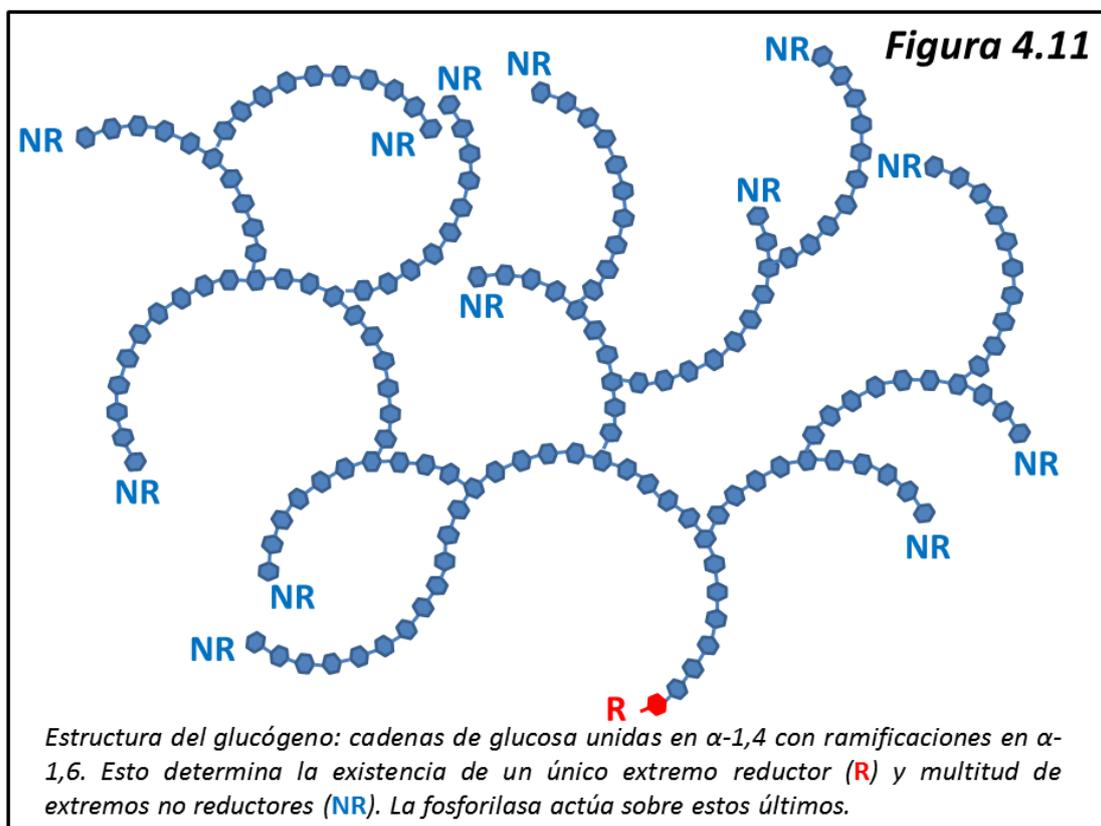
El estado fosforilado o defosforilado de la PFK-2 depende de la acción de las dos hormonas principales antes mencionadas. La insulina promueve la defosforilación de la enzima a través de la activación de protein fosfatasa. De esta manera aumenta la concentración de fructosa-2,6-bisfosfato; así, la insulina estimula el flujo glucolítico. El glucagon, por su parte, a través de la activación de la protein kinasa A, produce la fosforilación de la enzima y por tanto el descenso de Fructosa-2,6-bisfosfato con la consiguiente disminución del flujo glucolítico.

4.2 Glucogenolisis

4.2.1 Introducción

Con el nombre de **glucogenolisis** conocemos la degradación de glucógeno a glucosa o a su metabolito glucosa-6-fosfato. La importancia metabólica de este proceso queda clara cuando consideramos que la glucogenolisis es el proceso de movilización de las reservas de glucosa. Veremos asimismo como **glucogenolisis** y **glucolisis** están íntimamente relacionadas a través de sus regulaciones respectivas; y a su vez, ambos procesos con sus contrarios **neoglucoogénesis** (formación de glucosa a partir de precursores no hidrocarbonados) y **glucogenogénesis** (síntesis y almacenamiento de glucógeno).

El glucógeno es un α -glucano (polisacárido formado por glucosas unidas en enlaces de tipo α) con una estructura parecida a la amilopectina del almidón: cadenas lineales de glucosas unidas en enlaces α -1,4 con ramificaciones en α -1,6 (figura 4.11).



El grado de ramificación del glucógeno es mayor que el de la amilopectina, presentando ramificaciones cada 7-15 residuos, así como un elevado peso molecular (su grado de polimerización puede llegar hasta los 50.000 residuos). La estructura es tal que el glucógeno presenta un solo extremo reductor (R) (normalmente indetectable por métodos químicos convencionales, dado el alto peso molecular del mismo) y una enorme cantidad de extremos no reductores (NR), que como veremos son los puntos de ataque de las diversas enzimas relacionadas con el metabolismo del glucógeno.

Por otra parte, veremos asimismo cómo la glucogenolisis (y la glucogenogénesis) está regulada a través del principio de **activación en cascada** (ver Enzimología, cap. 9) lo que nos indica que se trata de un proceso sometido a una regulación a escala sistémica (aunque también presenta

regulación a escala celular). La estructura del glucógeno se presta, pues, a su rápida movilización a través de su degradación.

La razón por la cual la reserva de glucosa toma la forma de glucógeno muy probablemente sea minimizar la presión osmótica a que daría lugar una cantidad equivalente de glucosa libre en el interior de la célula. El almacenamiento de glucosa en forma de glucógeno es una característica del reino Animal; en los vegetales cumplen una función parecida el almidón o la sacarosa; en bacterias y hongos encontramos otros polisacáridos (p.e., dextranos). Ahora bien, ni vegetales, ni hongos, ni procariotas requieren sistemas de movilización de las reservas hidrocarbonadas en la misma medida que los animales.

4.2.2 Historia

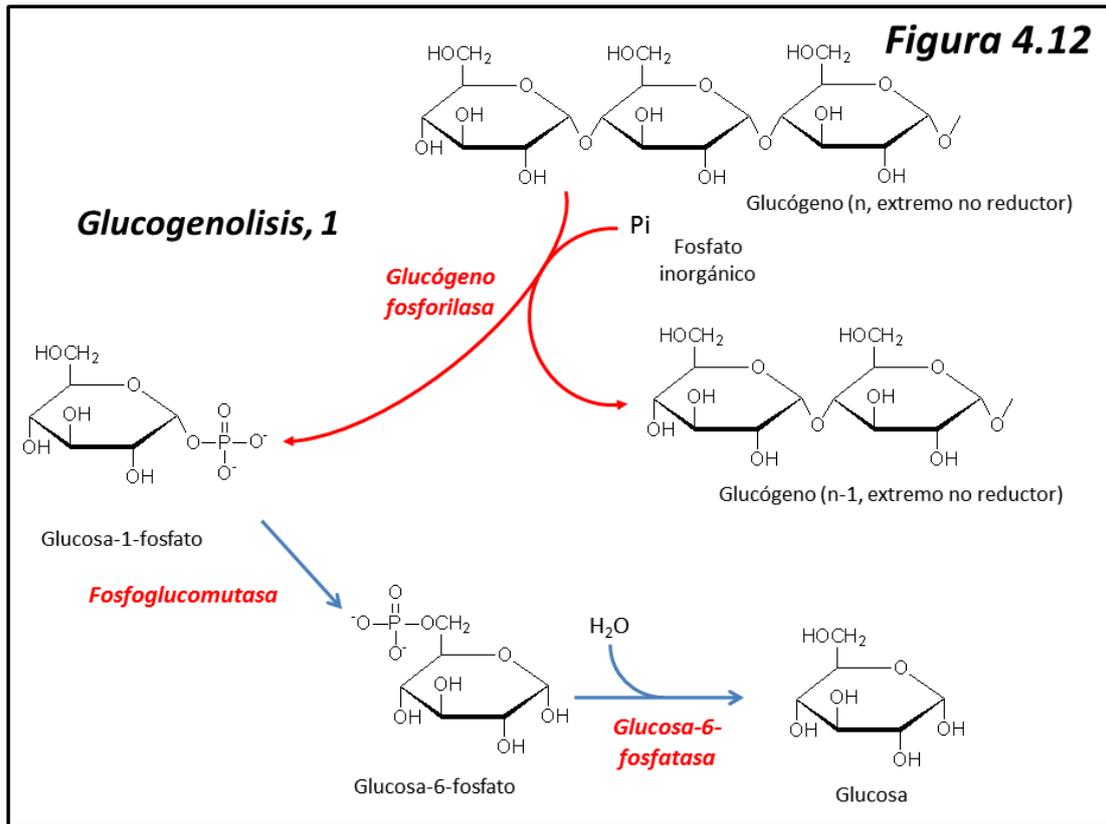
La función glucogénica del hígado fue descubierta por el fisiólogo francés **Claude Bernard**. A raíz de una brillante serie de experimentos que inicialmente tenían que ver con la digestión de los hidratos de carbono, Bernard pudo demostrar: (1) la degradación química del almidón dietario a glucosa en el proceso digestivo; (2) la capacidad del hígado para *segregar internamente* (es decir, hacia la circulación sanguínea) glucosa, de donde nació también el concepto de *secreción interna*, raíz de la actual Endocrinología; (3) la forma química de almacenamiento de glucosa en el hígado, que él mismo bautizó como **Glucógeno**; (4) que la glucosa podía ser producida en el hígado aun en ausencia dietaria de la misma, a través del proceso que hoy conocemos como **neoglucogénesis**, dando al traste con la creencia mantenida por entonces de que la glucosa sólo podía ser producida por organismos autotróficos como las plantas; y (5) sus experimentos sobre la diabetes sentaron las bases sobre las que más tarde se desarrollaría nuestro conocimiento de esta enfermedad.

Otro importantísimo hito experimental fue el descubrimiento por **Sutherland** en 1969 de la cascada de activación de la glucógeno fosforilasa y el papel del cAMP (3'-5' Adenosin monofosfato cíclico), punto de partida de nuestro actual conocimiento sobre **transducción de señales**.

4.2.3 Secuencia de reacciones

La **figura 4.12** muestra la secuencia de reacciones de la degradación de glucógeno a glucosa. Un extremo no reductor del glucógeno es atacado por la enzima *Glucógeno fosforilasa*, liberando el hemiacetal fosfato Glucosa-1-fosfato. Ésta se transforma en Glucosa-6-fosfato por acción de la **Fosfoglucomutasa**; la glucosa-6-fosfato puede seguir cualquiera de los destinos que vimos en la **figura 4.6**, pero en el hígado está presente la enzima **Glucosa-6-fosfatasa** que lo transforma en glucosa libre, pasando ésta a la sangre y quedando a disposición de aquellos tejidos que la necesiten.

Dada la estructura ramificada del glucógeno, a medida que avanza la glucogenolisis mediada por la fosforilasa se alcanzan puntos de ramificación α -1,6, momento en el que esta enzima se detiene. Para que su acción continúe se requiere la actuación de una **enzima desramificante**, que elimina dichas ramificaciones y permite así que continúe la acción de la fosforilasa.



Reacción 1: Glucógeno fosforilasa (EC 2.4.1.1)

Se trata de la enzima limitante del proceso de glucogenólisis. Cataliza un ataque fosforolítico sobre el enlace glicosídico del residuo de glucosa que ocupa uno de los extremos no reductores del glucógeno, liberando el hemiacetal fosfato glucosa-1-fosfato (figura 4.12)

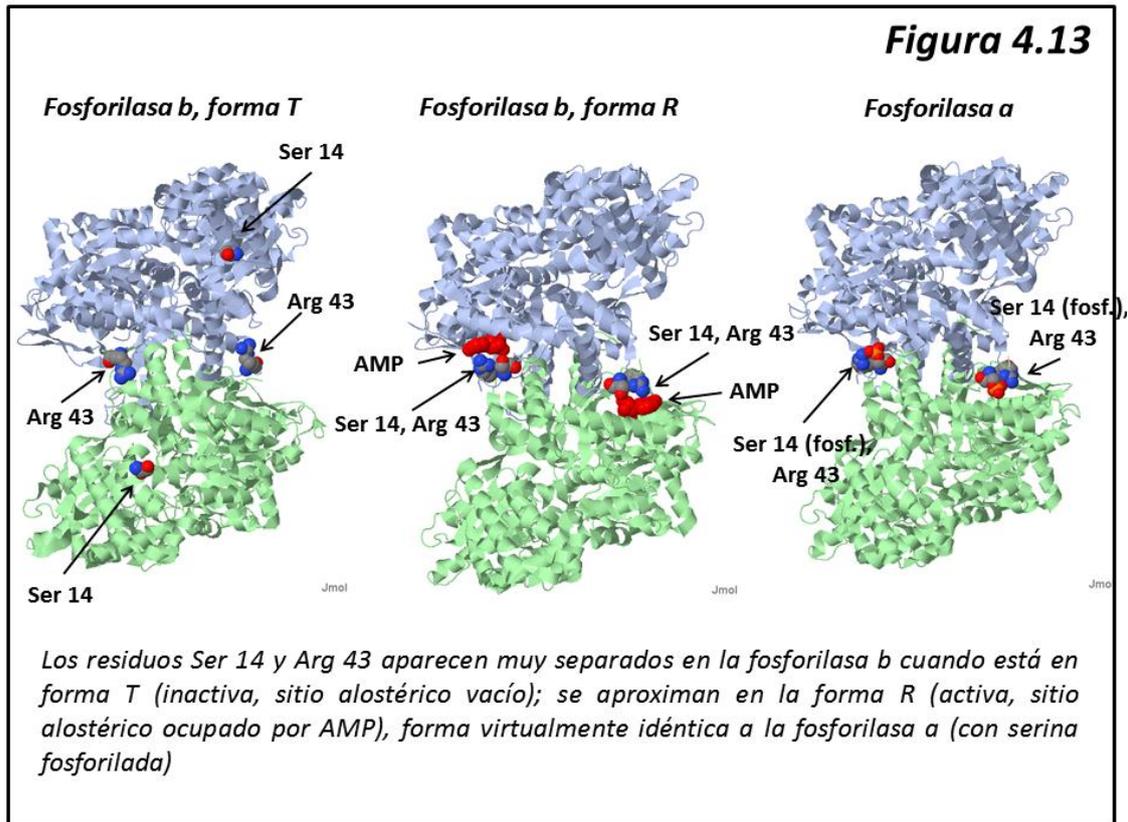
Es una enzima compleja, cuya forma funcional es un homodímero (figura 4.13) y que utiliza piridoxal fosfato como cofactor.

Está sometida a dos tipos de regulaciones:

(1) Una regulación covalente por fosforilación. La fosforilasa existe en dos estados: la **fosforilasa a**, que es la forma activa de la enzima, y que aparece fosforilada en el residuo Ser 14 de ambos dímeros; y la **fosforilasa b**, que es mucho menos activa, y que está defosforilada. Ambas formas difieren en su estructura tridimensional. Los procesos de fosforilación (activación) y defosforilación (inhibición) de la enzima se ponen en marcha gracias a una compleja cascada de activaciones o inactivaciones (descrita en el cap. 9 de la Enzimología y más adelante en esta misma sección).

(2) Una regulación alostérica. La fosforilasa b muestra cooperatividad homotrópica positiva hacia sus substratos y el nucleótido AMP (5'-Adenosina monofosfato) se comporta como activador alostérico de la enzima. Cuando el AMP se fija al centro alostérico de la fosforilasa b, ésta cambia su estructura tridimensional haciéndose idéntica a la fosforilasa a (excepto por la fosforilación de la Ser 14) y plenamente activa.

Como veremos más adelante, la regulación de la glucógeno fosforilasa es un importante punto para la regulación sistémica de la glucemia en respuesta a diversas condiciones fisiológicas.



Reacción 2: Fosfoglucomutasa (EC 5.4.2.2)

Cataliza la interconversión (en una reacción fácilmente reversible) entre el hemiacetal fosfato glucosa-1-fosfato y el éster fosfato glucosa-6-fosfato (figura 4.12). La reacción transcurre mediante un intermediario fosfoenzima: es decir, el grupo fosfato es transferido covalentemente a la enzima y ésta lo transfiere, a su vez, a la otra posición del sustrato.

Reacción 3: Glucosa-6-fosfatasa (EC 3.1.3.9)

En las células hepáticas, glucosa-6-fosfato puede ser hidrolizado a glucosa más fosfato inorgánico merced a la acción de la **glucosa-6-fosfatasa** (figura 4.12). Se trata de una enzima ligada a partículas subcelulares del retículo endoplásmico. La glucosa puede entonces ser liberada al torrente circulatorio. Precisamente es la presencia de esta enzima la que permite que la reserva hepática de glucógeno tenga una significación sistémica, es decir, que esté a disposición de todo el organismo y no solamente del hígado (recuérdese que glucosa-6-fosfato no puede atravesar la membrana plasmática). Esto no ocurre con el glucógeno muscular, que a pesar de ser un importante reservorio, no puede ser utilizado por otros órganos, debido a la carencia de esta enzima en dicho tejido.

Reacción 4: Enzima desramificante (EC 3.2.1.68)

La acción de la glucógeno fosforilasa sobre el glucógeno llevaría a la producción de una dextrina límite de no ser por la presencia de la **enzima desramificante**. Se trata de una enzima bifuncional, que presenta dos actividades enzimáticas (figura 4.14): (a) **Oligo $\alpha(1,6)$ a $\alpha(1,4)$ glucano transferasa** y (b) **Amilo $\alpha(1,6)$ glicosidasa**.

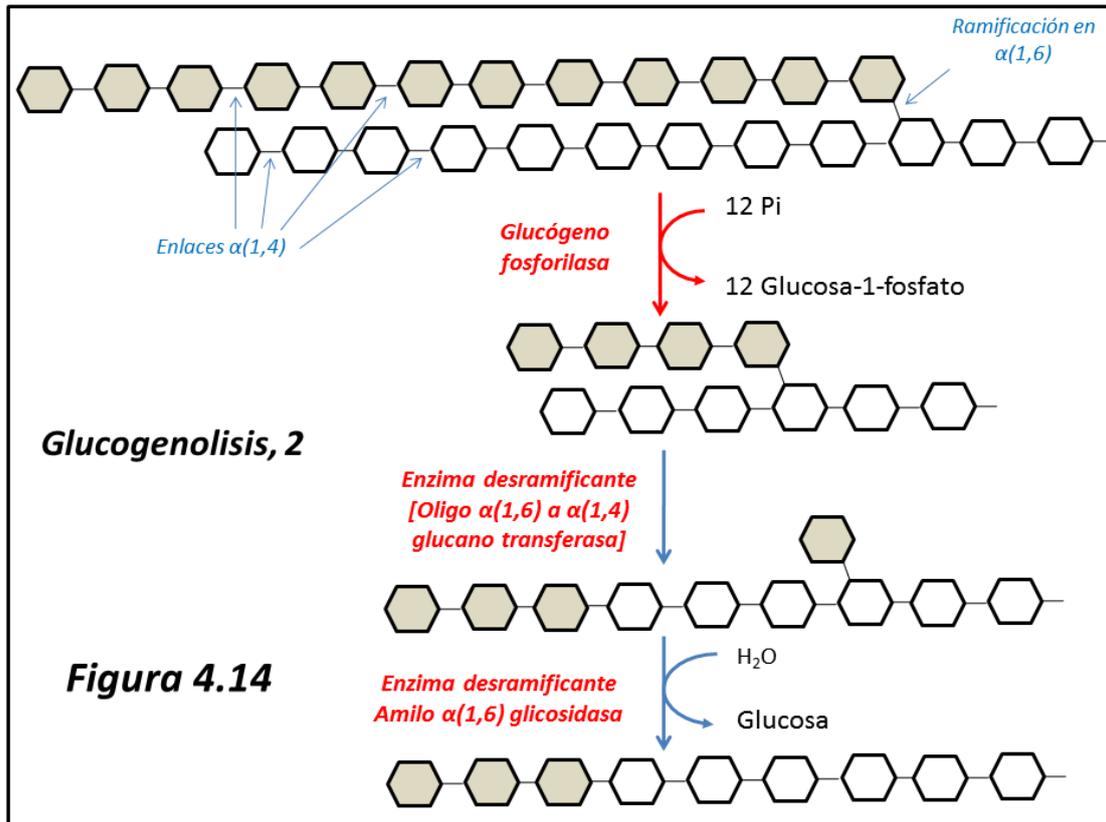


Figura 4.14

La glucógeno fosforilasa se detiene a cuatro residuos de una ramificación $\alpha(1,6)$. En ese momento, la actividad (a) transfiere tres residuos de glucosa desde la ramificación al extremo no reductor de la otra cadena. Queda así un residuo de glucosa unido en $\alpha(1,6)$ que es hidrolizado por la actividad (b) de la enzima, desapareciendo una de las ramas y quedando la otra en condiciones de ser atacada nuevamente por la fosforilasa.

4.2.4 Regulación de la glucogenólisis

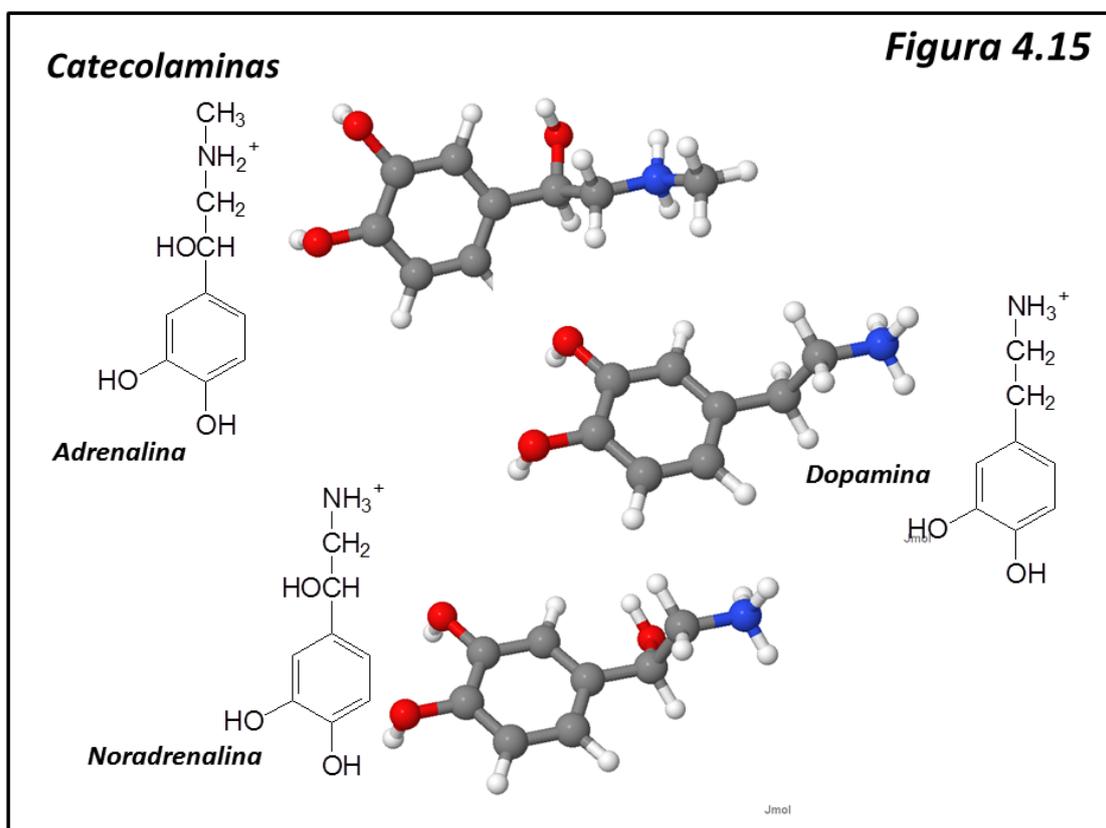
La movilización de la reserva de glucógeno, en particular del glucógeno hepático, es una función que trasciende del metabolismo celular, ya que debe responder a estímulos y circunstancias a nivel sistémico, es decir, de todo el organismo considerado en su conjunto. Dos son las situaciones de esta índole que nos interesan en este contexto: (1) la reacción de *Lucha o Huída* (ingl. *Fight or Flight*) y (2) el descenso en el nivel de glucemia en situaciones de ayuno.

4.2.4.1 Reacción de Lucha o Huída

La respuesta de un organismo animal ante la presencia de un peligro (como la presencia de un predador, por ejemplo) puede ser una de estas dos: O hacer frente al predador (Lucha) o huir del mismo (Huída). En ambos casos, los cambios fisiológicos que requiere el organismo son los mismos: (a) Incremento de la actividad cardíaca, con aumento de la frecuencia y del volumen minuto cardíacos; (b) Incremento de la actividad respiratoria, con aumento de la amplitud y frecuencia de los movimientos respiratorios; (c) Incremento de la circulación, y por tanto, del aporte de oxígeno, hacia territorios musculares necesarios para la respuesta, como el músculo esquelético y el miocárdico; (d) Supresión de actividades fisiológicas no relacionadas con la

respuesta, como la digestión o la función genital, con disminución de la circulación sanguínea en dichos territorios; (e) Incremento de la atención sensorial y de la actividad cerebral en general; y (f) garantizar un aporte de combustible primario, en forma de glucosa, a todos aquellos territorios orgánicos que la puedan necesitar, en particular el cerebro y el tejido muscular, lo que se logra por un estímulo de la glucogenolisis hepática.

El conjunto de modificaciones aquí descritas son provocadas directamente por la presencia de **catecolaminas**, las señales propias del *stress*, que funcionan tanto como hormonas (producidas en la médula suprarrenal) como neurotransmisores centrales. Son tres las catecolaminas importantes a este respecto: la **adrenalina** (o **epinefrina**), la **noradrenalina** (o **norepinefrina**) y la **dopamina**, esta última operando únicamente como neurotransmisor a nivel del sistema nervioso central (**figura 4.15**). Existen diversos tipos de receptores para estas señales químicas; nosotros consideraremos aquí únicamente los **receptores α** y los **receptores β** .

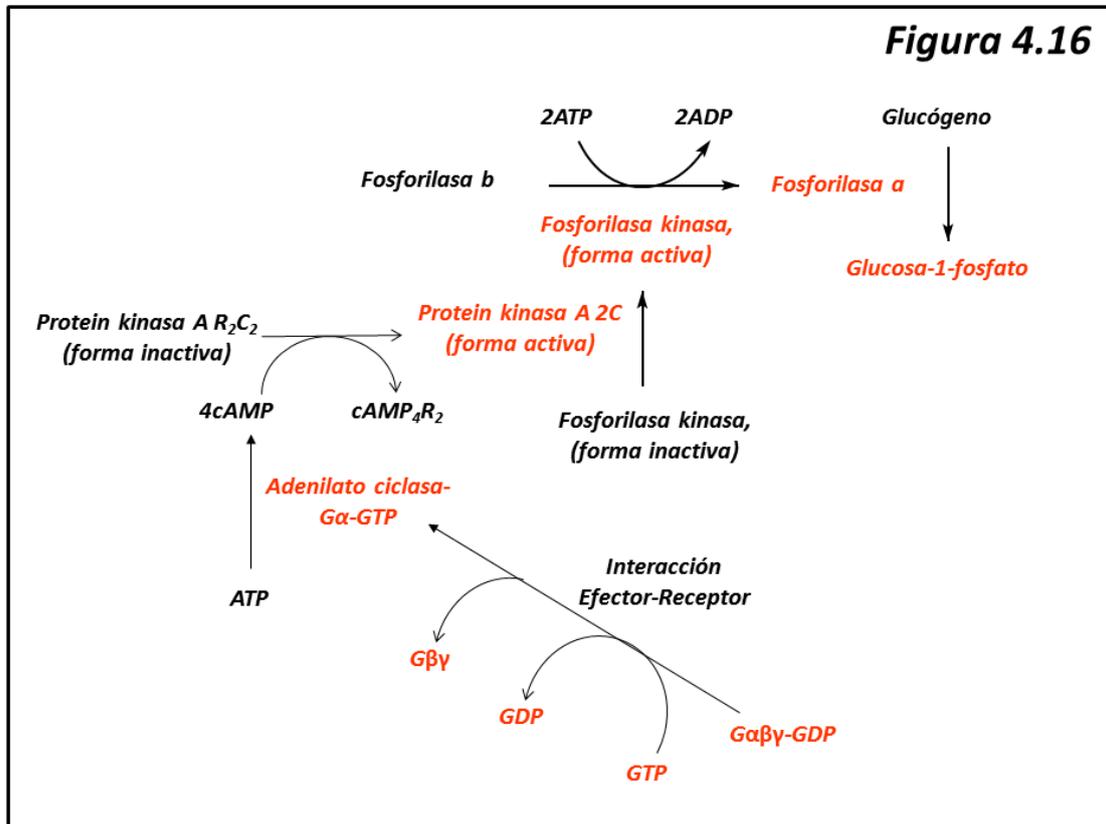


Los receptores α , al interactuar con catecolaminas, inducen la contracción de la musculatura lisa; por eso, los encontraremos típicamente en aquellos territorios vasculares en los que la circulación debe disminuir o ser suprimida en la reacción de lucha o huida: el territorio digestivo y el territorio urogenital, en donde la acción de los receptores α produce vasoconstricción.

Los receptores β , por su parte, inducen, entre otras cosas, la relajación de la musculatura lisa en aquellos territorios donde están presentes. Así, encontramos receptores β en los vasos coronarios, los vasos musculares y los bronquios. La interacción de las catecolaminas con los receptores β produce, de esta manera, vasodilatación en los territorios coronario y muscular (incrementando el aporte sanguíneo a estos territorios) así como broncodilatación a nivel pulmonar (aumentando así la actividad respiratoria). Son también receptores β los que nos interesan en nuestro contexto bioquímico, es decir, los que están presentes en la célula

hepática y van a estimular la degradación de glucógeno a través de la activación de la fosforilasa, que es la acción que vamos a estudiar.

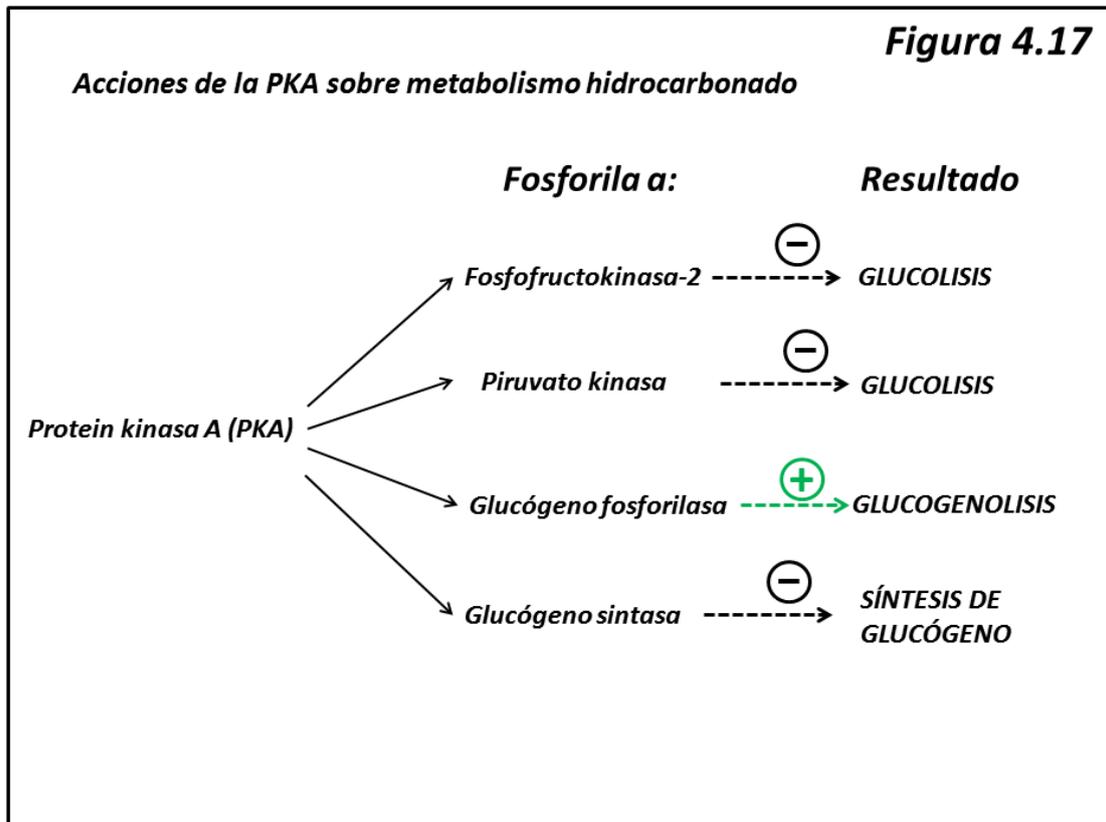
Al requerir una respuesta sistémica, no es extraño que la fosforilasa hepática sea estimulada a través de una compleja cascada de activaciones, que fue descrita detalladamente en Enzimología, cap. 9. Sucintamente consiste en (figura 4.16):



1. Interacción del receptor β con la señal correspondiente (adrenalina o noradrenalina)
2. Activación de un sistema de **proteínas G** ligado al receptor, y que consiste en el intercambio de GDP por GTP en la subunidad α , disociación de ésta del conjunto $\beta\gamma$ y activación de la **adenilato ciclasa** presente en la membrana celular por parte de α -GTP.
3. Producción de cAMP (3',5' adenosina monofosfato cíclico) por parte de la **adenilato ciclasa (EC 4.6.1.1)**. Ésta permanece activa mientras GTP esté unido a la subunidad α de la proteína G. Ahora bien, ésta posee actividad GTPasa y de esta manera GTP va hidrolizándose a GDP, momento en el cual la subunidad α se disocia de la enzima y vuelve a asociarse con el complejo $\beta\gamma$, dando lugar a la configuración de reposo.
4. El cAMP activa directamente a la **Protein Kinasa A** (PKA, EC 2.7.11.11) al interaccionar con sus subunidades regulatorias provocando la disociación y activación de las catalíticas. Como veremos, la PKA no solamente afecta a la fosforilasa, sino también a otras enzimas ligadas al metabolismo hidrocarbonado en general y del glucógeno en particular. La PKA, en lo que se refiere a la glucogenólisis, activa por fosforilación a la **Fosforilasa Kinasa (EC 2.7.11.19)**.
5. La fosforilasa kinasa así activada activa asimismo por fosforilación a la **Glucógeno Fosforilasa**, que procede a la degradación del glucógeno como hemos visto en el apartado anterior.

La organización en cascada de todo este complejo proceso permite que un estímulo inicial se vea enormemente amplificado en su respuesta final; es decir, un simple evento de interacción hormona-receptor puede dar lugar a la liberación de millones de moléculas de glucosa. Es obvio que esta amplificación tiene significado a nivel sistémico.

Se debe tener en cuenta que la activación de la PKA que veíamos en (4) no sólo afecta al sistema de la glucógeno fosforilasa. Esta enzima es capaz de fosforilar muchas otras enzimas relacionadas con el metabolismo hidrocarbonado (figura 4.17).



Así, encontramos que la PKA fosforila a (a) la **Glucógeno sintasa**, enzima encargada de la síntesis de glucógeno, inactivándola; (b) a la **cAMP fosfodiesterasa**, enzima que destruye el cAMP transformándolo en AMP, inactivándola asimismo (y permitiendo así un efecto mucho más prolongado para el cAMP); (c) a la **fosfofructokinasa-2**, estimulando así su actividad fosfatasa que hace disminuir el flujo glucolítico mediante disminución del activador fructosa-2,6-bisfosfato; (d) a la **piruvato kinasa**, inactivándola.

Por tanto, podemos ver cómo la acción de la PKA se traduce en (a) incremento de la degradación de glucógeno; y (b) disminución del flujo glucolítico. Ambas acciones tienden al incremento de la glucosa circulante (glucemia).

4.2.4.2 Ayuno

Los organismos animales, en general, dada su actividad física, pasan siempre por períodos de ayuno más o menos prolongados. En estos períodos el organismo requiere que se garantice el aporte de glucosa al cerebro, que es el órgano más crítico al respecto. La actividad cerebral requiere un aporte de energía considerable, bastante más que lo que supondría por su masa; se estima que a un 2 % de la masa corporal, que es lo que supone el cerebro, corresponde un

15 % de la energía consumida por el organismo en condiciones basales. Esta energía se emplea fundamentalmente en el mantenimiento de las bombas iónicas vitales para el normal funcionamiento del tejido nervioso.

Así como las catecolaminas son las típicas señales de *stress*, la hormona señalizadora del estado de ayuno es el **glucagon**. Como hemos visto, se trata de una hormona peptídica producida por las células α de los islotes de Langerhans pancreáticos que es segregada en respuesta al descenso de la glucemia. Existen otros sistemas que se activan ante el ayuno (como los núcleos supraquiasmáticos del hipotálamo) induciendo conductas de búsqueda de alimento al inhibir la sensación de saciedad.

La hormona antagónica al glucagon, y que representa el estado de saciedad, es la **Insulina**, producida por las células β de los islotes pancreáticos. Ya hemos visto cómo las acciones de estas dos hormonas influyen sobre la glucólisis en sentidos opuestos; y lo mismo vamos a encontrar en la glucogenólisis.

El glucagon interacciona con sus propios receptores a nivel de la célula hepática, induciendo una cascada de activaciones idéntica a la que hemos visto para las catecolaminas. Por tanto, el glucagon activa en cascada a la fosforilasa e inhibe el flujo glucolítico, de la misma manera que ocurre en las situaciones de *stress*.

Por su parte, la insulina activa (mediante la correspondiente cascada de señalización) a la Protein Fosfatasa I. Esta actividad hidrolítica actúa sobre las formas fosforiladas de la glucógeno fosforilasa (inactivándola), cAMP fosfodiesterasa (activándola), glucógeno sintasa (activándola) y fosfofructokinasa-2 (promoviendo así la actividad kinasa que estimula la glucólisis).

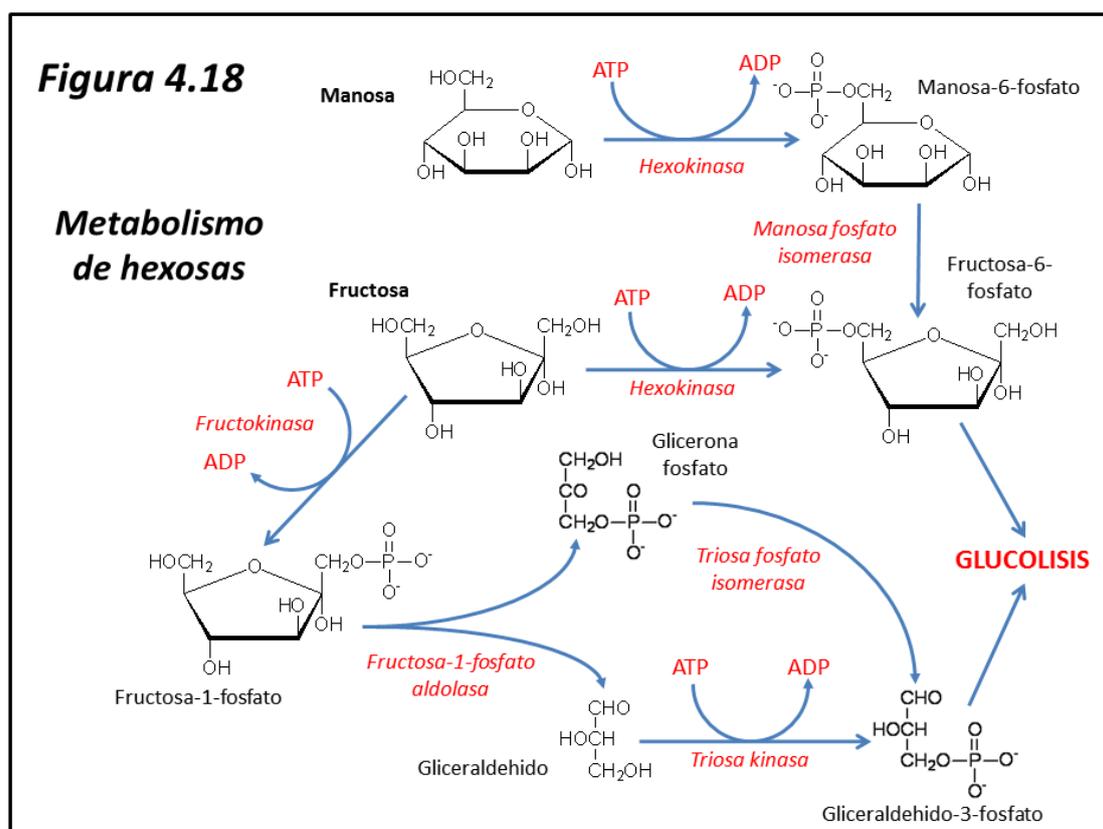
En resumen, el ayuno activa todas aquellas acciones enzimáticas que tienden a incrementar la glucemia: activación de la glucogenólisis e inhibición de la glucólisis; mientras que el estado de saciedad, mediado por la insulina, tiende a activar todas las vías metabólicas que favorecen el almacenamiento o utilización metabólica de la glucosa (disminuyendo por tanto la glucemia). Es útil, a este respecto, el siguiente principio: La fosforilación de enzimas (mediada por la PKA) representa el estado de ayuno, cuya hormona es el glucagon, con estímulo de la glucogenólisis e inhibición de la glucólisis; la defosforilación de enzimas, mediada por protein fosfatasas, representa el estado de saciedad, cuya hormona es la insulina, con inhibición de la glucogenólisis y estímulo de la glucólisis.

4.3 Interconversiones de Hexosas

4.3.1 Introducción

La dieta humana contiene habitualmente otros monosacáridos además de glucosa, aunque ésta (normalmente en forma polimerizada, como en el caso del almidón) suponga el principal contingente. Hay dos hexosas que se presentan con mayor frecuencia que otras, que son **fructosa** y **galactosa**; y en un nivel cuantitativo inferior, podemos considerar la **manosa**.

El metabolismo de estas hexosas consiste esencialmente en su transformación a intermediarios glucolíticos a través de distintos sistemas enzimáticos, tal como se puede apreciar en la **figura 4.18**. Estudiaremos su metabolismo de forma individualizada.



4.3.2 Metabolismo de la fructosa

Desde el punto de vista dietético, la fructosa aparece en cantidades significativas en las frutas, por una parte, y también como monosacárido constituyente de la sacarosa o azúcar común; además, en determinados países (particularmente en los EE.UU.) los jarabes ricos en fructosa, derivados de la industria del maíz, se emplean ampliamente como edulcorantes alimenticios, dado el mayor poder edulcorante de la fructosa sobre otros azúcares. También podemos considerar la miel, que es en esencia un azúcar invertido (es decir, sacarosa hidrolizada), como una importante fuente alimenticia de fructosa.

La fructosa puede seguir dos rutas distintas para su metabolismo:

1. La fructosa puede ser fosforilada por la hexokinasa, dando fructosa-6-fosfato que entra directamente en la secuencia glucolítica. Esta vía tiene relativamente poca importancia, dado

que la glucokinasa hepática o hexokinasa IV (punto de entrada de los carbohidratos dietarios) no es activa sobre la misma.

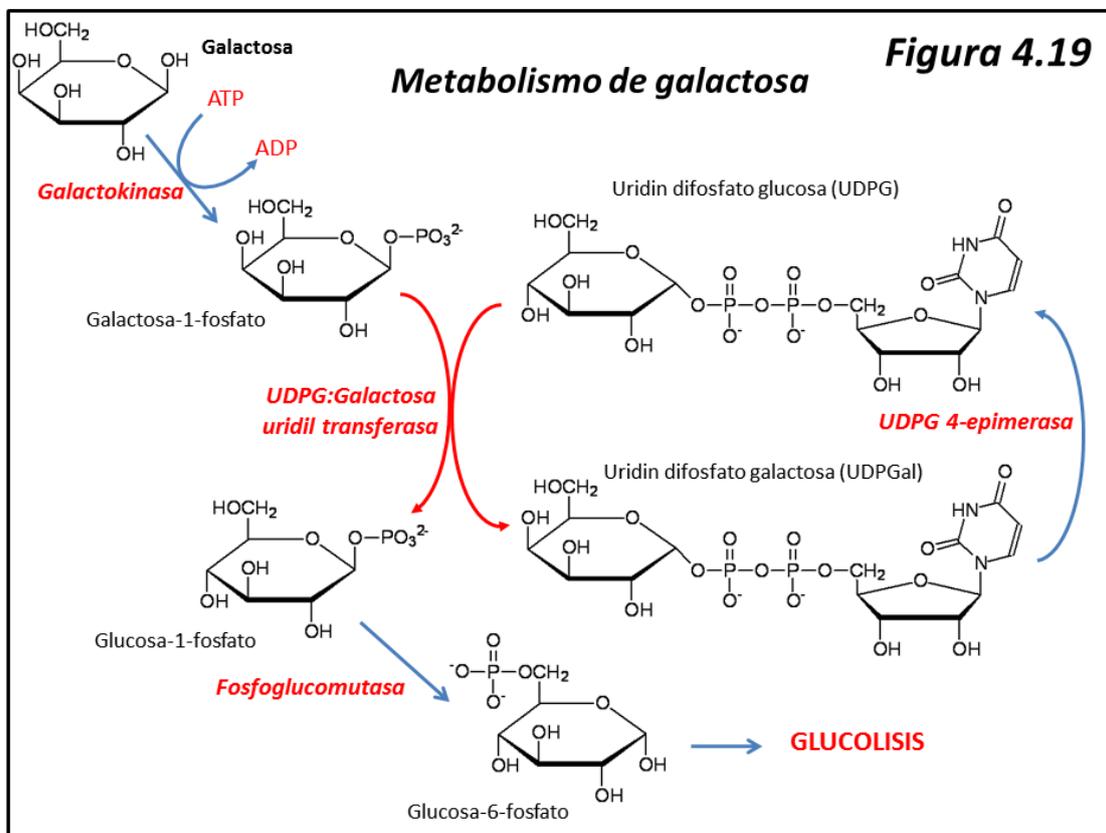
2. Más habitualmente, la fructosa es fosforilada por una enzima específica, la **fructokinasa (EC 2.7.1.3)**, que da lugar al intermediario fructosa-1-fosfato. Éste es escindido por una **Fructosa-1-fosfato aldolasa (EC 4.1.2.13)** en glicerona fosfato (que entra directamente en la secuencia glucolítica) y gliceraldehído. El gliceraldehído puede ser fosforilado a gliceraldehído-3-fosfato mediante la **triosa kinasa (EC 2.7.1.28)** y seguir la secuencia glucolítica normal.

Tanto en un caso como en otro, el metabolismo de la fructosa produce 2 ATP de la misma manera que la glucosa. Ahora bien, en el segundo caso, la fructosa no pasa por la reacción de la fosfofructokinasa-1, que es una reacción regulada; por lo cual, los excesos de fructosa no inhiben la glucólisis en la misma medida que los de glucosa. Por esa razón una dieta rica en fructosa tiende a elevar las concentraciones intracelulares de piruvato a partir del cual se pueden sintetizar, entre otros, los ácidos grasos; con lo cual se favorece el desarrollo de obesidad.

4.3.3 Metabolismo de la galactosa

La galactosa es un monosacárido constituyente del disacárido **lactosa**, el principal carbohidrato de la leche. Tiene, por tanto, una extraordinaria importancia dietética en la edad lactante de los mamíferos, ya que la lactosa llega a constituir el 20 % de la ingesta calórica.

El metabolismo de la galactosa es esencialmente distinto al de otros azúcares, aunque su destino final es también dar lugar a intermediarios glucolíticos. Una característica importante de este metabolismo es el requerimiento de nucleótidos de uridina. El esquema global del mismo aparece en la **figura 4.19**.



La lactosa de la dieta es hidrolizada a galactosa y glucosa a nivel de la mucosa intestinal por la **lactasa**, una β -galactosidasa. Esta enzima se expresa fundamentalmente en los primeros años de vida en los mamíferos, y posteriormente esta expresión puede, en muchos casos, desaparecer. Los individuos en los que la actividad lactasa persiste pueden perfectamente alimentarse con leche durante toda la vida; sin embargo, en aquellos en los que la expresión de la lactasa cesa, la lactosa no puede ser hidrolizada ni absorbida a nivel del intestino. Este exceso de lactosa en la luz intestinal produce (a) un incremento en la presión osmótica, con la consiguiente retención de agua y (b) un estímulo al crecimiento de la flora intestinal bacteriana. Ambos efectos pueden dar lugar a diarreas y deshidratación, típicos del trastorno conocido como *intolerancia a la lactosa*.

La galactosa que llega al hígado es fosforilada por la enzima **galactokinasa (EC 2.7.1.6)** a galactosa-1-fosfato. La galactosa-1-fosfato reacciona con uridin difosfato glucosa (UDPG) mediante la enzima **UDPG:galactosa-1-fosfato uridil transferasa (EC 2.7.7.12)**, intercambiando galactosa por glucosa, de lo que resulta glucosa-1-fosfato, por una parte, y uridin difosfato galactosa (UDPGal) por otra. La glucosa-1-fosfato, por acción de la fosoglucomutasa, rinde glucosa-6-fosfato que seguirá la secuencia glucolítica de la misma manera que la glucosa. Por su parte, UDPGal es transformado a UDPG por acción de la **UDPG 4-epimerasa (EC 5.1.3.2)**. Puede observarse que los derivados de nucleótidos de uridina (UDPG y UDPGal) constituyen un ciclo; por tanto, la velocidad de conversión de galactosa-1-fosfato en glucosa-1-fosfato depende linealmente de la concentración de estos derivados.

La *Galactosemia* es un importante trastorno metabólico congénito, consistente en una deficiencia en UDPG:Galactosa-1-P uridil transferasa, con lo cual se acumulan en el hígado cantidades significativas de galactosa-1-fosfato. Esto compromete gravemente la función hepática y afecta igualmente al sistema nervioso central, produciendo un retraso mental grave. La importancia de este defecto, como tantas otras anomalías congénitas, estriba en que puede diagnosticarse en el momento del nacimiento; si en ese caso se alimenta al recién nacido con dietas exentas de galactosa el desarrollo del niño puede llegar a ser normal.

4.3.4 Metabolismo de la manosa

La manosa, presente en la dieta como parte de oligosacáridos complejos y determinados polisacáridos, puede ser fosforilada por la **hexokinasa** a manosa-6-fosfato. Una segunda enzima, la **fosfomanosa isomerasa (EC 5.3.1.8)**, transforma a ésta en fructosa-6-fosfato, que forma parte de la secuencia glucolítica normal.

4.4 La ruta Pentosa-fosfato

4.4.1 Introducción

Hasta ahora, hemos considerado la glucosa únicamente desde el punto de vista energético; bien produciendo ATP en su degradación anaeróbica o bien siendo almacenada como glucógeno en los momentos de exceso energético. Pero el metabolismo de la glucosa tiene además otras funciones. Una es la provisión de intermediarios para otras rutas metabólicas; así, el piruvato formado en la glucólisis puede ingresar en la mitocondria para su degradación aeróbica o como precursor de la síntesis de lípidos; o bien ciertos intermediarios glucolíticos son el punto de partida para la síntesis de aminoácidos. Un importantísimo proceso en la célula es la síntesis de ácidos nucleicos. Como veremos, ésta es una de las funciones que cumple la vía metabólica que vamos a estudiar a continuación, la **vía pentosa-fosfato** (también llamada **ruta de las pentosas**). Mediante la misma la glucosa da lugar a las pentosas necesarias para la síntesis de ácidos nucleicos. A efectos comparativos, hemos de darnos cuenta de la enorme cantidad de nucleótidos necesarios para la replicación celular o para el correcto funcionamiento de los sistemas de información genética.

Pero además, la vida aeróbica requiere un control estricto de la actividad química del oxígeno. La utilización de éste permite a la célula obtener grandes cantidades de energía a partir de la degradación aeróbica de substratos; ahora bien, su propia elevada actividad química hace del oxígeno un elemento peligroso contra el que la célula debe preservar muchas estructuras que pueden resultar dañadas por su reactividad (ver Cap. 5, *stress oxidativo*). Para ello la célula requiere un suministro continuo y adecuado de **poder reductor**, lo cual se consigue gracias a la producción de la coenzima reducida NADPH en la vía pentosa-fosfato. Un ejemplo bastará para ilustrar este concepto.

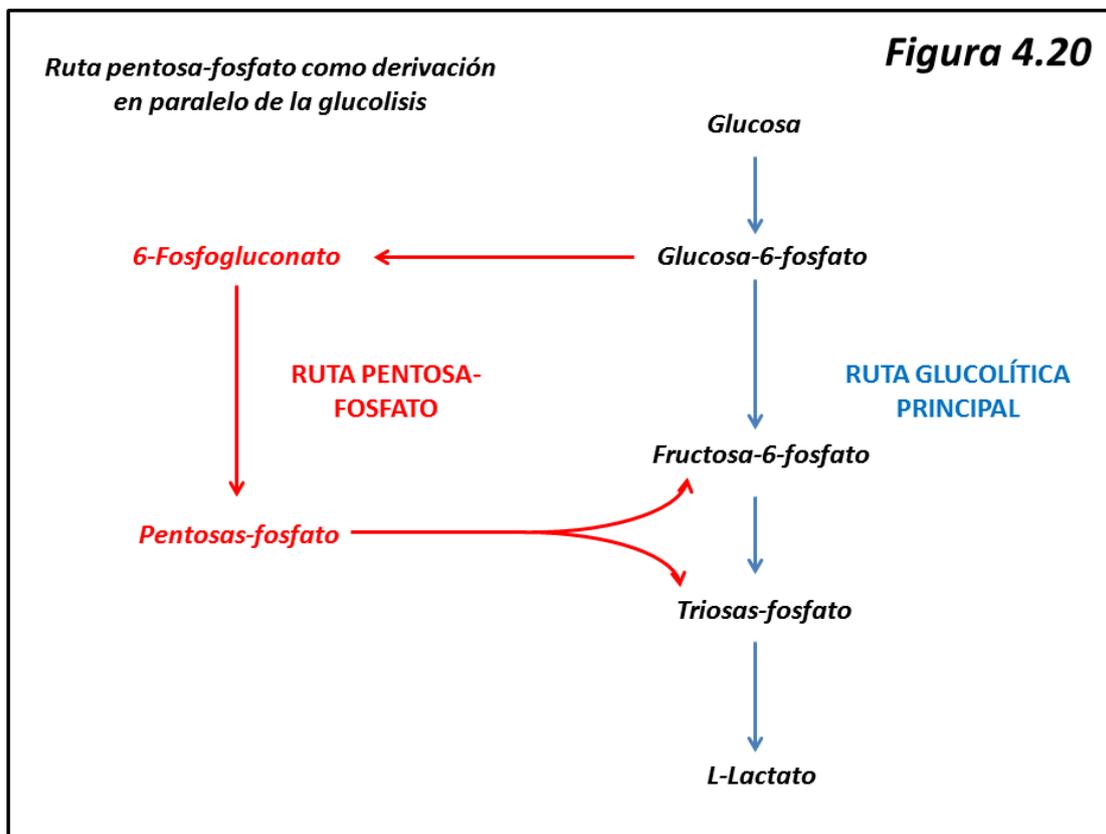
Un trastorno metabólico relativamente común, sobre todo en los países mediterráneos, es el **déficit de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa** (G6PDH, enzima clave en la vía pentosa-fosfato). Se manifiesta este déficit en un síndrome hemolítico (es decir, destrucción masiva de hematíes) ante la ingestión de determinados fármacos; de forma característica aparece en el caso de la **quimioprolifaxis antipalúdica**. Es éste un protocolo preventivo que consiste en la administración de fármacos antipalúdicos (como la **primaquina**, p.e.) a las personas que viven o que van a visitar zonas donde el **paludismo** (también conocido como **malaria**) es endémico. La secuencia bioquímica de acontecimientos es la siguiente: la primaquina, en presencia de oxígeno, da lugar a la aparición de radicales libres oxigenados, los cuales inducen la oxidación masiva de hemoglobina a metahemoglobina en los hematíes. En condiciones normales esta oxidación puede ser revertida gracias al poder reductor presente en la célula, fundamentalmente en forma de **glutación reducido**, el cual se produce a partir de NADPH, que a su vez procede de la actividad de la vía pentosa-fosfato. Las formas mutantes de la G6PDH, sin embargo, no funcionan con la eficacia de la enzima normal, y la cantidad de NADPH producida es sustancialmente menor, por lo que ante la administración de primaquina el equilibrio oxidación/reducción se rompe a favor de aquélla; la metahemoglobina no es reducida y el sistema retículo-endotelial retira y destruye los hematíes cargados de metahemoglobina, lo cual se manifiesta en el síndrome hemolítico citado.

Ahora bien, la célula no solamente requiere poder reductor para la lucha contra el *stress oxidativo*. NADPH es asimismo necesario en las **biosíntesis citoplásmicas**, como la biosíntesis de ácidos grasos, la de colesterol o la reducción de ribo- a desoxirribonucleótidos. Igualmente, se requiere NADPH en multitud de procesos de **destoxificación de xenobióticos**.

Por lo tanto, la formación de precursores de síntesis de ácidos nucleicos y la generación de poder reductor en forma de NADPH son las principales funciones de esta vía metabólica.

4.4.2 Esquema general de la ruta pentosa-fosfato

Podemos considerar a la ruta pentosa-fosfato como una derivación en paralelo de la glucólisis (figura 4.20), que al igual que ésta, es una vía de localización citoplásmica.



Parte de glucosa-6-fosfato, que sufre dos oxidaciones sucesivas y una descarboxilación (con pérdida de un átomo de carbono) para dar pentosas-fosfato. Éstas, por una parte, pueden ser utilizadas en la síntesis de ácidos nucleicos; por otra, a través de una serie de interconversiones, pueden dar lugar a intermediarios glucolíticos como fructosa-6-fosfato o triosas-fosfato, que continuarán la ruta degradativa normal o serán empleadas en la resíntesis de glucosa por reversión de la glucólisis.

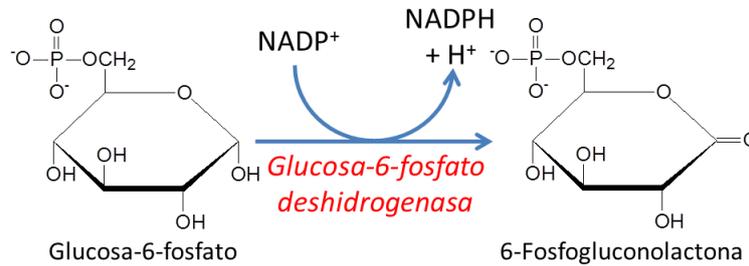
Así, distinguimos en la ruta pentosa-fosfato tres fases: (1) Fase oxidativa; (2) Fase de isomerizaciones; (3) Fase de interconversiones.

4.4.3 Secuencia de reacciones

4.4.3.1 Fase oxidativa

Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH, EC 1.1.1.49)

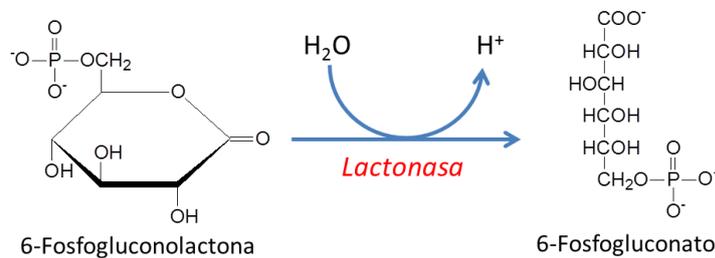
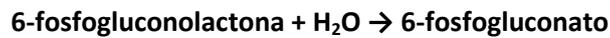
La glucosa-6-fosfato es oxidada al intermediario **6-fosfogluconolactona** al tiempo que la coenzima oxidada NADP^+ es reducida a $\text{NADPH} + \text{H}^+$ mediante esta enzima:



La G6PDH es la enzima limitante de todo el flujo a través de la vía de las pentosas, y aparece inhibida alostéricamente por NADPH, de modo que una concentración elevada de esta coenzima reduce el flujo metabólico a través de la vía pentosa-fosfato, sin que existan otros puntos de regulación. Por esa razón también las formas mutantes de G6PDH, como hemos visto más arriba, comprometen la función de esta vía disminuyendo el poder reductor de la célula en forma de NADPH.

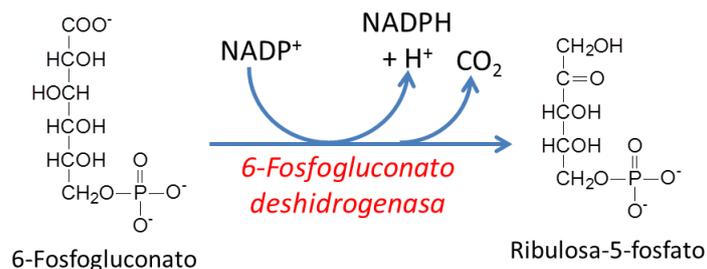
Lactonasa (EC 3.1.1.31)

En esta reacción, 6-fosfogluconolactona es hidrolizada (las lactonas son ésteres intramoleculares) a 6-fosfogluconato, derivado fosforilado del ácido glucónico (recuérdese que este ácido deriva de la oxidación a carboxilo del carbono 1 de la glucosa):



6-Fosfogluconato deshidrogenasa (EC 1.1.1.44)

A continuación, 6-fosfogluconato es nuevamente oxidado al tiempo que el carbono 1 se desprende en forma de CO_2 , dando lugar a ribulosa-5-fosfato:



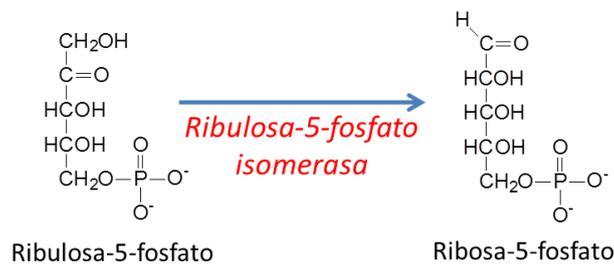
Por tanto, vemos que al entrar en la vía pentosa-fosfato, las hexosas (glucosa) se transforman en pentosas (ribulosa-5-fosfato) por pérdida del carbono 1. Así, una manera de estimar la intensidad de la vía pentosa-fosfatos (en el hematíe, que carece de metabolismo aeróbico) es medir la cantidad de $^{14}\text{C-CO}_2$ producido al incubar la célula con ^{14}C -glucosa marcada en el carbono 1.

4.4.3.2 Fase de isomerizaciones

La ribulosa-5-fosfato producida en la reacción anterior puede seguir dos vías distintas:

Isomerización: Ribulosa-5-fosfato isomerasa (EC 5.3.1.6)

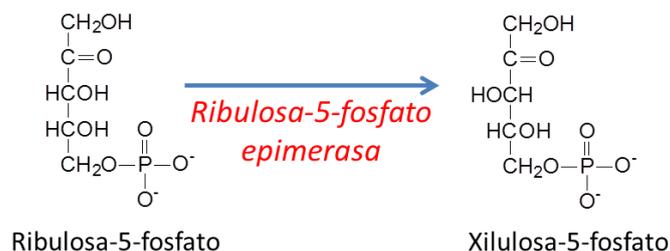
Mediante esta enzima, la ribulosa-5-fosfato (cetosa fosfato) se transforma en **ribosa-5-fosfato** (aldosa fosfato):



Que sería el punto de partida para la biosíntesis de nucleótidos o bien entraría en los ciclos de interconversiones que veremos a continuación.

Epimerización: Ribulosa-5-fosfato epimerasa (EC 5.1.3.4)

La acción de esta enzima convierte a la ribulosa-5-fosfato en su epímero **xilulosa-5-fosfato**, sustrato de las reacciones de interconversión que constituyen la siguiente fase de la vía pentosa-fosfato:



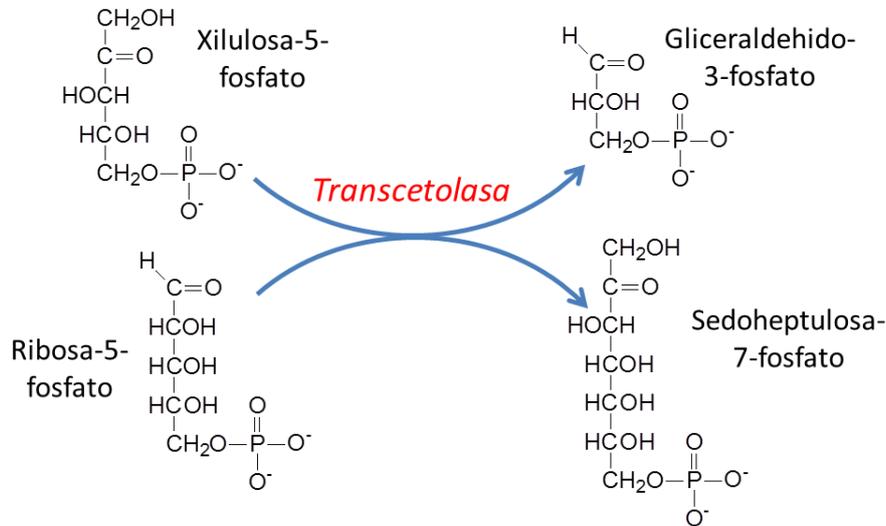
4.4.3.3 Fase de interconversiones

Esta fase consiste en la conversión de las pentosa-fosfatos en intermediarios glucolíticos. Son dos las enzimas que intervienen en la misma: **Transcetoalasa** y **Transaldolasa**.

Transcetoalasa (EC 2.2.1.1)

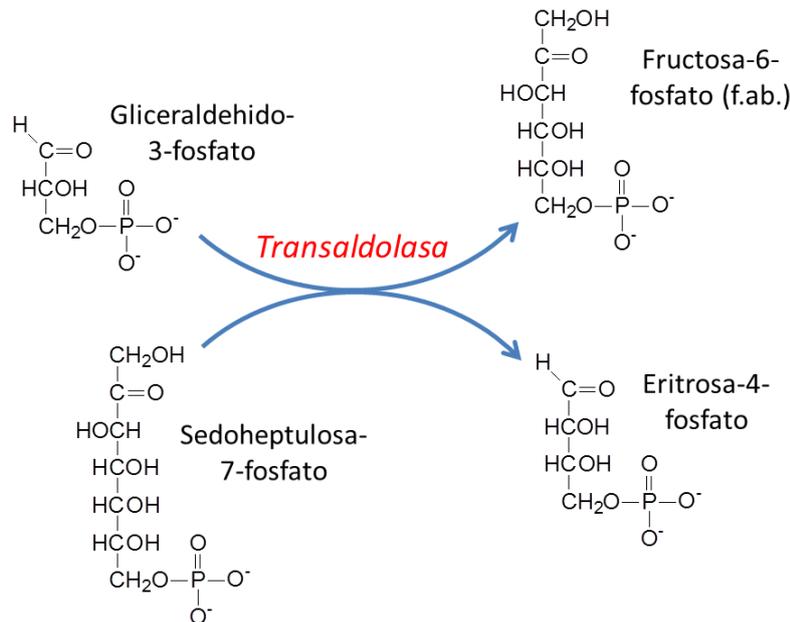
Este enzima, que requiere tiamina difosfato como cofactor, cataliza la transferencia de un grupo cetol ($-\text{CO}-\text{CH}_2\text{OH}$) desde una cetosa a un grupo aldehído aceptor. Así, actuando sobre

xilulosa-5-fosfato y ribosa-5-fosfato daría lugar a **gliceraldehido-3-fosfato** y **sedoheptulosa-7-fosfato**:



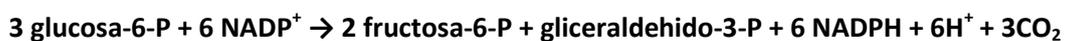
Transaldolasa (EC 2.2.1.2)

Cataliza la transferencia de un grupo glicerona fosfato (dihidroxiacetona fosfato) desde una cetosa a un grupo aldehído aceptor. Actuando sobre sedoheptulosa-7-fosfato y gliceraldehido-3-fosfato da lugar a **eritrosa-4-fosfato** y **fructosa-6-fosfato**:



4.4.4 Estequiometría de la vía pentosa-fosfato

La acción conjunta de las enzimas de interconversión, transcetolasa y transaldolasa, convierten tres moléculas de glucosa que entran en la vía pentosa fosfato en dos moléculas de fructosa-6-fosfato, una de gliceraldehido-3-fosfato, tres de CO₂ y 6 de NADPH, tal como se ilustra en la **figura 4.21**. De esta manera, la degradación de glucosa a través de esta vía puede representarse así:



4.4.5 Regulación de la vía pentosa-fosfato

Como hemos visto, el único punto regulatorio de esta vía radica en la reacción de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, debido a la inhibición por producto final que ejerce NADPH sobre la actividad de esta enzima. Todos los demás pasos de la vía están prácticamente en equilibrio.

Sin embargo, tenemos que considerar a la vía pentosa-fosfato como íntimamente relacionada con aquellos procesos que hemos citado anteriormente. Así, la síntesis de ácidos nucleicos debe exigir una alta actividad de esta vía, tanto para la síntesis de nucleótidos como para el poder reductor necesario para la formación de desoxinucleótidos. Igualmente, la síntesis de ácidos grasos y de colesterol debe necesariamente estar coordinada con la actividad de esta vía, para la generación del NADPH requerido en ambos casos. En el hematíe, el mantenimiento de la hemoglobina en estado reducido requiere también un suministro constante de NADPH. En este sentido, los tejidos con mayor actividad de la vía pentosa-fosfato son: (a) Glándula adrenal, ovario y testículos (síntesis de esteroides); (b) Tejido adiposo y glándula mamaria (síntesis de ácidos grasos); (c) Hígado (síntesis de ácidos grasos y colesterol); y (d) Hematíes (mantenimiento en estado reducido de la hemoglobina). A todo esto deberíamos añadir todos aquellos tejidos de crecimiento rápido (que requieren grandes cantidades de nucleótidos) como la médula ósea, la epidermis, la mucosa intestinal, etc.

4.5 Neoglucogénesis

4.5.1 Introducción

La glucosa es el combustible esencial, prácticamente único, para determinadas células y tejidos. Particularmente importante a este respecto es el tejido nervioso, dependiente íntegramente de glucosa; los hematíes de la sangre, por su parte, solamente pueden obtener energía a partir de esta molécula para mantener su importante función de transporte de oxígeno.

Ahora bien, no siempre hay un suministro constante de glucosa por parte del ingreso dietario, y la reserva hepática de glucógeno puede en ocasiones no ser suficiente para mantenerlo a niveles adecuados. Los animales pasan por períodos más o menos largos de ayuno, que comprometen el suministro de glucosa; asimismo hay animales (carnívoros) cuya dieta es deficiente en hidratos de carbono; y en fin, hay situaciones fisiológicas en las que aumenta el requerimiento de glucosa, como por ejemplo en el embarazo.

La ruta metabólica que denominamos **neoglucogénesis** (también llamada gluconeogénesis) tiene por objeto la *síntesis de glucosa a partir de precursores no hidrocarbonados*. De esta forma se puede mantener el crítico suministro de glucosa al cerebro en las circunstancias que hemos mencionado, así como a otros tejidos. Entre estos precursores que pueden dar lugar a glucosa por neoglucogénesis se cuentan, en primer lugar, los aminoácidos de las proteínas; también los intermediarios del ciclo de Krebs, el lactato producido en la glucólisis y el glicerol procedente del metabolismo lipídico. Otros precursores neoglucogénicos (pero con poca relevancia en el organismo humano) son el propionato (producido en el aparato digestivo de los rumiantes) o el acetato (precursor neoglucogénico en determinadas bacterias).

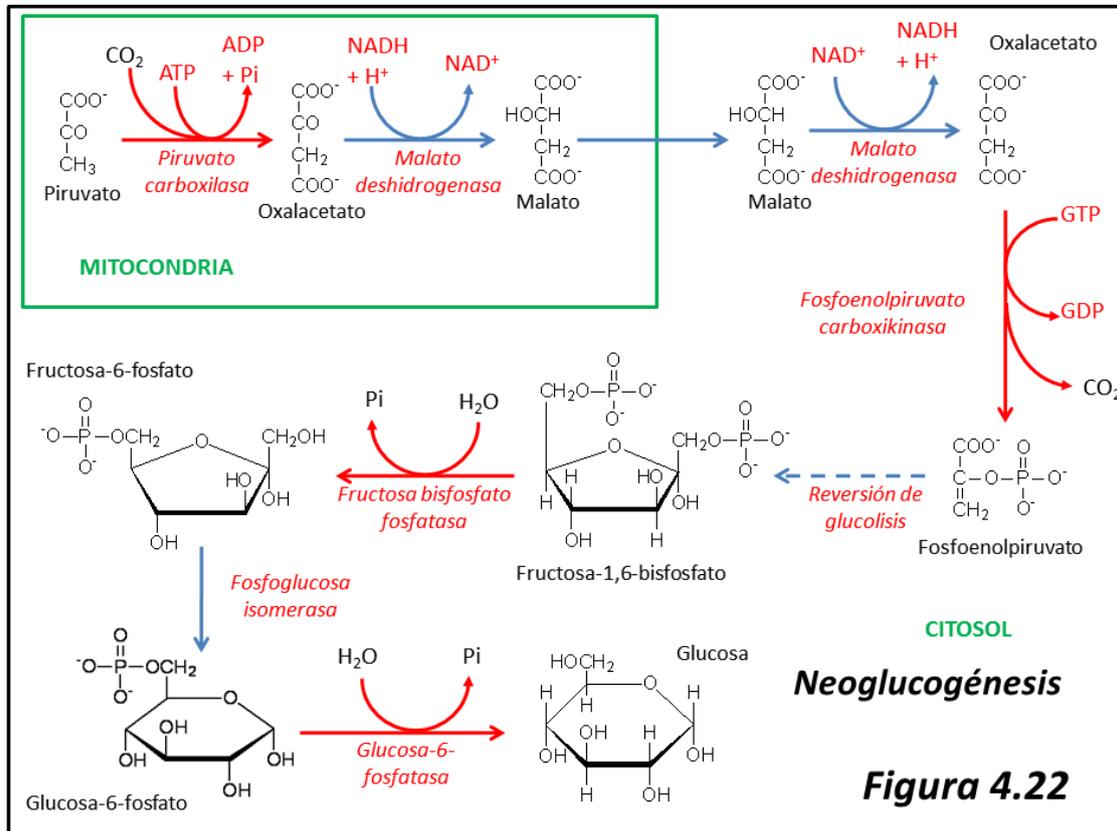
La neoglucogénesis cursa en su mayor parte a través de la reversión de reacciones glucolíticas, que como hemos visto, en su mayor parte son reacciones cercanas a su equilibrio termodinámico. Pero en la secuencia glucolítica hay tres pasos alejados de su equilibrio, y son los pasos que consideramos cinéticamente irreversibles: la hexokinasa, la fosfofructokinasa-1 y la piruvato kinasa. La vía neoglucogénica tiene que obviar estos tres pasos, y lo hace a través de enzimas distintas. Por ello, la secuencia de reacciones de la neoglucogénesis es la inversa a la de la glucólisis con la excepción de estos tres pasos, que serían (1) conversión de piruvato a fosfoenolpiruvato; (2) conversión de fructosa-1,6-bisfosfato a fructosa-6-fosfato; y (3) conversión de glucosa-6-fosfato a glucosa.

En la presente discusión estudiaremos la neoglucogénesis a partir de piruvato. A diferencia de las vías que hemos estudiado hasta ahora, todas ellas de localización citoplásmica, alguna de las reacciones neoglucogénicas específicas tienen lugar en la mitocondria. Hemos de tener en cuenta que gran parte del metabolismo intermediario, en donde confluyen todos los tipos de biomoléculas, y en particular muchos precursores neoglucogénicos, tiene lugar en dicha organela.

Los tejidos más activos en neoglucogénesis son el hígado y el cortex renal; en menor medida, la mucosa intestinal. De esta manera el hígado, de situación central en la circulación, va a ser el principal suministrador de glucosa neoglucogénica a los demás órganos y tejidos. Por otra parte, la regulación de la neoglucogénesis, como veremos, está íntimamente imbricada con la de la glucólisis (aunque naturalmente en sentido contrario); y las hormonas que conocemos como **glucocorticoides**, producidas en la corteza adrenal, son estimulantes de la neoglucogénesis a un nivel sistémico.

4.5.2 Secuencia de reacciones

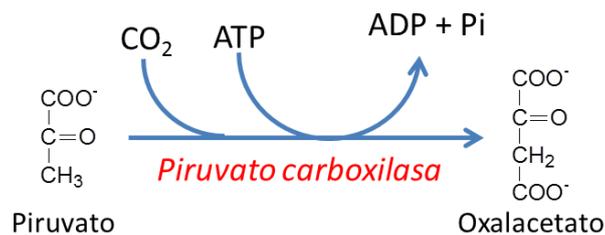
El conjunto de reacciones que vamos a estudiar en la presente discusión aparece esquematizado en la **figura 4.22**. En realidad, la neoglucogénesis podría ser presentada desde numerosos precursores iniciales. Pero aquí presentaremos una “vía final común” que es la que parte de piruvato.



4.5.2.1 Fase mitocondrial

Piruvato carboxilasa (EC 6.4.1.1)

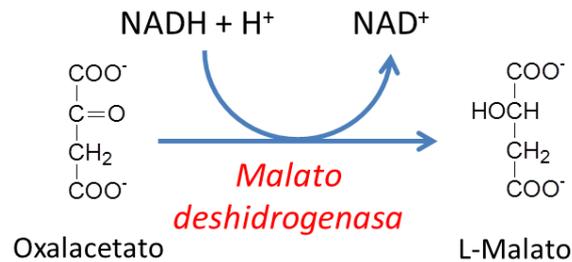
La primera reacción consiste en la carboxilación de piruvato por parte de la piruvato carboxilasa, en una reacción ligásica dependiente de ATP, para dar **oxalacetato**. Se trata de una enzima compleja, que utiliza **biotina** como cofactor, y parecida a otras carboxilaciones metabólicamente relevantes:



La piruvato carboxilasa es una enzima alostérica, que se activa por acetil-CoA. Un aumento en la concentración de este intermediario indica una cierta incapacidad del ciclo de Krebs para metabolizarlo; la acción activadora de acetil-CoA sobre la piruvato carboxilasa, dando lugar a oxalacetato, es, por una parte, estimuladora de la neoglucogénesis; por otra, constituye una típica reacción *anaplerótica* (cuya función es incrementar la concentración de intermediarios del ciclo, según veremos en el capítulo siguiente).

Malato deshidrogenasa (EC 1.1.1.37)

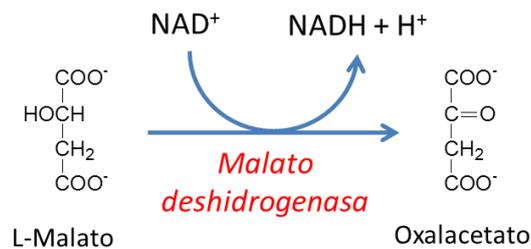
El oxalacetato formado en la reacción anterior es incapaz de atravesar la membrana interna mitocondrial, que sin embargo tiene un sistema específico de transporte para **malato**. De esta forma, la malato deshidrogenasa mitocondrial reduce al oxalacetato para dar malato, el cual puede pasar de esta forma al citoplasma:



4.5.2.2 Fase citoplásmica

Malato deshidrogenasa (EC 1.1.1.37)

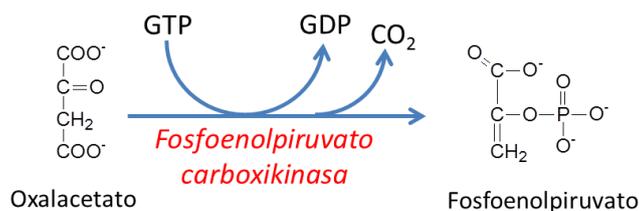
El malato procedente de la mitocondria es nuevamente oxidado a **oxalacetato**, que será el sustrato de la siguiente reacción:



Este intercambio malato/oxalacetato está presente también en otros procesos metabólicos, como los procesos de lanzadera (ver capítulo siguiente)

Fosfoenolpiruvato carboxikinasa (PEPCK, EC 4.1.1.32)

La conversión a fosfoenolpiruvato (con lo cual se completa el rodeo metabólico para evitar la irreversibilidad de la piruvato kinasa glucolítica) tiene lugar gracias a la acción de esta enzima, que cataliza la formación de fosfoenolpiruvato a partir de oxalacetato en una reacción dependiente de GTP, con desprendimiento de CO₂:

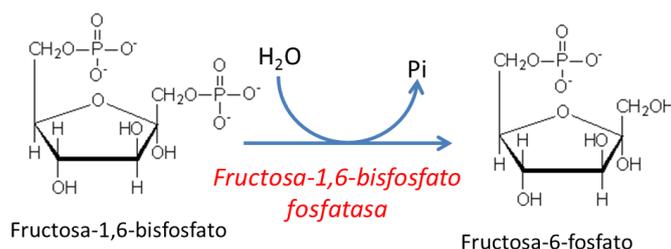
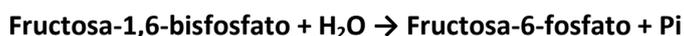


A diferencia de otras enzimas de la vía neoglucogénica, la PEPCK está sobre todo regulada a nivel de transcripción genética. Ante estímulos neoglucogénicos (como el ayuno) puede observarse un aumento en el nivel de esta enzima al cabo de pocas horas, debido al aumento específico de su síntesis. Este aumento está producido por (a) la presencia de glucocorticoides o (b) un incremento en el cAMP intracelular producido por la presencia de glucagon con estímulo de la adenilato ciclasa. La síntesis de PEPCK es estimulada por los agentes citados a nivel de la transcripción genética, con un incremento notable de mRNA específico de esta enzima.

Como veíamos, con este paso se completa el rodeo necesario para obviar la barrera de irreversibilidad de la piruvato kinasa. A continuación, las mismas enzimas de la glucolisis se encargan de transformar fosfoenolpiruvato en fructosa-1,6-bisfosfato: enolasa, fosfoglicerato mutasa, fosfoglicerato kinasa, gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa, triosa fosfato isomerasa y aldolasa, todas ellas en una posición cercana a su equilibrio y por tanto fácilmente reversibles. Al término de esta secuencia enzimática llegamos a la siguiente barrera de irreversibilidad: el paso de fructosa-1,6-bisfosfato a fructosa-6-fosfato.

Fructosa-1,6-bisfosfato fosfatasa (EC 3.1.3.11)

La reacción catalizada por la fosfofructokinasa-1 en la glucolisis es cinéticamente irreversible. Por tanto, se necesita otro rodeo metabólico para continuar con la neoglucogénesis. Se trata de la hidrólisis de fructosa-1,6-bisfosfato para dar fructosa-6-fosfato y fosfato inorgánico en una reacción prácticamente irreversible:

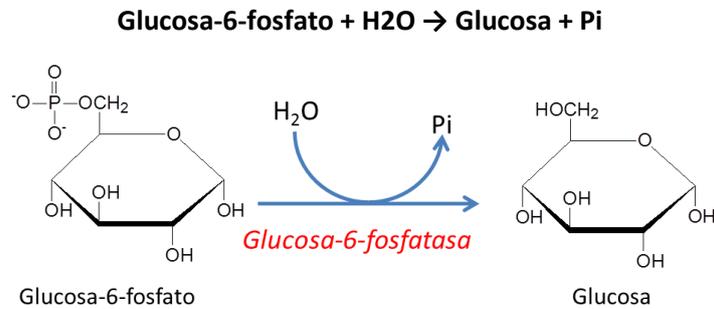


Es una enzima alostérica fuertemente regulada, que presenta cinética sigmoideal (cooperatividad homotrópica positiva) hacia su substrato y es inhibida por AMP y por fructosa-2,6-bisfosfato. Recuérdese que este último intermediario es un importante activador la glucolisis y producto de la actividad kinásica de la fosfofructokinasa-2; y que esta enzima, en su forma fosforilada (inducida por glucagon) tiene, por el contrario, una actividad fosfatásica. Las condiciones neoglucogénicas, por tanto, tienden a disminuir el nivel intracelular de fructosa-2,6-bisfosfato, lo cual favorece la acción de la fructosa-1,6-bisfosfato fosfatasa. Igualmente, un aumento en la concentración de AMP significa una déficit energético en la célula, condición que de esta forma inhibe a la neoglucogénesis.

La siguiente enzima (yendo como siempre en sentido contrario a la glucólisis) es la fosfoglucosa isomerasa, que transforma la fructosa-6-fosfato en glucosa-6-fosfato. Es una reacción fácilmente reversible que nos lleva hasta la siguiente barrera de irreversibilidad.

Glucosa-6-fosfatasa (EC 3.1.3.9)

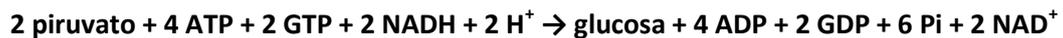
La barrera de irreversibilidad que representa la hexokinasa es sorteada por esta enzima, cuya acción estudiamos al considerar la glucogenólisis:



Esta reacción es importante sobre todo en mamíferos, en donde el propósito de la neoglucogénesis es ante todo mantener un nivel adecuado de glucemia apta para el consumo de tejidos dependientes de glucosa (como el tejido nervioso). Aparece esencialmente en los órganos neoglucogénicos (hígado, cortex renal y mucosa intestinal) asociada a las vesículas del retículo endoplásmico. Con ello la glucosa producida pasa a estas vesículas que descargarán la glucosa al torrente circulatorio por un mecanismo de exocitosis. No existe esta enzima en otros tejidos, en particular en el muscular, donde la glucosa-6-fosfato producida por neoglucogénesis se almacena en forma de glucógeno.

4.5.3 Balance energético de la neoglucogénesis

Podemos representar la estequiometría de la neoglucogénesis a partir de piruvato como sigue:



En donde vemos que son necesarios 6 enlaces ricos en energía para la síntesis de una molécula de glucosa a partir de piruvato. Por su parte, NADH aparece en la ecuación global al considerar la neoglucogénesis a partir de piruvato; no aparecería si el precursor fuera lactato.

El desglose de enlaces ricos en energía sería el siguiente:

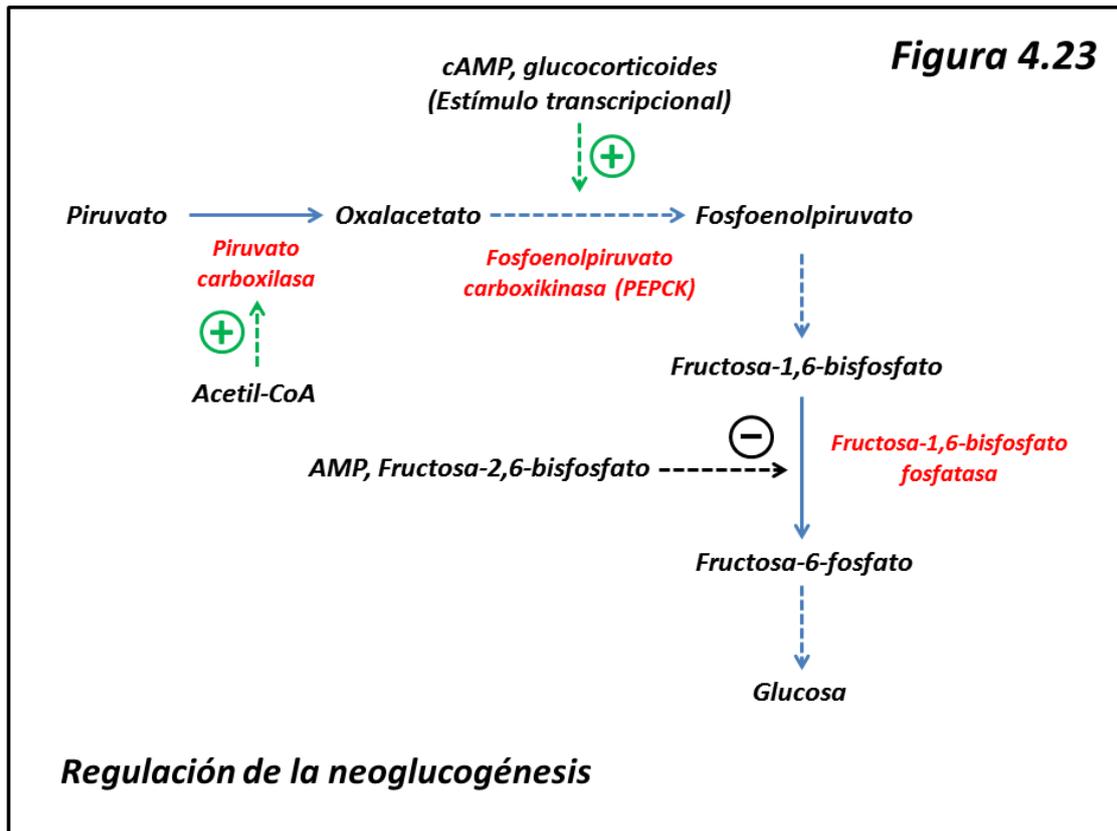
2 Piruvato carboxilasa	2 ATP
2 Fosfoenolpiruvato carboxikinasa	2 GTP
2 Fosfoglicerato kinasa	2 ATP
Total	4 ATP + 2 GTP = 6 ATP equiv.

Por tanto, la síntesis neoglucogénica de una molécula de glucosa requiere seis enlaces ricos en energía. Compárese este resultado con los dos ATP producidos en la glucólisis.

4.5.4 Regulación de la neoglucogénesis

La regulación de la neoglucogénesis sigue en gran parte la misma regulación que la glucolisis, pero en sentido opuesto. En la glucolisis podemos considerar como enzima limitante la fosfofructokinasa-1; en la neoglucogénesis es la enzima encargada de sortear dicho paso irreversible, es decir, la fructosa-1,6-bisfosfato fosfatasa. Estimulan la glucolisis los marcadores de déficit de energía; estimulan la neoglucogénesis los marcadores de exceso de energía. En cuanto a las regulaciones sistémicas, encontramos al glucagon como estimulador de la neoglucogénesis, así como las hormonas glucocorticoides; la insulina, por el contrario, estimula la glucolisis.

Los puntos de regulación son los siguientes (figura 4.23):



1. Piruvato carboxilasa: activada alostéricamente por acetil-CoA, representa una señal de exceso de este intermediario, que debe ser paliado a través de una reacción anaplerótica (ver cap. 5)

2. Fructosa-1,6-bisfosfato fosfatasa: Se trata de una enzima de comportamiento alostérico, que es inhibida por AMP (indicador de déficit energético) y por fructosa-2,6-bisfosfato (activador de la glucolisis). En este sentido, es útil comparar con la regulación de la glucolisis: AMP y fructosa-2,6-bisfosfato son activadores de la misma; por tanto, estos mismos intermediarios se comportan de manera opuesta en neoglucogénesis y glucolisis.

Interesa asimismo considerar el papel de las hormonas sistémicas. El glucagon es un activador neoglucogénico: el incremento de cAMP intracelular producido por esta hormona activa, por un lado, a la protein quinasa A (con fosforilación de la fosfofructokinasa-2 y consiguiente pérdida de la actividad kinasa), y por otro, activa la transcripción del gen de la PEPCK. Los glucocorticoides, bien naturales (como el cortisol) o bien semisintéticos (como la prednisona o la dexametasona) activan asimismo la transcripción de los genes de enzimas neoglucogénicas, en particular la PEPCK. La insulina, por su parte, inhibe la neoglucogénesis a través de la

defosforilación de la fosfofructokinasa-2, con el consiguiente aumento de la actividad kinásica de esta enzima (y por tanto, aumento de fructosa-2,6-bisfosfato y estímulo de la glucólisis).

4.6 Síntesis de glucógeno

4.6.1 Introducción

Como tantas otras vías metabólicas, la síntesis de glucógeno sigue una vía distinta a la mera reversión de la degradación (a pesar de que la reacción catalizada por la glucógeno fosforilasa es perfectamente reversible). Siendo síntesis y degradación procesos metabólicos opuestos, están lógicamente regulados por señales antagónicas, y tienen que tener lugar sobre enzimas necesariamente distintas.

Así, la enzima clave de la síntesis de glucógeno es la **glucógeno sintasa**, que utiliza como sustrato el derivado nucleotídico UDPG (uridina difosfato glucosa). Veremos que esta enzima presenta una regulación en sentido contrario a la vista en la glucógeno fosforilasa. Se requiere asimismo la acción de una enzima ramificante que va añadiendo ramificaciones a la molécula de glucógeno en formación.

4.6.2 Secuencia de reacciones

La secuencia de reacciones de la síntesis de glucógeno se presenta en la [figura 4.24](#).

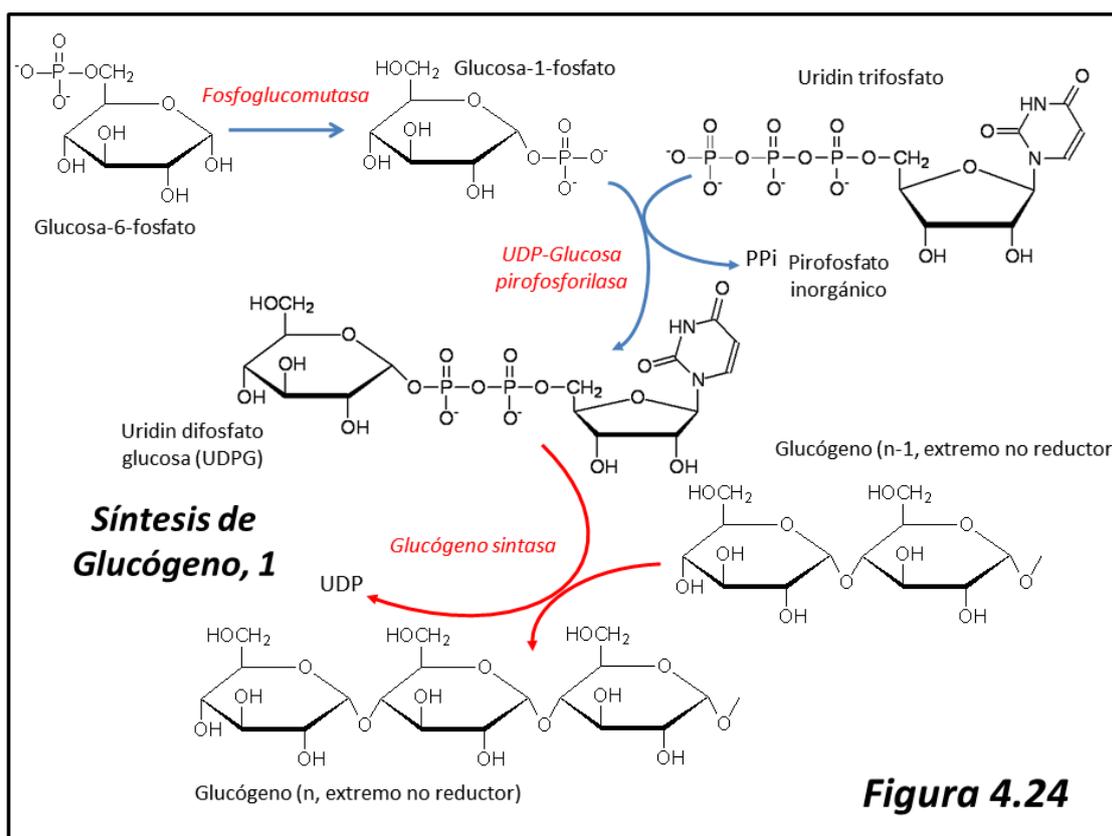


Figura 4.24

La glucosa-6-fosfato es transformada por la **fosfoglucomutasa** (enzima que también actúa en la glucogenólisis) en glucosa-1-fosfato. El residuo de glucosa será incorporado a UDPG en la reacción catalizada por la UDP-glucosa pirofosforilasa.

UDP-glucosa pirofosforilasa (EC 2.7.7.9)

El residuo de glucosa de glucosa-1-fosfato es transferido a un nucleótido de uridina en la reacción (reversible) catalizada por esta enzima:



En esta reacción, glucosa-1-fosfato reacciona con el nucleótido uridina trifosfato (UTP) para dar lugar a UDPG y pirofosfato inorgánico. El UDPG así formado será el sustrato de la enzima propiamente polimerizante, la glucógeno sintasa.

Glucógeno sintasa (EC 2.4.1.11)

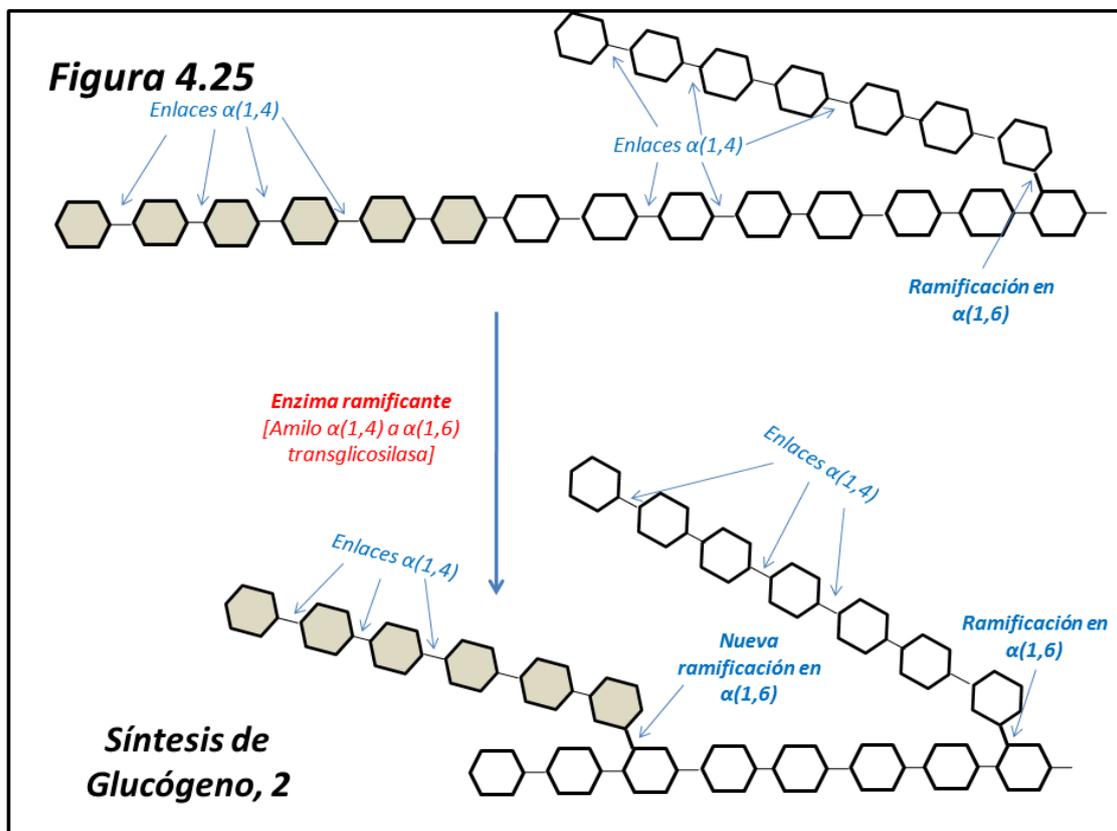
Esta enzima transfiere el residuo de glucosa de UDPG al extremo no reductor de una cadena de glucógeno, con liberación de UDP:



Esta reacción necesita un cebador constituido por una molécula de glucógeno con un extremo no reductor libre. La iniciación de la síntesis corre a cargo de una proteína específica, la **glucogenina**. Esta proteína puede incorporar un residuo de glucosa desde UDPG a una unión covalente con un residuo específico de tirosina presente en la misma. La propia glucogenina incorpora otros siete residuos de glucosa de manera que queda constituido un cebador de la síntesis de ocho residuos de glucosa, sobre el que puede actuar ya la glucógeno sintasa.

Enzima ramificante (EC 2.4.1.18)

Las ramificaciones en la molécula de glucógeno se forman mediante la enzima amilo (1,4) a (1,6) transglucosidasa, cuyo modo de acción aparece en la [figura 4.25](#).



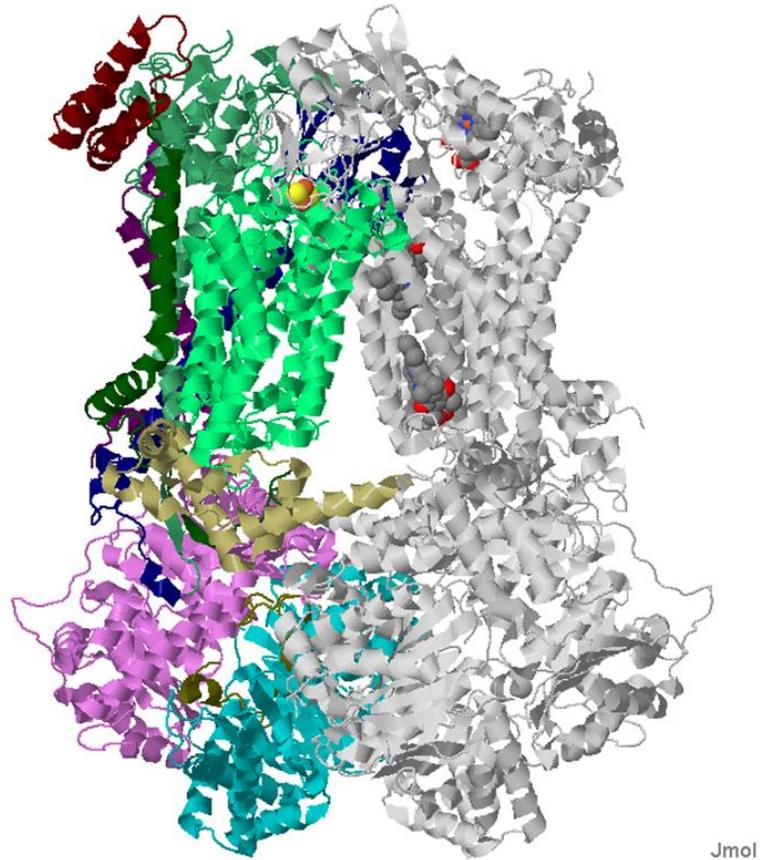
Esta enzima transfiere un fragmento de al menos seis residuos desde el extremo no reductor uniéndolo en $\alpha(1,6)$ a otro residuo situado al menos a cuatro de distancia de otra ramificación $\alpha(1,6)$.

4.6.3 Regulación de la síntesis de glucógeno

En la síntesis de glucógeno encontramos una regulación de signo enteramente contrario a la que veíamos en la glucogenolisis. La glucógeno sintasa está sometida a una regulación covalente por fosforilación a cargo de la **protein kinasa A** (PKA), de tal manera que la forma fosforilada es inactiva mientras que la forma desfosforilada, producida por la acción de la protein fosfatasa I, es la forma activa de la enzima.

Vemos que se trata de un fenómeno opuesto a la regulación de la glucógeno fosforilasa. Así, hormonas como el glucagon (que incrementa la concentración intracelular de cAMP) activa a la PKA y por tanto inactiva a la glucógeno sintasa (activando, por el contrario, a la fosforilasa). Hormonas como la insulina, al activar la actividad protein fosfatasa, estimula a la glucógeno sintasa e inhibe a la fosforilasa.

CAPÍTULO 5: Metabolismo intermediario



5.1 Introducción

5.1.1 Concepto de metabolismo intermediario

Distinguíamos en un capítulo anterior las *tres fases del metabolismo*. Denominábamos **fase I** la síntesis o degradación de moléculas poliméricas desde o hacia sus unidades monoméricas: monosacáridos en el caso de hidratos de carbono, aminoácidos en las proteínas, ácidos grasos, glicerol y otros componentes en los lípidos. La **fase II** del metabolismo está constituida por los procesos, asimismo sintéticos o degradativos, que se dan entre estas unidades monoméricas y una serie de metabolitos centrales, comunes a todas las familias de biomoléculas. La **fase III** del metabolismo consiste en las interconversiones entre estos metabolitos centrales, así como su total degradación a CO_2 y H_2O . Es esta fase III la que vamos a estudiar en este capítulo, y que recibe también el nombre de Metabolismo Intermediario.

El metabolismo intermediario es un espacio metabólico común a todas las familias de biomoléculas: hidratos de carbono, lípidos, aminoácidos y nucleótidos. Lo es tanto en sentido

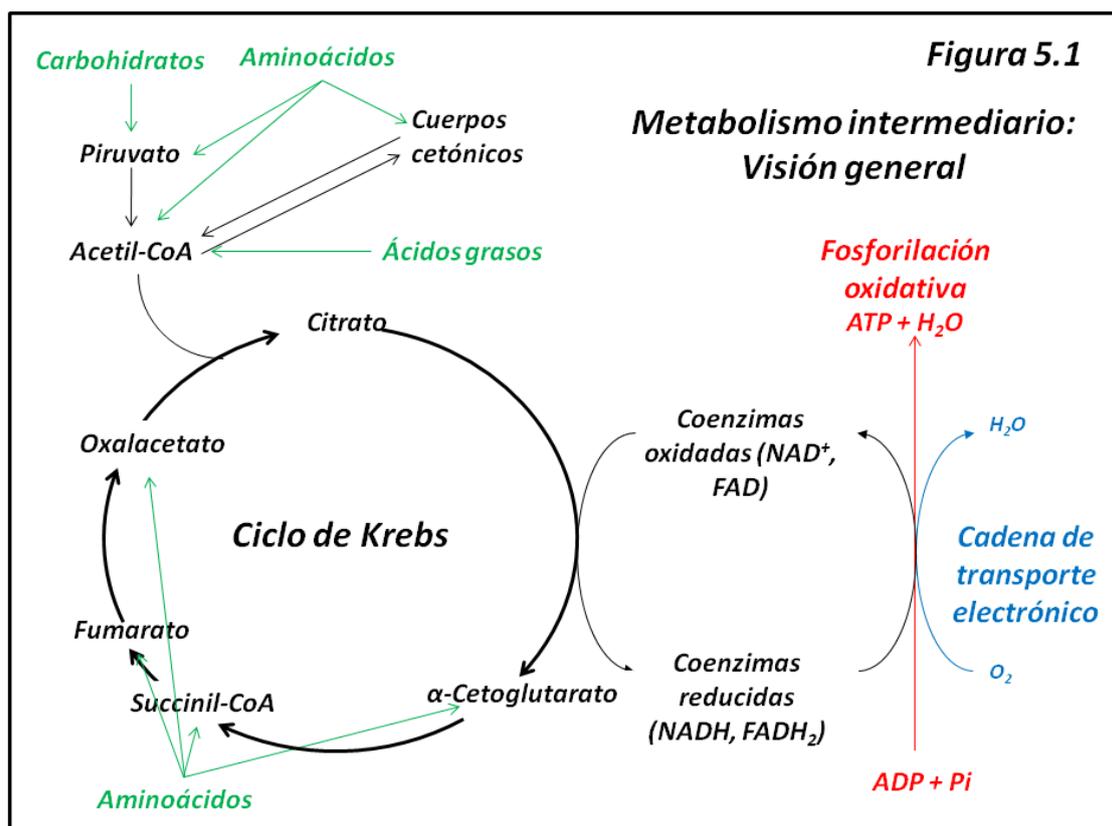
degradativo como en el biosintético: Por una parte, el catabolismo de las biomoléculas rinde intermediarios que van a entrar en esta área del metabolismo; por otra, la biosíntesis de las mismas se hace a partir de metabolitos intermediarios como los que vamos a ver. En el metabolismo de hidratos de carbono, por ejemplo, hemos visto cómo la glucosa da lugar a piruvato en la glucólisis y cómo es sintetizada a partir de piruvato en la neoglucogénesis. Así, piruvato va a ser un típico metabolito intermediario: Por transaminación, el piruvato da lugar al aminoácido alanina; degradado por el proceso de descarboxilación oxidativa dará lugar a acetil-CoA, que puede ser dirigido hacia la síntesis de lípidos o hacia su degradación aeróbica completa; o bien, a través de su reducción a lactato, es el punto final de la glucólisis en condiciones anaeróbicas. En este ejemplo vemos cómo el piruvato participa de alguna manera en el metabolismo tanto de hidratos de carbono, como de proteínas y aminoácidos, o de lípidos. Ésta es la característica general de todos los metabolitos intermediarios.

Se suele estudiar el metabolismo intermediario a continuación del metabolismo de hidratos de carbono. Esto se hace así únicamente por razones didácticas; porque el metabolismo intermediario es, como hemos visto, el espacio metabólico común a todas las biomoléculas.

En general, las reacciones catabólicas suelen exergónicas, es decir, liberan energía libre química ($\Delta G < 0$); las reacciones anabólicas, al ser endergónicas ($\Delta G > 0$), requieren el concurso de la hidrólisis de fosfatos de alta energía (ATP, GTP, etc.) para poder tener lugar. En este sentido, veremos como muchas (pero no todas) de las reacciones del metabolismo intermediario son **anfibiólicas**; suelen estar cerca del equilibrio ($\Delta G \approx 0$) lo que indica que pueden cursar fácilmente en un sentido o en otro dependiendo de las concentraciones instantáneas de sus reactivos o productos. De esta manera los metabolitos intermediarios pueden ser (a) o pasos intermedios en la degradación final de las biomoléculas o (b) puntos de inicio de la biosíntesis de las mismas.

5.1.2 Visión de conjunto del metabolismo intermediario

Una visión general del metabolismo intermediario aparece en la **figura 5.1**.



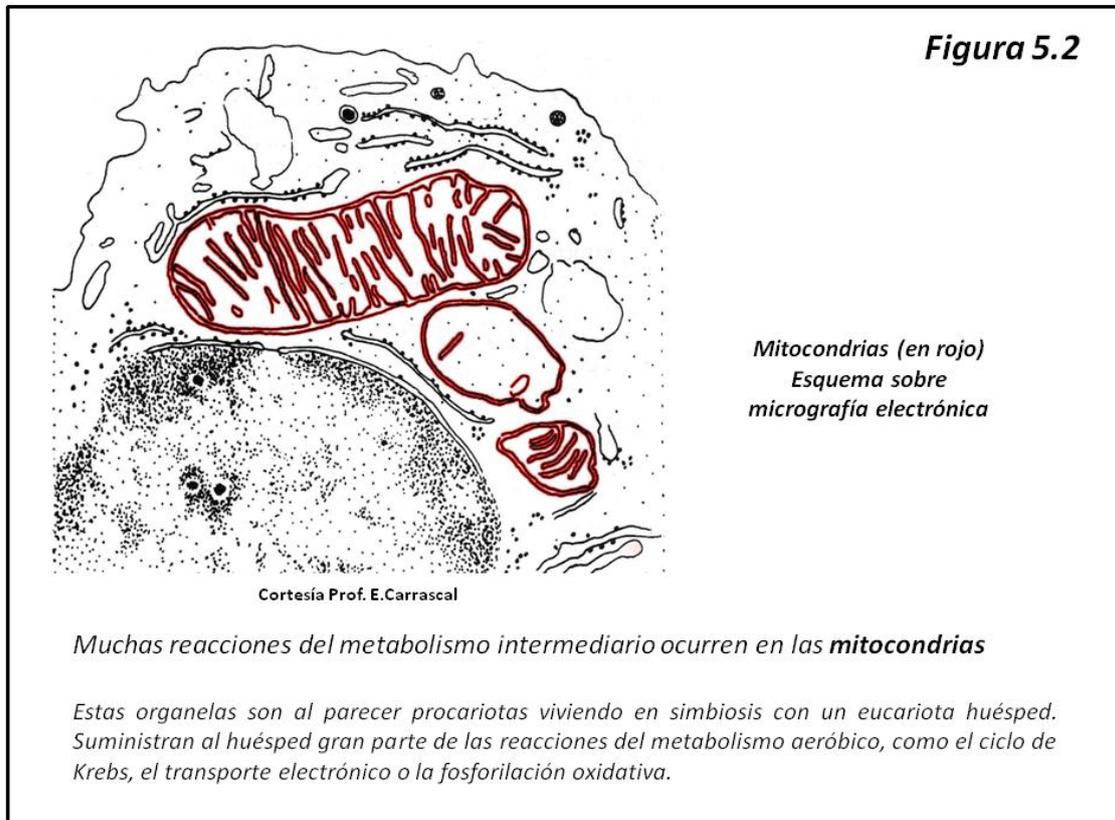
La degradación de los hidratos de carbono da lugar a **piruvato** (en condiciones aeróbicas). A través del proceso de **decarboxilación oxidativa** el piruvato produce **acetil-CoA** (acetil-coenzima A), el cual es a su vez producto de la degradación de ácidos grasos. La condensación de acetil-CoA con **oxalacetato** produce **citrato**, el cual, a través de una serie de transformaciones estructuradas en una vía cíclica (el **ciclo de Krebs de ácidos tricarboxílicos**), rinde nuevamente oxalacetato, por una parte, mientras que por otra da lugar a **coenzimas reducidas** (en forma esencialmente de NADH, y también FADH₂), que serán oxidadas en último término por el oxígeno mediante la **cadena de transporte electrónico**. Al tiempo que los electrones son transportados por esta cadena hacia el oxígeno, tiene lugar la síntesis de ATP a partir de ADP y fosfato inorgánico, en el proceso conocido como **fosforilación oxidativa**. Ciclo de Krebs, transporte electrónico y fosforilación oxidativa son la vía final común de degradación aeróbica de todas las biomoléculas.

Por su parte, los aminoácidos procedentes de la degradación de proteínas entran dentro de este esquema metabólico en multitud de puntos. A título de ejemplo, diremos que alanina entra como piruvato; lisina, como acetil-CoA; aspartato, como oxalacetato; y así con los veinte aminoácidos proteicos.

Ahora bien, como vimos en la sección anterior, el metabolismo intermediario no solamente representa una vía degradativa, sino también el punto de partida de las vías biosintéticas. De esta manera, y para seguir con los mismos ejemplos vistos en el párrafo anterior, piruvato es el punto de partida para la síntesis de alanina; oxalacetato, para la de aspartato; piruvato y oxalacetato, para la de lisina (aunque esta vía no se da en animales al ser lisina un aminoácido esencial). De ahí la importancia del concepto visto en el apartado anterior: muchas reacciones del metabolismo intermediario están cercanas a su equilibrio y pueden fácilmente funcionar en uno u otro sentido, dependiendo de las necesidades metabólicas.

5.1.3 La mitocondria

Muchas reacciones del metabolismo intermediario tienen lugar en las mitocondrias (figura 5.2).

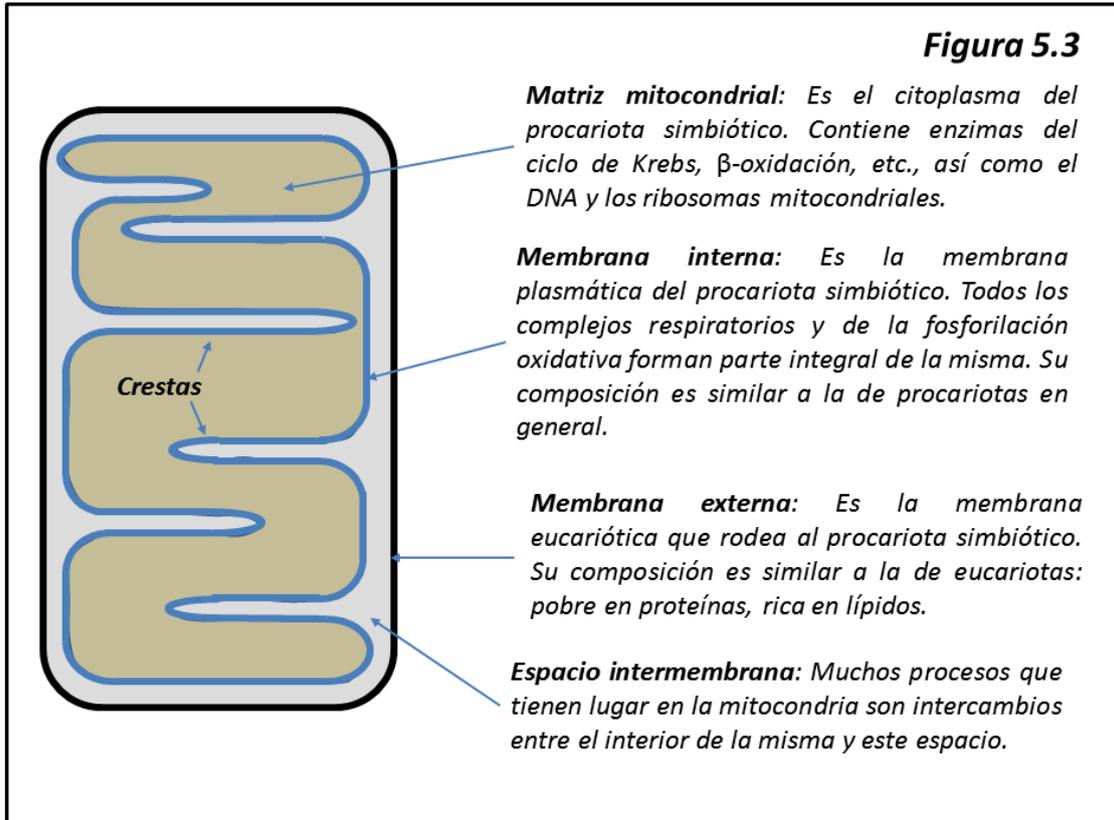


Estas organelas celulares son en realidad procariotas que viven en simbiosis con la célula eucariótica que las hospeda. Esta teoría *endosimbiótica* fue enunciada por vez primera por la bióloga norteamericana **Lynn Margulis** y poco a poco ha llegado a ser hoy día universalmente aceptada. En efecto, las mitocondrias tienen su propio genoma y su propia maquinaria de expresión génica, independiente del genoma nuclear; su membrana plasmática (que es, como veremos, la *membrana interna* de la mitocondria) tiene todas las características propias de las membranas procarióticas; y en fin, muchas otras características que relacionan a la mitocondria con procariotas eubacteriales (en concreto, con las llamadas *α -proteobacterias*, y dentro de las mismas, con las *Rickettsias*).

Dentro de la célula eucariótica, la mitocondria está separada del citoplasma por dos membranas, de manera que, de dentro afuera, distinguimos: (a) La matriz mitocondrial; (b) La membrana interna; (c) el espacio intermembrana; y (d) la membrana externa (figura 5.3).

La **matriz mitocondrial** es el espacio limitado por la membrana interna, y representa el citoplasma del organismo procariota. Contiene enzimas propias del ciclo de Krebs y de la β -oxidación de los ácidos grasos, además de otros muchos procesos. Asimismo, en la matriz mitocondrial aparecen el DNA mitocondrial y su maquinaria de expresión genética (RNA polimerasas, ribosomas (ambos de tipo procariota), tRNAs, etc.

Figura 5.3



La **membrana interna** es la membrana primitiva del procariota. Presenta grandes pliegues dirigidos hacia el interior de la organela, llamados *crestas*. Su composición es enteramente similar a las membranas bacterianas; es decir, es rica en proteínas, carece de glicolípidos y tiene un patrón de permeabilidad muy estricto. Formando parte integral de la membrana interna nos vamos a encontrar los complejos del transporte electrónico y el sistema de fosforilación oxidativa. Una vez más vemos aquí la similitud con los procariotas. En las bacterias aeróbicas, todos estos elementos se encuentran ligados a su membrana plasmática.

El **espacio intermembrana** es el espacio que queda entre las membranas interna y externa. Veremos que muchos procesos mitocondriales tienen lugar mediante intercambios entre este espacio y la matriz mitocondrial.

La **membrana externa** representa la membrana eucariótica que rodea al procariota que ingresó en la célula a través de un proceso de endocitosis o similar. Se trata de una membrana relativamente pobre en proteína, presenta glicolípidos (es decir, las características de las membranas eucarióticas) y tiene una permeabilidad mucho más general que la membrana interna.

En los procariotas, el metabolismo intermediario tiene lugar en el citoplasma (que en la mitocondria es la matriz mitocondrial) y los procesos de transporte electrónico y fosforilación oxidativa están localizados en la membrana plasmática (que en la mitocondria es la membrana interna).

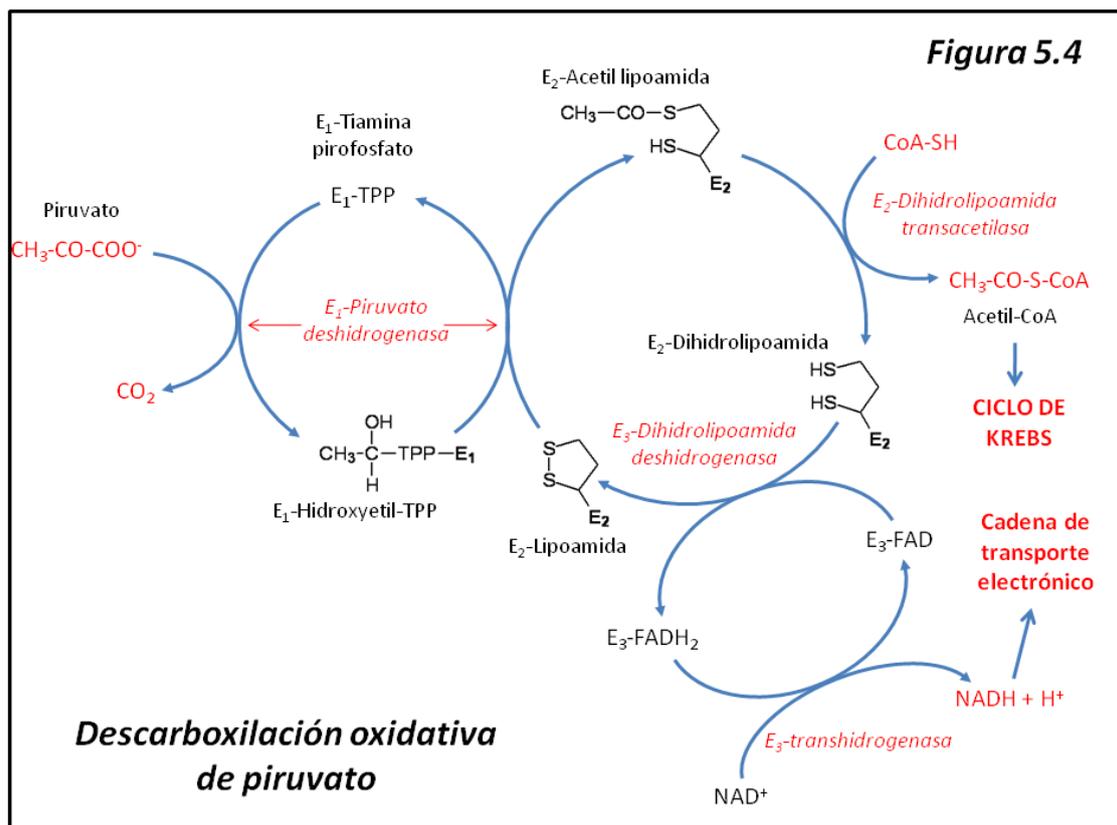
Es importante señalar que los *cloroplastos*, organelas de la célula vegetal que llevan a cabo la fotosíntesis, son asimismo endosimbiontes; en este caso se trata de *cianobacterias* (bacterias fotosintéticas).

En la discusión que sigue, nos ocuparemos sucesivamente de (a) el proceso de descarboxilación oxidativa de piruvato; (b) el ciclo de Krebs de ácidos tricarboxílicos (o ciclo del ácido cítrico); (c) el transporte electrónico; (d) la fosforilación oxidativa; (e) los mecanismos de lanzadera que regeneran NAD^+ ; (f) las reacciones anapleróticas; y por último, (g) algunas consideraciones sobre el stress oxidativo. Otros aspectos del metabolismo intermediario serán tratados en los capítulos correspondientes a lípidos, aminoácidos y nucleótidos.

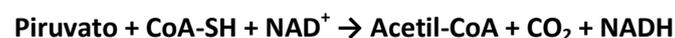
5.2 Descarboxilación oxidativa de piruvato

En condiciones aeróbicas, el piruvato formado en la glucólisis ingresa en la mitocondria para (a) su degradación final a CO_2 y H_2O ; (b) como sustrato de reacciones anapleróticas (ver más adelante); (c) como punto de partida de biosíntesis de aminoácidos y lípidos. Aquí nos vamos a centrar en el destino (a).

El proceso de descarboxilación oxidativa aparece catalizado por un complejo multienzimático, conocido como complejo **piruvato deshidrogenasa**. Las reacciones de este proceso, la descarboxilación oxidativa del piruvato, se presentan en la **figura 5.4**.



Se trata de una estructura supramolecular, visible incluso al microscopio electrónico, que consta de tres enzimas con varias copias de cada una. El proceso utiliza asimismo cinco coenzimas distintas. En dicho proceso piruvato es transformado a acetil-CoA (acetil-coenzima A) con pérdida de un grupo carboxilo en forma de CO_2 . Al tiempo, se produce un equivalente de reducción en forma de NADH . La estequiometría del proceso es la siguiente:



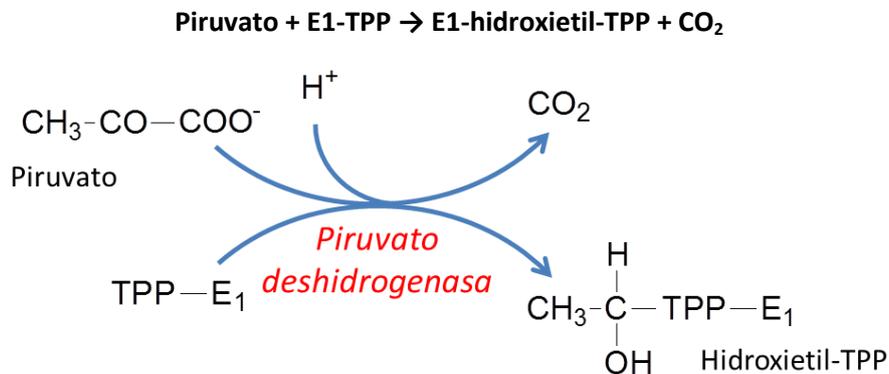
Aquí estudiaremos la descarboxilación oxidativa de piruvato; pero es importante recordar que encontraremos otros procesos, todos ellos muy similares, de descarboxilación oxidativa en el metabolismo. Por ejemplo, el complejo α -cetoglutarato deshidrogenasa en el ciclo de Krebs, y un complejo similar en la degradación de aminoácidos ramificados (valina, leucina e isoleucina).

5.2.1 Secuencia de reacciones

El complejo piruvato deshidrogenasa presenta tres enzimas diferentes, conocidas como E1, E2 y E3.

Reacción 1. E1: Piruvato deshidrogenasa (EC 1.2.4.1)

Esta enzima requiere como cofactor obligatorio **tiamina pirofosfato (TPP)**, que aparece unido covalentemente a la enzima. La reacción catalizada es la siguiente:

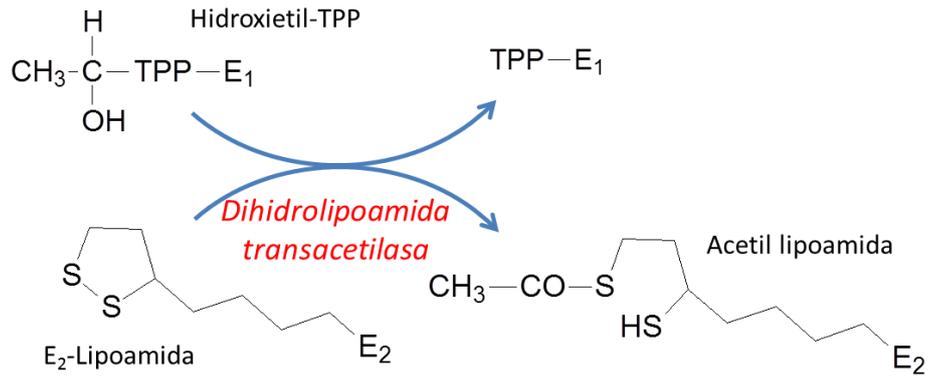


En la que se aprecia el papel de la coenzima TPP. Esta coenzima participa en muchas reacciones de descarboxilación, tanto oxidativa (como la presente) como no oxidativa. El grupo carboxilo del piruvato se pierde como CO_2 ; este grupo procede de los carbonos 3 y 4 de la glucosa a través de glucólisis; por tanto, en el proceso de degradación aeróbica de glucosa son éstos los primeros carbonos que se pierden en forma de CO_2 .

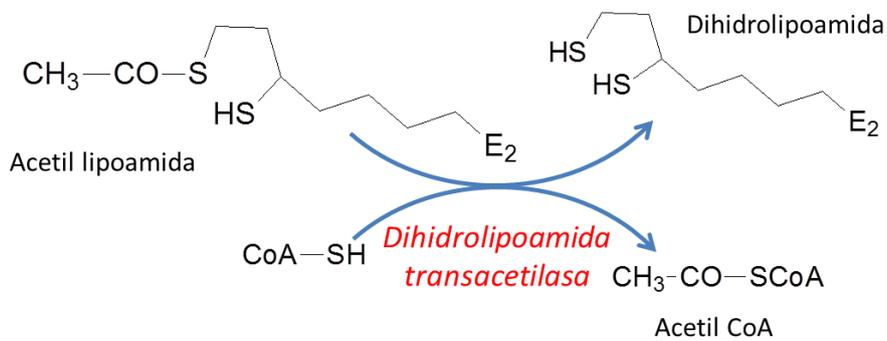
Reacción 2. E2: Dihidrolipoamida transacetilasa (EC 2.3.1.12)

Esta enzima bifuncional presenta una molécula de **ácido lipoico** unida a un residuo de lisina de la proteína formando el complejo **lipoamida**. Las reacciones catalizadas por esta enzima son dos; en la primera, el grupo hidroxietyl producto de la reacción anterior es transferido a la lipoamida, formándose acetyl-lipoamida:





En la segunda reacción, el grupo acetilo es transferido a la coenzima A y queda unido a ésta a través de su grupo $-\text{SH}$ activo; la lipoamida queda en forma reducida, es decir, **dihidrolipoamida**:



El segundo producto de la reacción es **acetil-CoA**, que a su vez puede (a) ingresar en el ciclo de Krebs para su degradación total; (b) ser el punto de partida de biosíntesis de ácidos grasos, esteroides y aminoácidos; (c) dar lugar a **cuerpos cetónicos** mediante el proceso de **cetogénesis**.

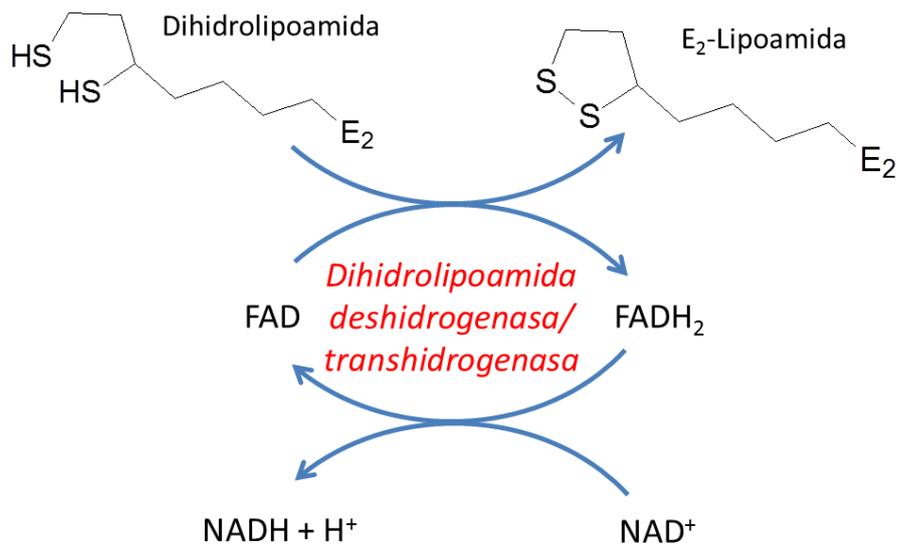
Reacción 3. E3: Dihidrolipoamida deshidrogenasa/transhidrogenasa (EC 1.8.1.4)

La enzima E3 del complejo piruvato deshidrogenasa es asimismo una enzima bifuncional. Es una flavoproteína que presenta FAD como cofactor. En la primera reacción (deshidrogenasa), E3-FAD oxida a E2-dihidrolipoamida:



En la segunda reacción (transhidrogenasa), los equivalentes de reducción son transferidos del FADH₂ a NAD⁺:





En la [figura 5.4](#) puede apreciarse la organización cíclica de estas tres enzimas.

5.2.2 Regulación de la descarboxilación oxidativa de piruvato

La acumulación de NADH y acetil-CoA tiene un efecto inhibitorio sobre este proceso, aunque es debido a una mera acción de masas, dado que las reacciones catalizadas por E2 y E3 son reversibles.

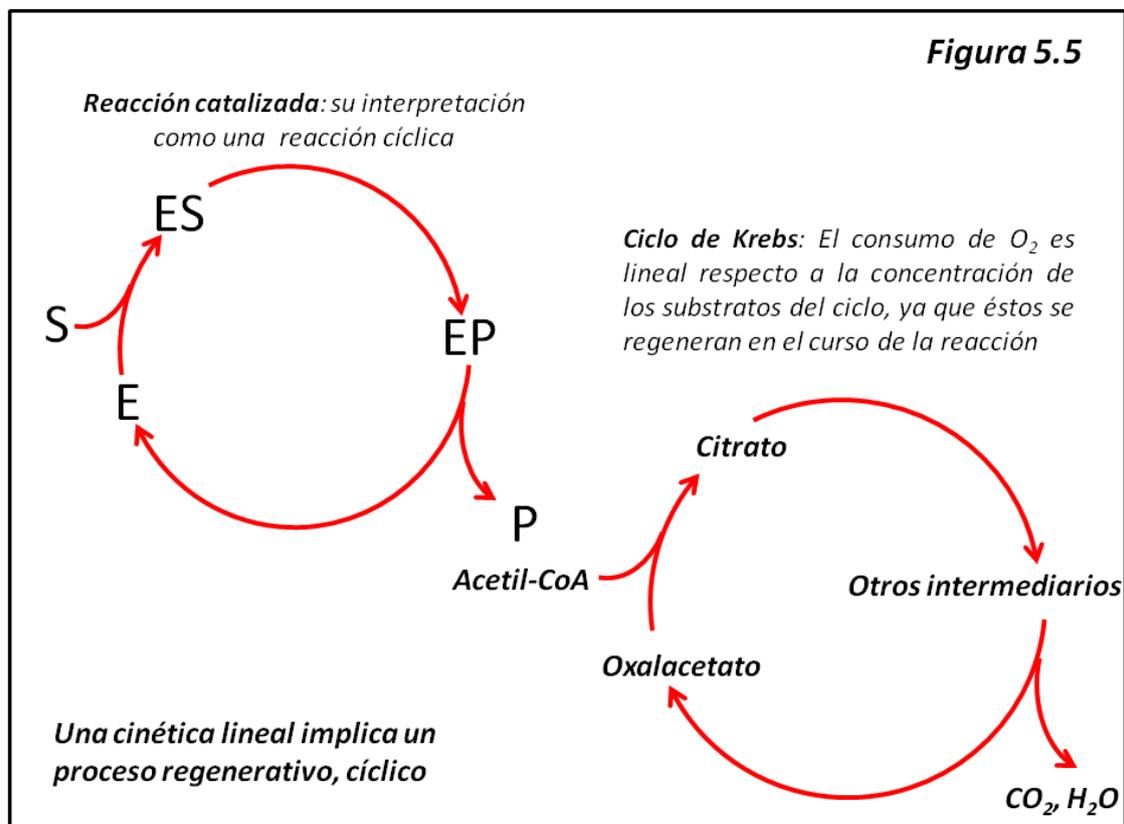
Hay una regulación de tipo covalente, ejercido a nivel de E1 (piruvato deshidrogenasa): la forma fosforilada de esta enzima es inactiva mientras que la defosforilada es activa. La fosforilación tiene lugar mediante la **piruvato deshidrogenasa kinasa** y la defosforilación por la **piruvato deshidrogenasa fosfatasa**. La kinasa es activada alostéricamente por NADH y acetil-CoA (lo que lleva a la inhibición de E1) mientras que NAD⁺, CoA desacilado y ADP la inhiben. Asimismo, se ha comprobado que niveles elevados de Ca⁺⁺ conducen a la defosforilación de E1 y por tanto a su activación.

5.3 El ciclo de Krebs de ácidos tricarbóxicos (ciclo del ácido cítrico)

5.3.1 Introducción

El acetil-CoA formado en el proceso de descarboxilación oxidativa de piruvato será completamente degradado a CO_2 y H_2O por medio de una vía metabólica cíclica (el ciclo de Krebs de ácidos tricarbóxicos) acoplada a los procesos de transporte electrónico y fosforilación oxidativa que tienen lugar en la mitocondria. La mayoría de las reacciones del ciclo (todas excepto una) tienen lugar en la matriz mitocondrial, y en la membrana interna los otros dos procesos.

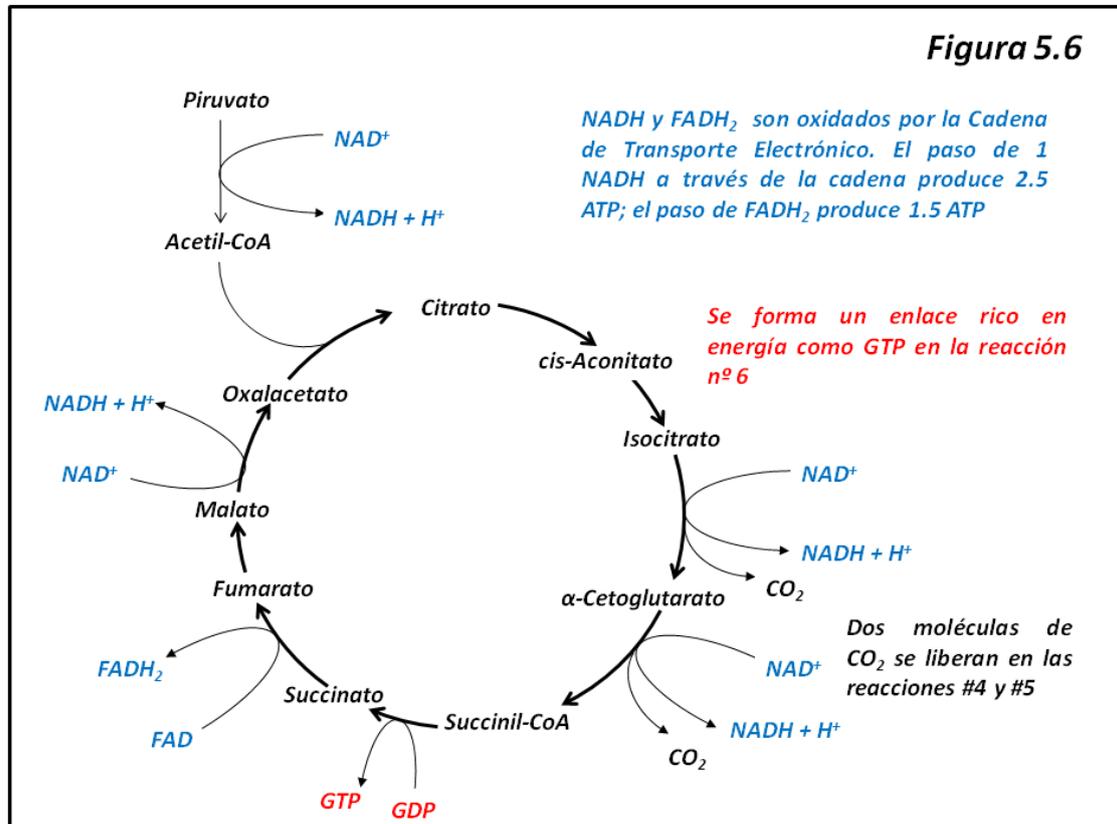
Szent-Györgyi, en la década de los treinta del siglo pasado, descubrió que la adición de aniones dicarbóxicos como succinato, fumarato u oxalacetato estimulaba el consumo de oxígeno por parte de preparaciones de hígado en una medida mayor que lo necesario para su propia combustión. Años más tarde, en 1937, **Krebs** y **Johnson** observaron este mismo efecto con la adición de aniones citrato y α -cetoglutarato. Todos ellos estimulaban *linealmente* el consumo de O_2 . Ante estos resultados Krebs propuso que el efecto de estos aniones de ácidos di- y tricarbóxicos era en realidad un efecto catalítico, que por tanto podría ser explicado mediante una vía cíclica, regenerativa, en la cual estos componentes eran regenerados a cada vuelta del ciclo. En relación al consumo de oxígeno, con estos compuestos ocurre lo mismo que con una enzima en una reacción enzimática: la velocidad es *lineal* con respecto a la concentración de enzima, y ello se debe a que la enzima se *regenera* en cada ciclo reactivo (figura 5.5). De esta manera llegó a formular la vía cíclica que lleva su nombre.



Con respecto a la denominación de esta ruta metabólica, en este capítulo estudiamos el **ciclo de Krebs de ácidos tricarbóxicos**; pues hay otra vía cíclica, también descubierta por Krebs, en la producción de urea como vía final del metabolismo del nitrógeno en mamíferos, que es el

ciclo de Krebs de la urea. Hoy, por lo general, se reserva el nombre de **ciclo de Krebs** al de ácidos tricarbóxicos, mientras que el otro es denominado **ciclo de la urea**. Nosotros utilizaremos aquí esta nomenclatura, alternándola con el nombre de **ciclo del ácido cítrico**.

El funcionamiento global del ciclo puede resumirse así (figura 5.6):

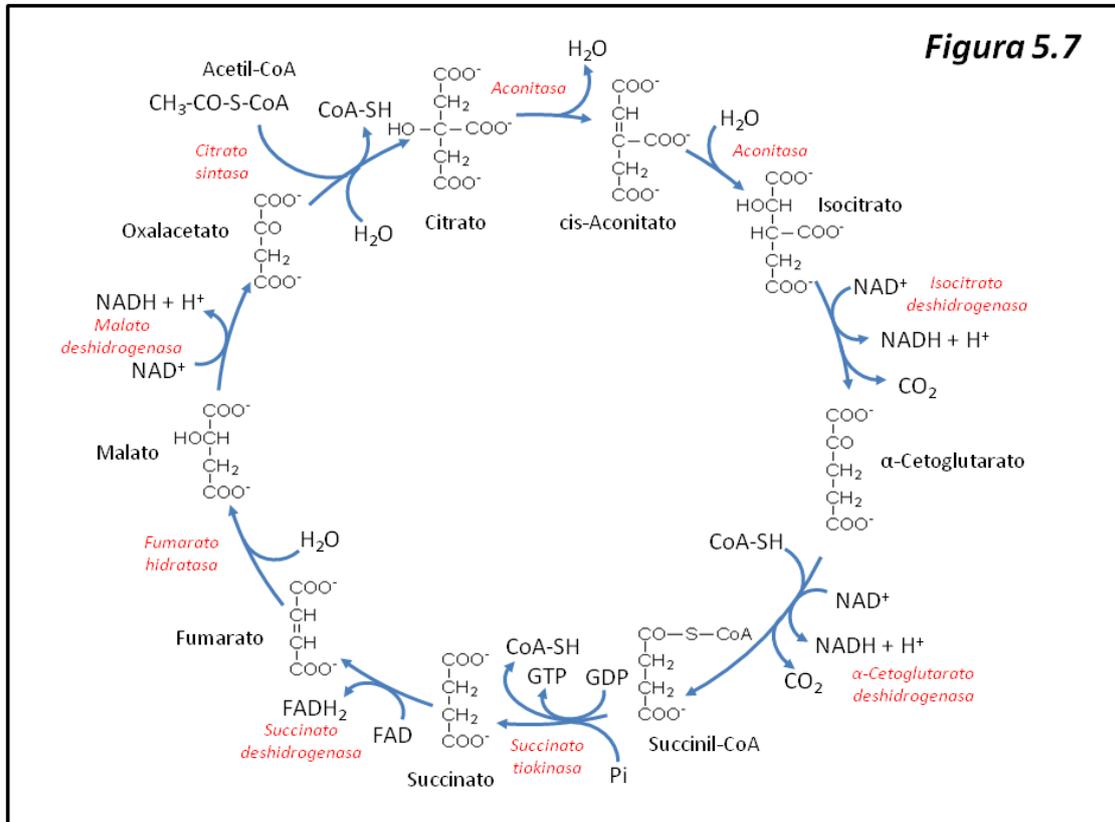


Acetil-CoA se une a una molécula de **oxalacetato** para dar **citrato**; éste, a través de una serie de reacciones, se transforma en una nueva molécula de oxalacetato, que podrá iniciar nuevamente el ciclo al combinarse con una nueva molécula de acetil-CoA. A lo largo de las reacciones del ciclo (a) se pierden dos carbonos en forma de CO_2 (con lo que el balance de carbono queda a cero: entran dos en forma de acetil-CoA y se pierden otros dos); (b) hay cuatro procesos de oxidación que producen 3 moléculas de $NADH$ y una de $FADH_2$; (c) hay un proceso de fosforilación a nivel de sustrato mediante el cual GDP se transforma en GTP . Las coenzimas reducidas van a donar sus electrones a la **cadena de transporte electrónico**, que en último término reduce al oxígeno molecular O_2 . Esta cadena está estructurada en reacciones parciales, que van liberando de manera escalonada la energía libre de las reacciones redox hasta llegar al oxígeno molecular. La energía liberada se conserva mediante la creación de un gradiente de protones entre el espacio intermembrana (que se hace más ácido) y la matriz mitocondrial (que se hace más básica). Este gradiente va a ser aprovechado para la síntesis de ATP a partir de ADP y fosfato inorgánico (Pi) mediante el proceso que recibe el nombre de **fosforilación oxidativa**.

Ahora bien, el ciclo del ácido cítrico no ha de ser visto únicamente como una vía final común de degradación aeróbica de sustratos. Es asimismo el punto de partida de síntesis de carbohidratos, aminoácidos, lípidos y nucleótidos; por lo cual es importante recordar la naturaleza esencialmente *anfibólica* del ciclo. En eucariotas, el ciclo funciona de manera completa; en procariotas nos encontramos en muchas ocasiones que faltan determinadas reacciones, con lo cual no hay tal ciclo.

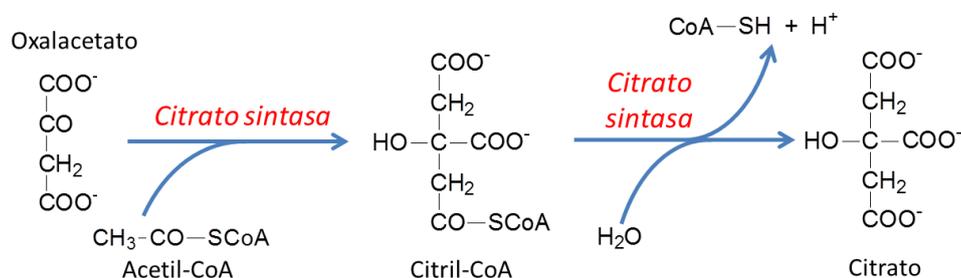
5.3.2 Secuencia de reacciones

Las reacciones del ciclo del ácido cítrico aparecen en forma esquemática en la **figura 5.7**.



Reacción 1: Citrato sintasa (EC 2.3.3.1)

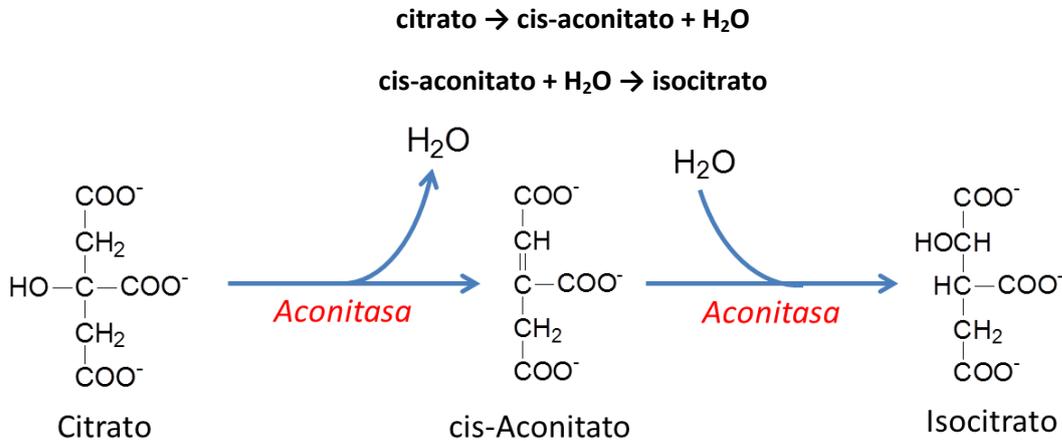
Esta reacción consiste en la condensación de **acetil-CoA** con **oxalacetato** para formar en primer lugar **citril-CoA** que posteriormente es hidrolizado a **citrato** y **CoA-SH** (es decir, coenzima A libre):



En las condiciones intracelulares, esta reacción cursa fuertemente hacia la derecha debido a la liberación de energía libre producida por la hidrólisis del tioéster de CoA; de esta manera cursa incluso con concentraciones muy bajas de oxalacetato.

Reacción 2: Aconitato hidratasa (aconitasa, EC 4.2.1.3)

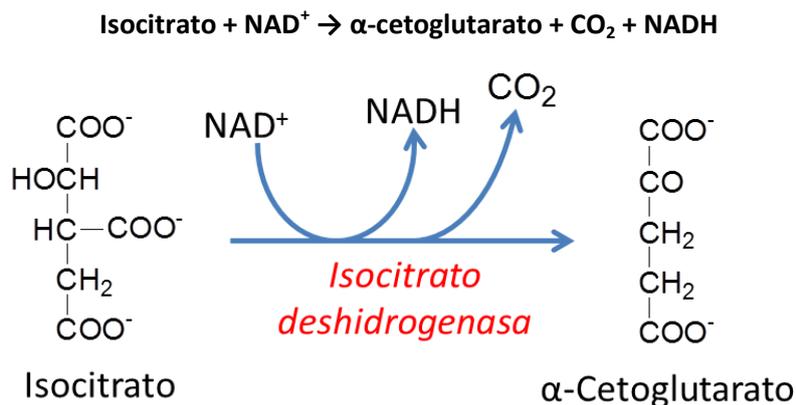
El citrato formado en la reacción anterior va a ser sucesivamente deshidratado y rehidratado dando lugar a **isocitrato**, en una reacción fácilmente reversible y cercana al equilibrio, que cursa con el intermediario **cis-aconitato** unido a la enzima:



La molécula de citrato es simétrica; el isocitrato, por su parte, presenta dos carbonos asimétricos en configuración *2R, 3S*. Una característica notable de esta enzima es que presenta *proquiralidad*; es decir, la deshidratación e hidratación posterior tienen lugar sobre la parte de la molécula de citrato procedente de oxalacetato, a pesar de que la molécula de citrato es simétrica y en principio los dos grupos $-\text{CH}_2-\text{COO}^-$ que sustituyen al carbono 3 son equivalentes. Este fenómeno se explica fácilmente al suponer (según **Ogston**, ver Enzimología, capítulo 2) que la fijación de citrato al centro activo de la aconitasa tiene lugar mediante tres grupos de los cuatro que sustituyen al carbono 3.

Reacción 3: Isocitrato deshidrogenasa (EC 1.1.1.41)

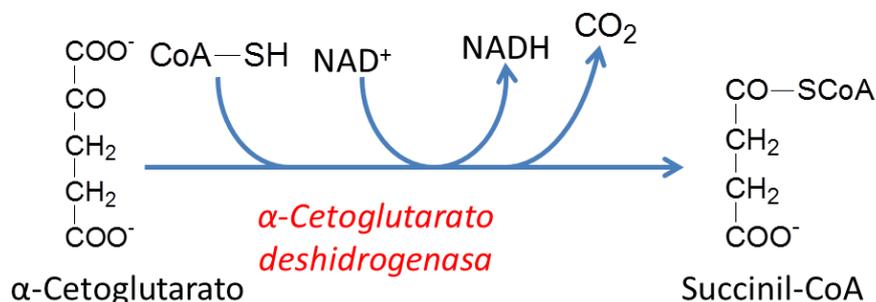
El isocitrato formado en la reacción anterior va a ser oxidado a expensas de NAD^+ , con pérdida de CO_2 , para dar **α -cetoglutarato**:



Ésta es la primera reacción del ciclo en la que se produce una coenzima reducida, NADH, al tiempo que se pierde el primer átomo de carbono en forma de CO_2 . Es notable el hecho de que este carbono que se pierde no procede del acetil-CoA que entró en la Reacción 1 (citrato sintasa), sino de oxalacetato, debido a la proquiralidad de la aconitato hidratasa

Reacción 4: α -Cetoglutarato deshidrogenasa (EC 1.2.4.2)

α -Cetoglutarato formado en la reacción anterior sufre un proceso de descarboxilación oxidativa enteramente análogo al visto en el complejo piruvato deshidrogenasa:

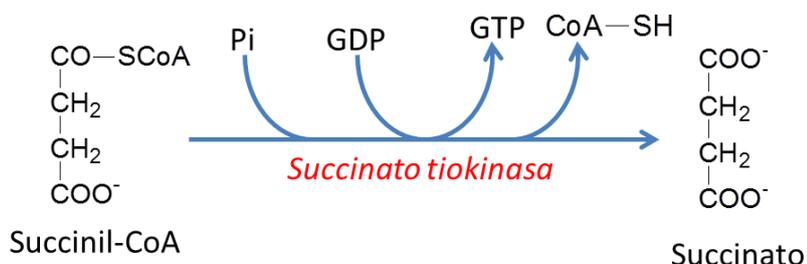
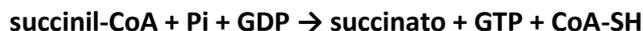


Se trata de un complejo multienzimático muy similar al citado; consta, por tanto de tres actividades enzimáticas: (a) α -cetoglutarato deshidrogenasa; (b) dihidrolipoamida transuccinilasa; (c) dihidrolipoamida deshidrogenasa/transhidrogenasa. Utiliza las mismas coenzimas: tiamina pirofosfato, ácido lipoico (en forma de lipoamida), coenzima A, FAD y NAD^+ .

En esta reacción se libera el segundo átomo de carbono en forma de CO_2 , con lo que el balance de carbonos queda a cero, y la segunda molécula de NADH.

Reacción 5: Succinilo tiokinasa (EC 6.2.1.5)

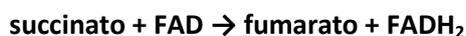
A continuación, succinil-CoA produce **succinato** y CoA-SH al tiempo que la hidrólisis del enlace tioéster se aprovecha para la fosforilación de una molécula de GDP para dar **GTP**:

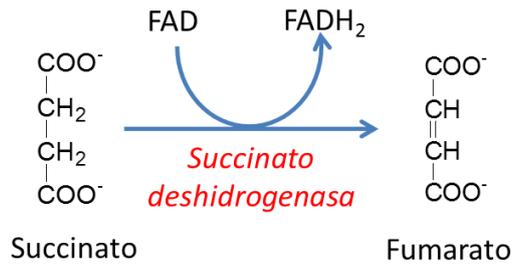


Ésta es la única reacción del ciclo en la que se produce una fosforilación a nivel de sustrato.

Reacción 6: Succinato deshidrogenasa (EC 1.3.5.1)

El succinato formado en la reacción anterior va a ser oxidado a fumarato merced a la acción del *complejo* succinato deshidrogenasa. A diferencia de las demás enzimas del ciclo, todas ellas presentes en la matriz mitocondrial, la succinato deshidrogenasa es uno de los cuatro complejos respiratorios presentes en la membrana interna mitocondrial (el complejo II). Ya estudiaremos con mayor detalle este complejo. Los electrones del succinato van a reducir a la coenzima FAD que forma parte del complejo:

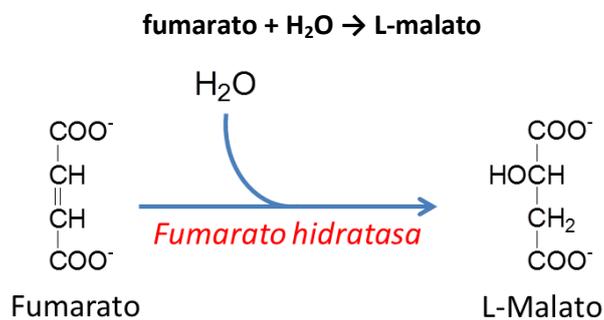




la cual, según veremos, cede sus electrones al transportador **ubiquinona** para dar **ubiquinol**.

Reacción 7: Fumarato hidratasa (EC 4.2.1.2)

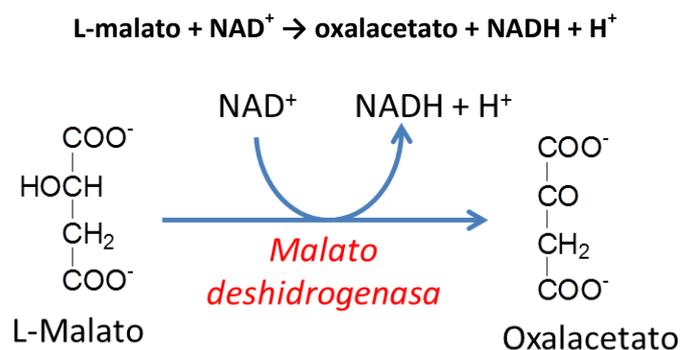
El fumarato formado en la reacción anterior va a hidratarse para dar **L-malato** en una reacción cercana al equilibrio:



Esta enzima, al igual que la aconitato hidratasa (Reacción 2) es una enzima proquiral, que produce únicamente el isómero L- del malato.

Reacción 8: L-Malato deshidrogenasa (EC 1.1.1.37)

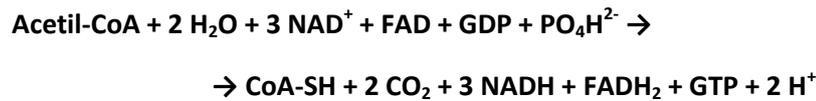
La última reacción del ciclo consiste en la oxidación de L-malato a expensas de NAD^+ para dar **oxalacetato**:



Se trata de una reacción muy parecida a la catalizada por la lactato deshidrogenasa en la última etapa de la glucólisis. El oxalacetato producido está en condiciones de condensarse a una nueva molécula de acetil-CoA (en la reacción de la citrato sintasa) e iniciar así una nueva vuelta del ciclo.

5.3.3 Balance energético del ciclo del ácido cítrico

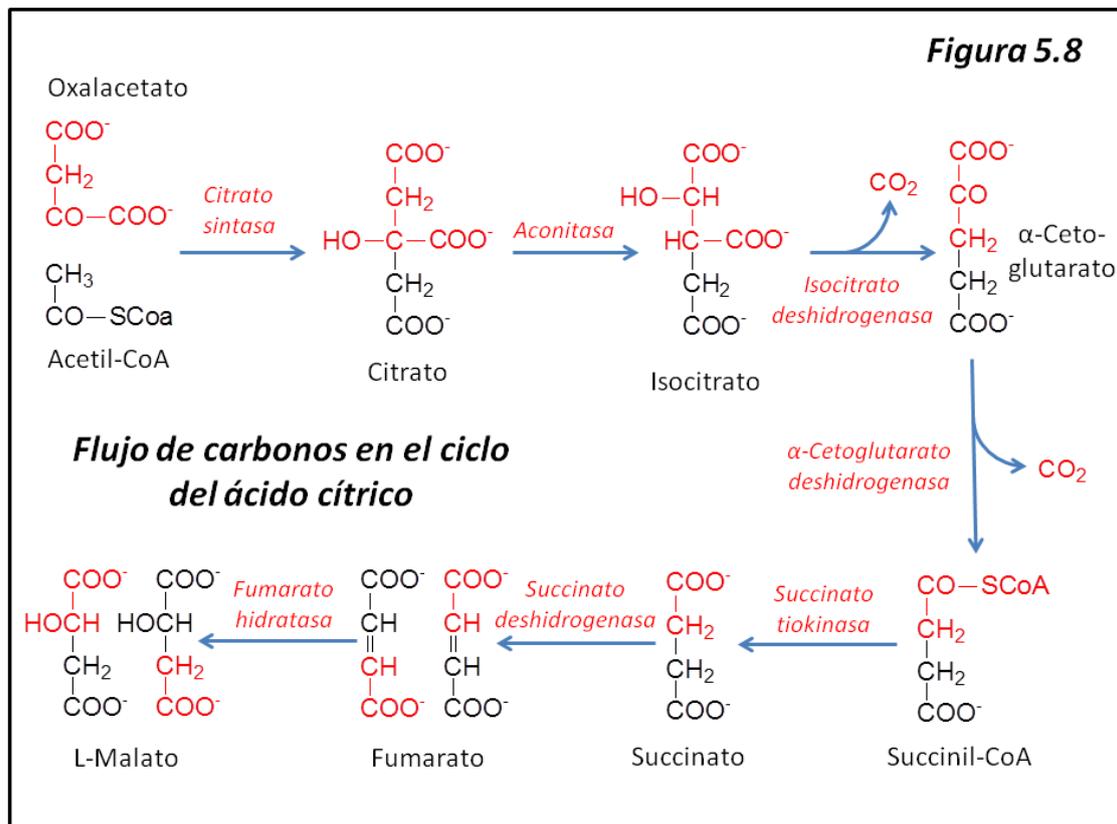
La estequiometría global del ciclo es la siguiente:



Por tanto, el paso de una molécula de acetil-CoA a través de las reacciones del ciclo produce 3 NADH, 1 FADH₂ y una molécula de GTP (a partir de GDP). Según veremos más adelante, el paso de NADH a través de la cadena de transporte electrónico produce 2.5 ATP mientras que FADH₂ produce 1.5 ATP. Siendo 3 las moléculas de NADH producidas, esto da un parcial de 9 ATP a través de fosforilación oxidativa; a lo que hay que sumar el enlace rico en energía del GTP (equivalente a ATP) formado por fosforilación a nivel de sustrato. Esto hace un total de 10 ATP por cada molécula de acetil-CoA degradada a través del ciclo.

5.3.4 Destino de los átomos de carbono en el ciclo del ácido cítrico

La [figura 5.8](#) nos muestra el destino de los carbonos a lo largo del ciclo.



La citrato sintasa produce una molécula de citrato (6C) a partir de oxalacetato (4C, en rojo en la figura) y acetil-CoA (2C, en negro en la figura). A pesar de ser el citrato una molécula simétrica, tenemos que considerar como diferente la parte de la molécula procedente de acetil-CoA de la procedente de oxalacetato, debido a la proquiralidad de la aconitasa hidratasa, que ataca a aquella parte de la molécula que procede de oxalacetato. De esta manera, el primer carbono que se pierde en forma de CO₂ (en la reacción de la isocitrato deshidrogenasa) es el que primitivamente era el C1 carboxílico de oxalacetato. A continuación, en la reacción de la α-cetoglutarato deshidrogenasa, el carbono que se pierde como CO₂ es el que era C4 de oxalacetato (el otro grupo carboxilo); de manera que en la molécula de succinil-

CoA, los carbonos 1 (unido a CoA) y 2 proceden de oxalacetato y los carbonos 3 y 4 de acetil-CoA.

Al ser la molécula de succinato simétrica y no presentar proquiralidad la succinato deshidrogenasa, ya no es posible diferenciar la procedencia de los carbonos en las moléculas de fumarato, malato y oxalacetato; cada carbono procede en un 50 % de los primitivos acetyl-CoA y oxalacetato. Ahora bien, y aunque no tenga que ver con el flujo de carbonos, hemos de tener en cuenta que la fumarato hidratasa es una enzima proquiral y produce únicamente el isómero L- del malato.

5.3.5 Regulación del ciclo del ácido cítrico

La principal regulación del ciclo del ácido cítrico reside en la concentración de sus intermediarios. Antes hemos visto que la velocidad de flujo a través del mismo sigue una dependencia lineal con respecto a la concentración de sus intermediarios. Esto hace que el descenso en la concentración de cualquiera de ellos repercuta inmediatamente en una disminución de este flujo metabólico.

Si tenemos en cuenta que el ciclo es el punto de partida de numerosas vías sintéticas (p.e. citrato en la síntesis de ácidos grasos, α -cetoglutarato y oxalacetato en la de aminoácidos, etc.) una actividad incrementada de síntesis puede dar lugar a una importante disminución del flujo metabólico a través del ciclo del ácido cítrico. Cuando esto ocurre, se activan reacciones que sintetizan estos intermediarios a partir fundamentalmente de piruvato; son las llamadas **reacciones anapleróticas**, que serán estudiadas más adelante en este mismo capítulo.

Aparte de este control cinético, se sabe que la isocitrato deshidrogenasa de mamíferos es activada alostéricamente por el ion Ca^{++} y ADP e inhibida por NADH.

5.4 La cadena de transporte electrónico

5.4.1 Introducción

Los electrones obtenidos en las reacciones oxidativas intramitocondriales, tanto de la descarboxilación oxidativa de piruvato como del ciclo (en forma de NADH y FADH₂) van a tener como destino último el oxígeno. Ahora bien, la diferencia entre los potenciales redox de estas coenzimas reducidas y el oxígeno es muy marcada; de manera que la energía libre liberada por una oxidación directa por el oxígeno de estas coenzimas sería demasiado grande en el caso de que se realizara en una única reacción. Por eso las reacciones de oxidación/reducción presentes en la mitocondria están estructuradas de una forma escalonada, en donde los electrones van pasando de un transportador a otro con un desprendimiento moderado de energía libre en cada paso. De esta manera, los transportadores electrónicos aparecen ordenados en una secuencia que va de menor a mayor potencial redox, y que conocemos como **Cadena de Transporte Electrónico**. Asimismo, los transportadores aparecen formando parte de cuatro complejos supramoleculares, los **complejos respiratorios**, que se numeran como I, II, III y IV. Todos estos complejos se encuentran formando parte integral de la membrana interna mitocondrial.

La actividad transportadora de estos complejos va a provocar el **bombeo de protones H⁺** desde la matriz mitocondrial hacia el espacio intermembrana. De acuerdo con la **hipótesis quimiosmótica de Mitchell** (hoy día aceptada universalmente) se va a crear así un gradiente de protones de tal manera que el espacio intermembrana va a hacerse más ácido que la matriz mitocondrial. Este gradiente protónico representa una **fuerza protonmotriz** (análoga a la fuerza electromotriz de una pila eléctrica) que va a ser empleada en la síntesis de ATP a partir de ADP y fosfato inorgánico, en el proceso conocido como **fosforilación oxidativa**, que estudiaremos más adelante en este mismo capítulo.

5.4.2 Los complejos respiratorios y sus componentes

Un visión preliminar de estos complejos respiratorios y su situación en la mitocondria aparecen en las **figuras 5.9 y 5.10**. Las reacciones parciales catalizadas por estos complejos se pueden resumir así:

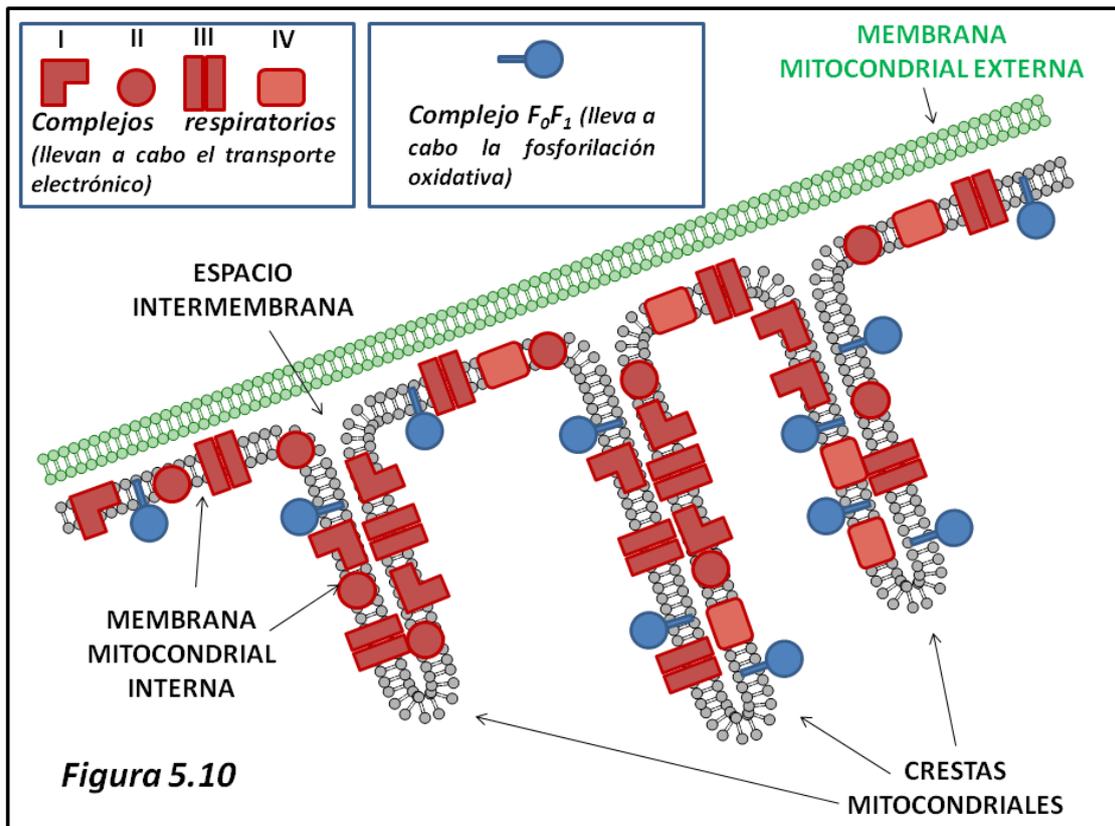
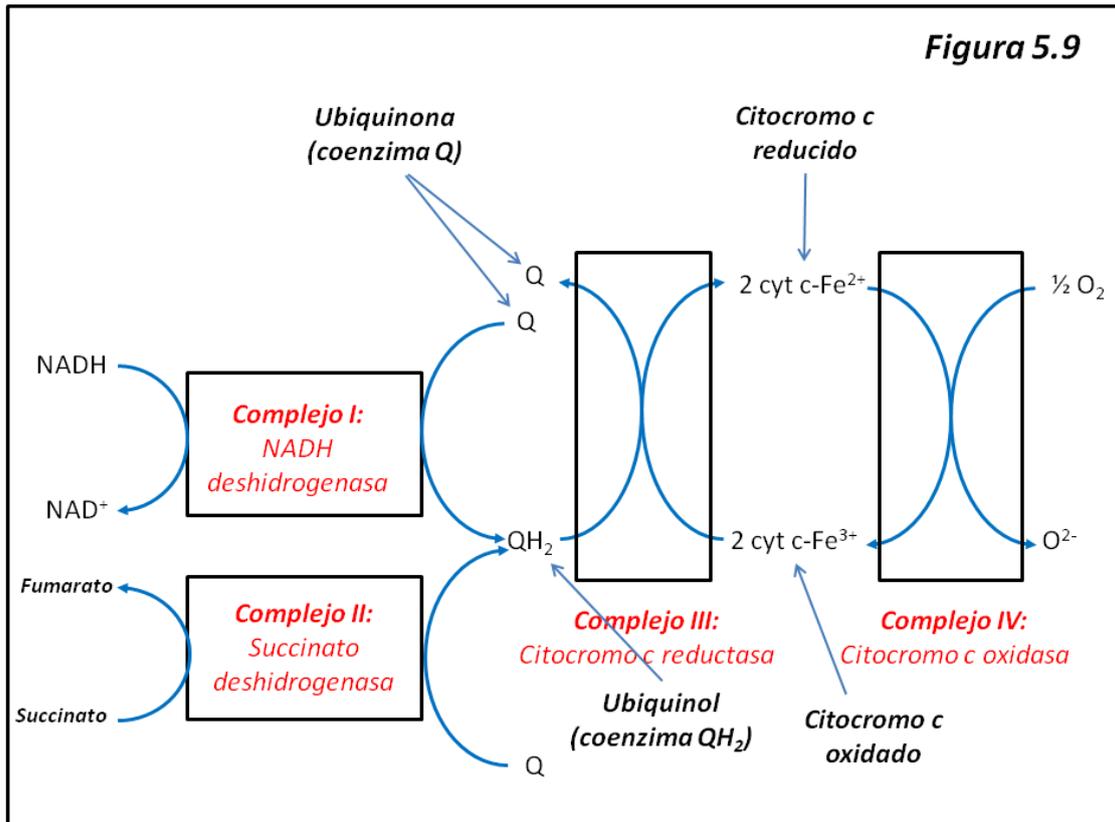
Complejo I: NADH : ubiquinona oxidorreductasa (EC 1.6.5.3). Esto es, el complejo I oxida al NADH y sus electrones pasan al transportador **ubiquinona** que se reduce a **ubiquinol**.

Complejo II: Succinato : ubiquinona oxidorreductasa (EC 1.3.5.1). El complejo II no es otro que la succinato deshidrogenasa que hemos visto en una de las reacciones del ciclo de Krebs. Esta enzima oxida al succinato a expensas de FAD, y este FAD forma parte integral del complejo II. En último término, el complejo II reduce al mismo transportador que el complejo I, es decir, reduce ubiquinona a ubiquinol.

Complejo III: Ubiquinol : citocromo c oxidorreductasa (citocromo c reductasa, EC 1.10.2.2). El ubiquinol procedente de los complejos I y II va a ser oxidado por el complejo III, que termina reduciendo al **citocromo c**.

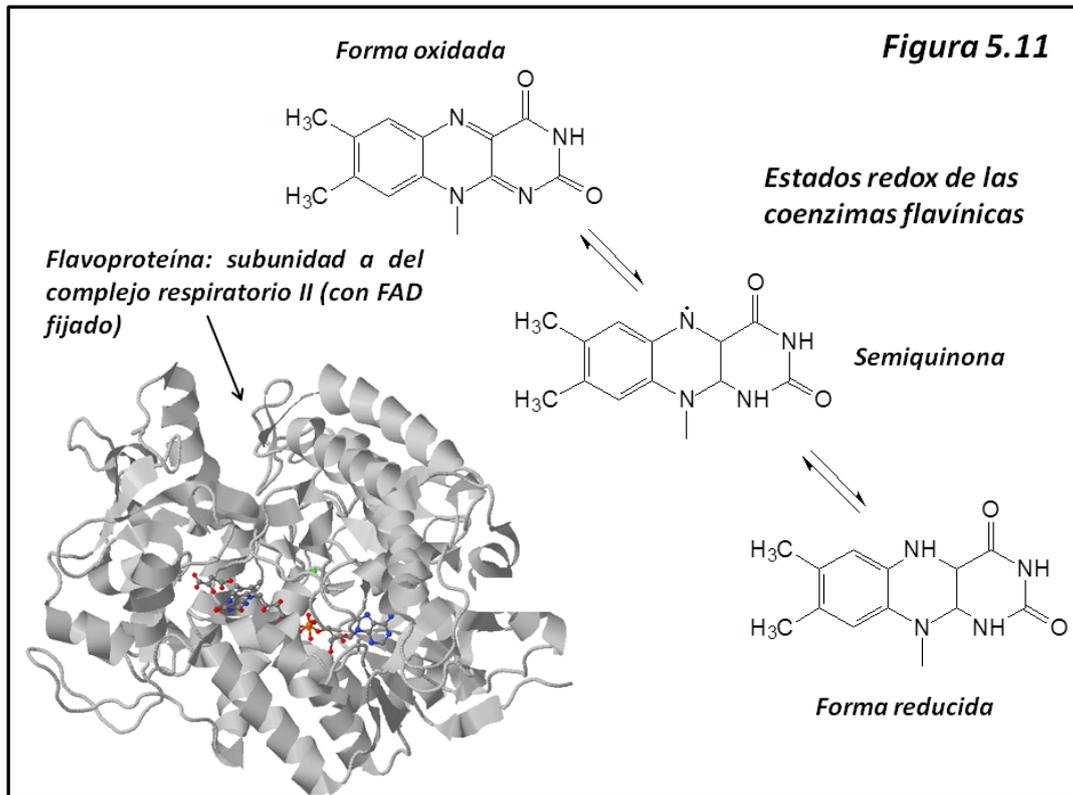
Complejo IV: Citocromo c : O₂ oxidorreductasa (citocromo c oxidasa, EC 1.9.3.1). El citocromo c reducido por el complejo III será oxidado a expensas del oxígeno por medio del complejo IV.

Como veremos, cada complejo está formado por multitud de elementos redox. Entre los mismos, encontraremos flavoproteínas, proteínas Fe-S, citocromos e iones metálicos.

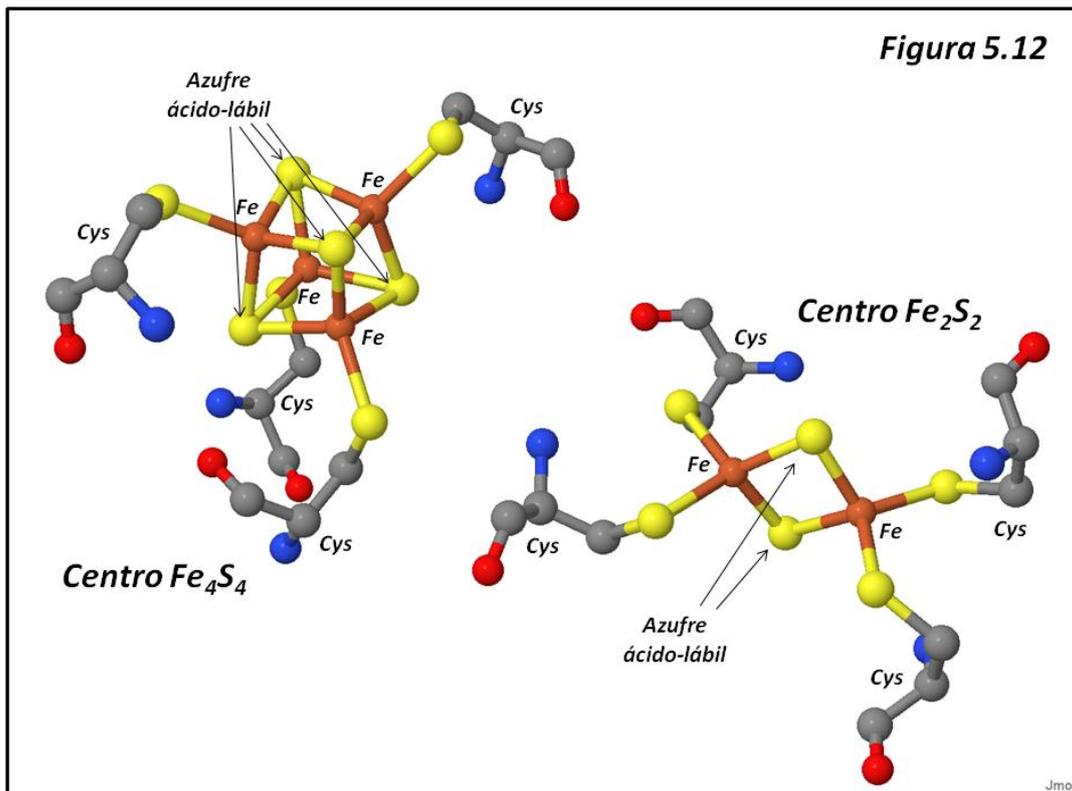


Asimismo, y llevando electrones de un complejo a otro, tenemos los transportadores. Así, ubiquinol transporta electrones tanto del complejo I al III como desde el II al III; y el citocromo c transporta electrones desde el complejo III al IV.

Las flavoproteínas son proteínas con grupos prostéticos flavínicos, FAD (flavin adenin dinucleótido) y FMN (flavin mononucleótido). Estas flavinas están unidas muy fuertemente a las proteínas respectivas; su estructura deriva de la riboflavina o vitamina B₂ (ver Enzimología, cap. 4) y a diferencia de otros transportadores electrónicos, poseen tres estados redox: forma oxidada, semiquinona y forma reducida (**figura 5.11**) mientras que los otros transportadores sólo poseen dos (forma oxidada y forma reducida). Su potencial redox, en general, es superior a las coenzimas niacínicas como el NADH.



Las **proteínas Fe-S**, también llamadas **ferrosulfoproteínas** o **proteínas de hierro no hemínico** (ingl. *Non-Heme Iron Proteins, NHI proteins*) están amplísimamente distribuidas en todos los seres vivos. Algunas configuraciones de estos complejos Fe-S aparecen en la **figura 5.12**.



Sus centros reactivos están formados por iones de hierro coordinados a cuatro átomos de azufre, que pueden pertenecer a residuos de cisteína presentes en la proteína o bien estar directamente coordinados al hierro. En este último caso, los átomos de azufre pueden desprenderse por tratamiento con ácido en forma de H_2S , por lo que también reciben el nombre de *azufre ácido-lábil*. El transporte electrónico en estos complejos tiene lugar por la alternancia del ion de hierro entre los estados ferroso (reducido, 2+) y férrico (oxidado, 3+)

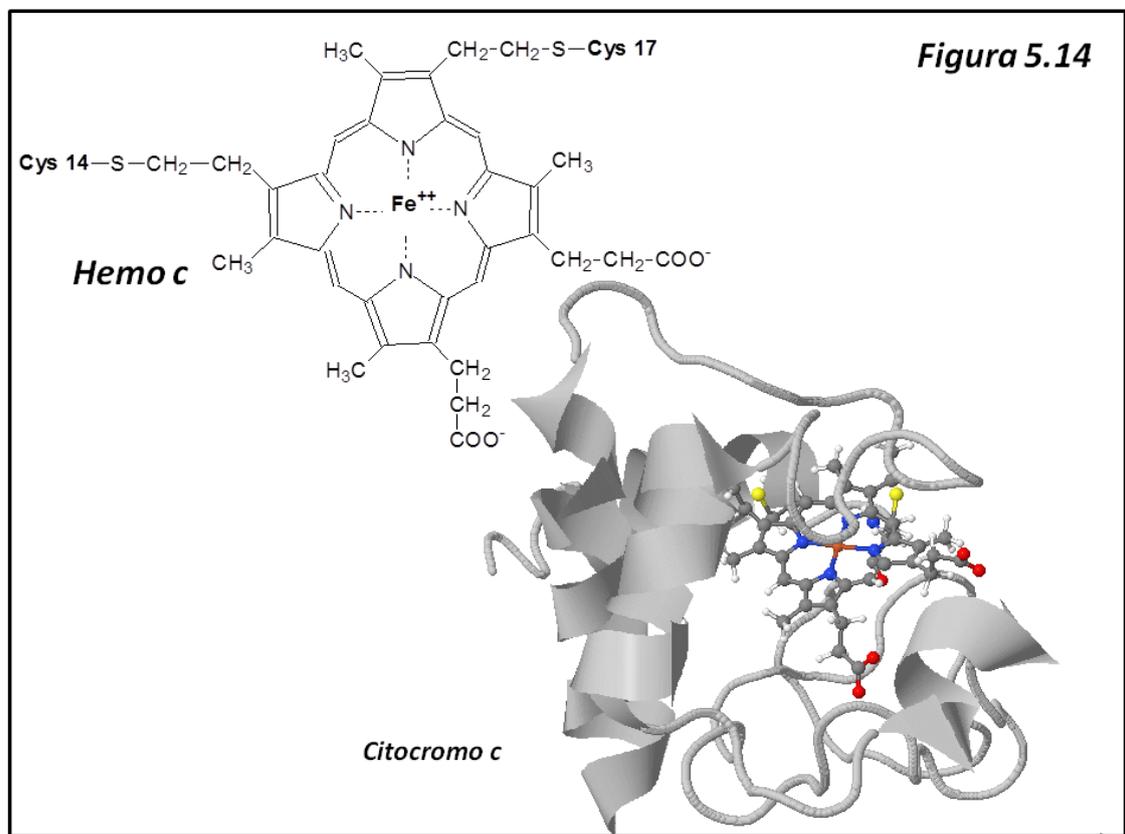
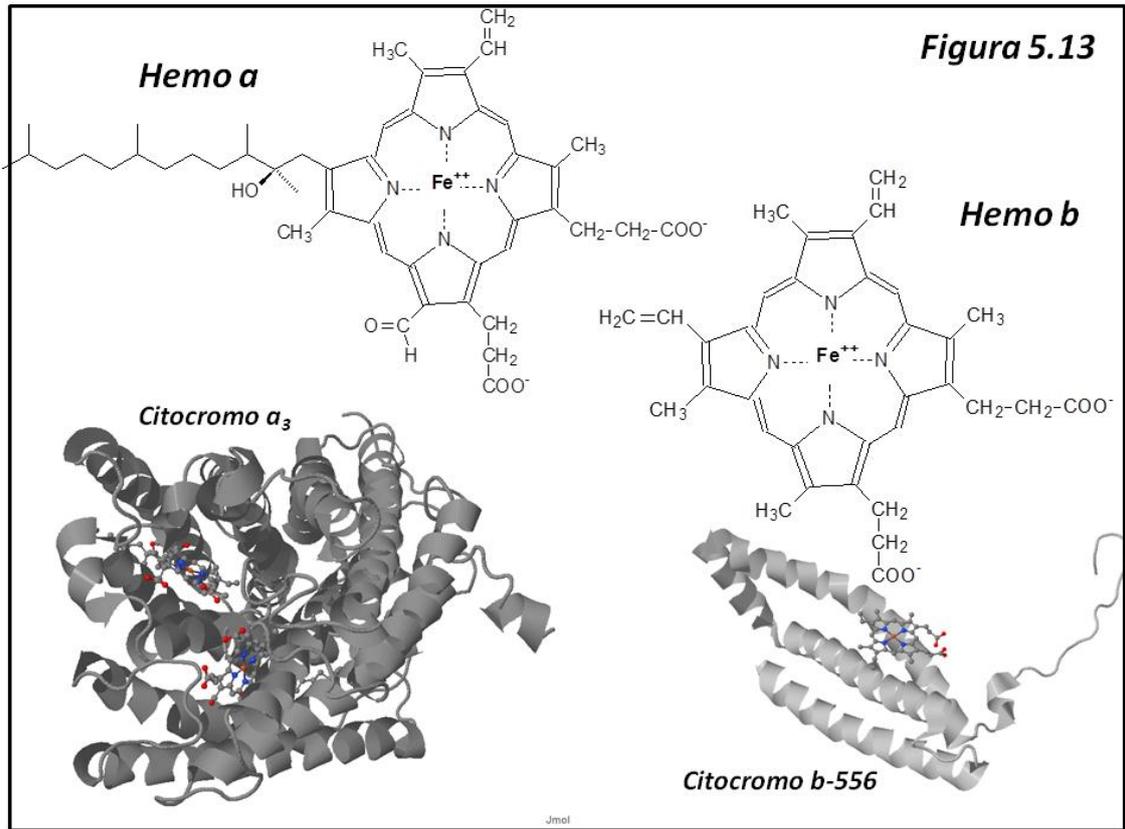
Los **citocromos** son hemoproteínas, esto es, proteínas con un grupo prostético porfirínico coordinado a un ion de hierro. Este ion de hierro es el encargado del transporte electrónico mediante la alternancia entre estados ferroso y férrico. Los citocromos presentes en los complejos respiratorios pertenecen a los tipos conocidos como citocromos a, b y c.

Los **citocromos a** tienen un potencial redox alto y van a aparecer en los transportadores terminales (en el complejo IV). El grupo prostético es un **hemo a**, que presenta típicamente una cadena lateral poliprenoide con la que se anclan a estructuras de membrana. Algunos citocromos a tienen libre la sexta posición de coordinación del hierro, lo que les hace sensibles a ligandos como el ion cianuro CN^- .

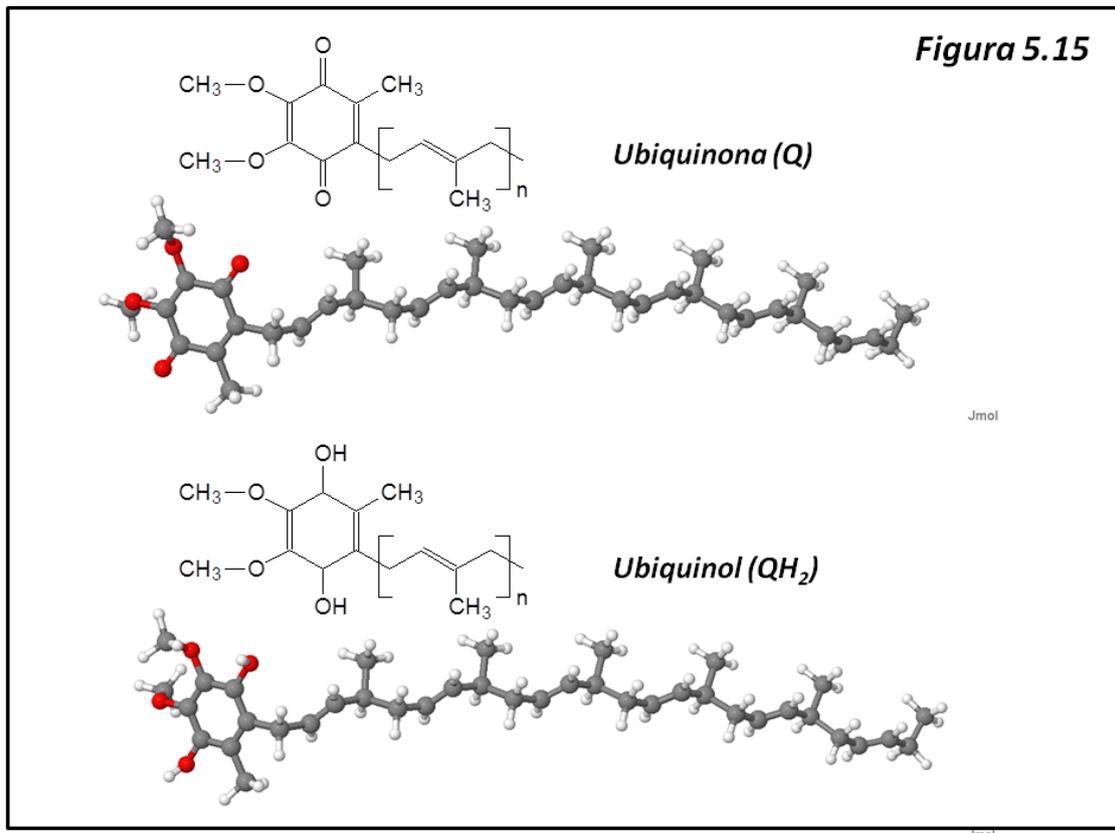
Los **citocromos b**, por el contrario, presentan el potencial redox más bajo de estas moléculas, y por ello los encontraremos en los escalones inferiores de la cadena de transporte electrónico. El grupo prostético es un **hemo b**, análogo al hemo b presente en transportadores de oxígeno como la hemoglobina y la mioglobina.

Los **citocromos c** tienen un potencial redox intermedio. Por ello vamos a encontrar como transportador soluble entre los complejos III y IV al citocromo c (ver Biomoléculas, cap. 9), una proteína muy bien conocida. Su grupo prostético es el **hemo c**, caracterizado por estar unido covalentemente a la proteína a través de dos residuos de cisteína.

Los grupos prostéticos de los citocromos se presentan en las **figuras 5.13 y 5.14**, junto con la estructura de los citocromos a_3 , b-556 y c.



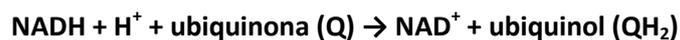
Como transportadores intermedios tenemos al citocromo c (entre los complejos III y IV) y a la **ubiquinona/ubiquinol** entre los complejos I y II, por una parte, y el complejo III, por otra. Se trata de un sistema cíclico unido a una cadena poliprenoide más o menos larga (figura 5.15).



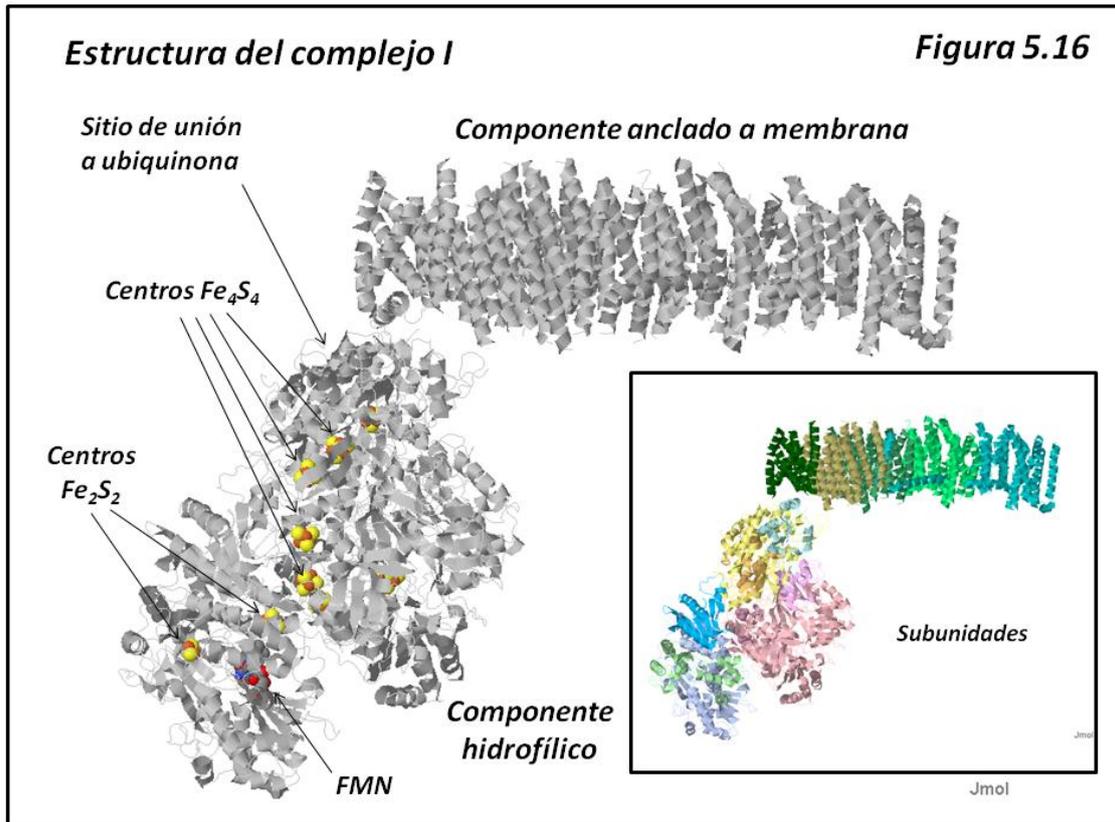
Se conoce también como **coenzima Q**. Funciona como transportador redox oscilando entre la estructura quinónica (oxidada) y la hidroquinónica (reducida); por tanto, en el caso de la coenzima Q los electrones son transportados como átomos de hidrógeno (al igual que en las coenzimas niacínicas y flavínicas). La coenzima Q es fuertemente hidrofóbica, pero tiene una gran movilidad en el interior de la membrana interna mitocondrial, lo que facilita su papel como transportador entre los distintos complejos.

5.4.3 El complejo I

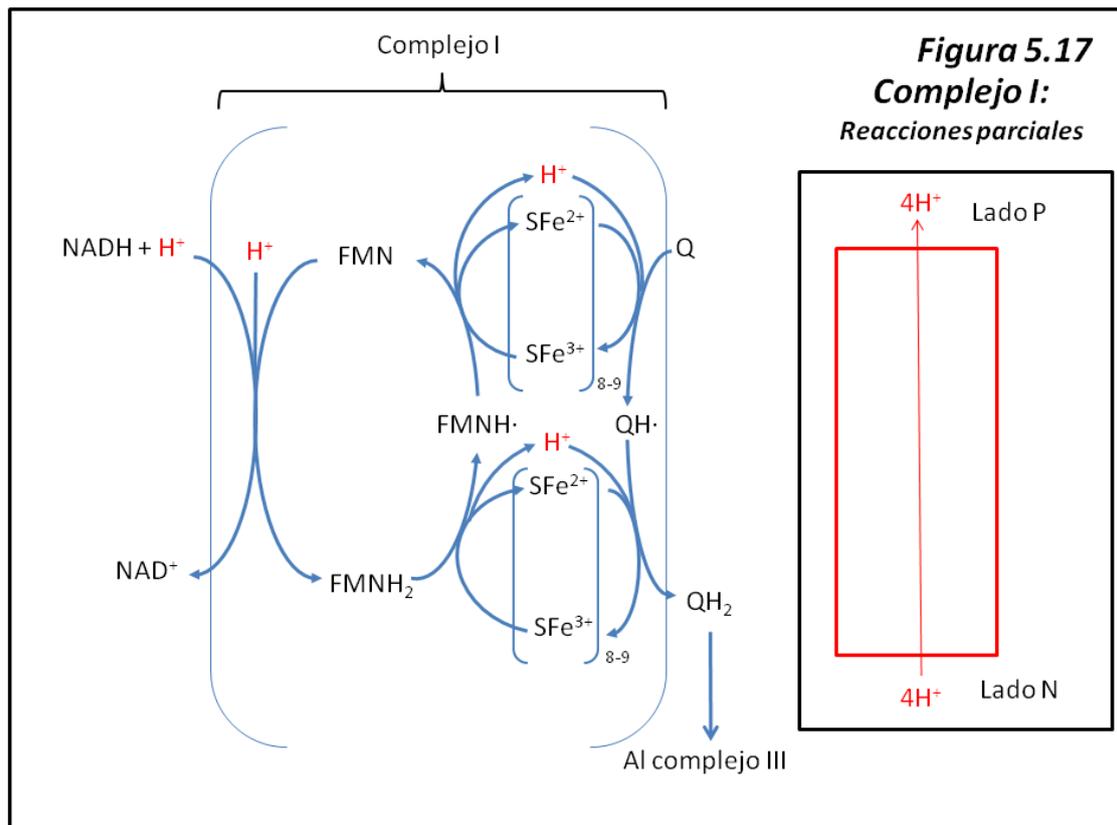
El complejo I ocupa el nivel inferior de potencial redox en la cadena de transporte electrónico. La reacción global catalizada por este complejo es la siguiente:



Se trata de un complejo supramolecular integrado en la membrana interna mitocondrial formado por 14 subunidades dispuestas en forma de L. Una de las ramas de la L se proyecta hacia la matriz de la mitocondria (componente hidrofílico), y es la que contiene los transportadores electrónicos; la otra rama es la que se integra plenamente en la membrana interna mitocondrial y está relacionada con el transporte de protones. La estructura tridimensional de este complejo aparece en la figura 5.16.



Las reacciones parciales catalizadas por el complejo I se representan en la [figura 5.17](#). NADH (procedente de las reacciones oxidativas del interior de la mitocondria) cede sus electrones (en forma de ion hidruro, H^-) a una flavoproteína integrante del complejo (subunidad a) cuyo grupo prostético es FMN (flavin mononucleótido).



FMN cede a continuación sus electrones (pero ya de uno en uno), a una serie de complejos Fe-S presentes en el componente hidrofílico del complejo; de éstos, siete son del tipo Fe_4S_4 y dos del tipo Fe_2S_2 . Los sitios Fe_4S_4 están constituidos por cuatro átomos de hierro y cuatro de azufre ácido-lábil; los sitios Fe_2S_2 están constituidos por dos átomos de hierro y dos de azufre ácido-lábil (figura 5.12). Los electrones son transportados a través de estos sitios (por la alternancia Fe^{2+}/Fe^{3+}) hasta llegar a la ubiquinona, que es reducida en dos pasos: en primer lugar a la semiquinona $QH\cdot$ y después a ubiquinol QH_2 . El sitio de unión a ubiquinona/ubiquinol se cree que está en la interfase entre el componente hidrofílico y el componente integrado en membrana.

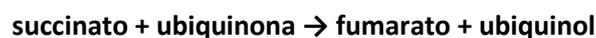
Ubiquinona/ubiquinol (también llamado Coenzima Q) es una molécula liposoluble que difunde libremente en la membrana y entrega sus electrones al complejo III.

La transferencia electrónica desde NADH a ubiquinol determina la **translocación de cuatro protones** hacia el espacio mitocondrial intermembrana. Por el momento se desconoce el mecanismo exacto de bombeo protónico a nivel del complejo I.

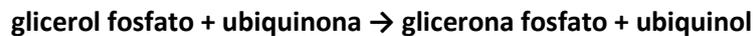
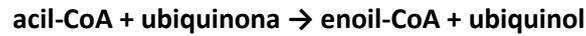
5.4.4 El complejo II

El complejo II está identificado con la enzima **succinato deshidrogenasa** del ciclo de Krebs.

El complejo II cataliza, pues, la siguiente reacción:



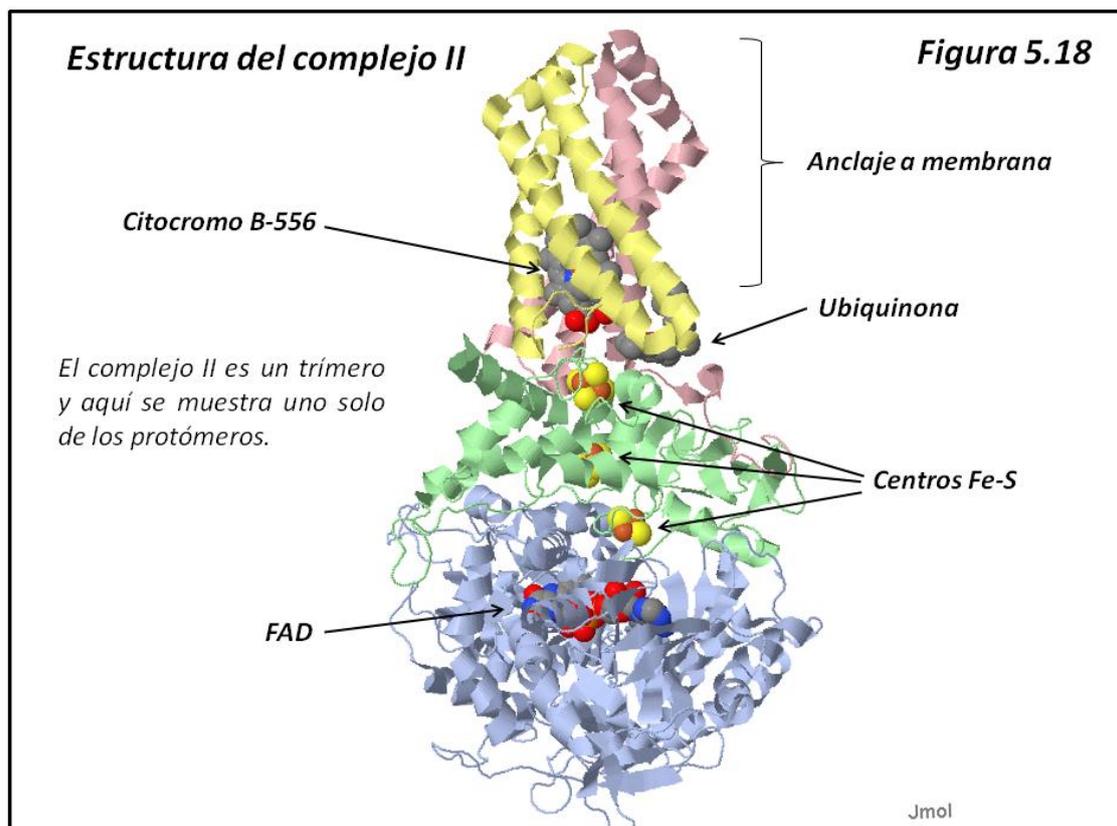
Hemos de tener en cuenta que otras dos actividades importantes en la mitocondria, la acil-CoA deshidrogenasa (de la β -oxidación, ver Cap. 6) y la glicerol fosfato deshidrogenasa mitocondrial (de los mecanismos de lanzadera, ver más adelante) también utilizan FAD que será oxidado por ubiquinona para dar ubiquinol, por lo que podemos considerar que las reacciones



catalizadas por dichas enzimas son en parte equivalentes a la de la succinato deshidrogenasa.

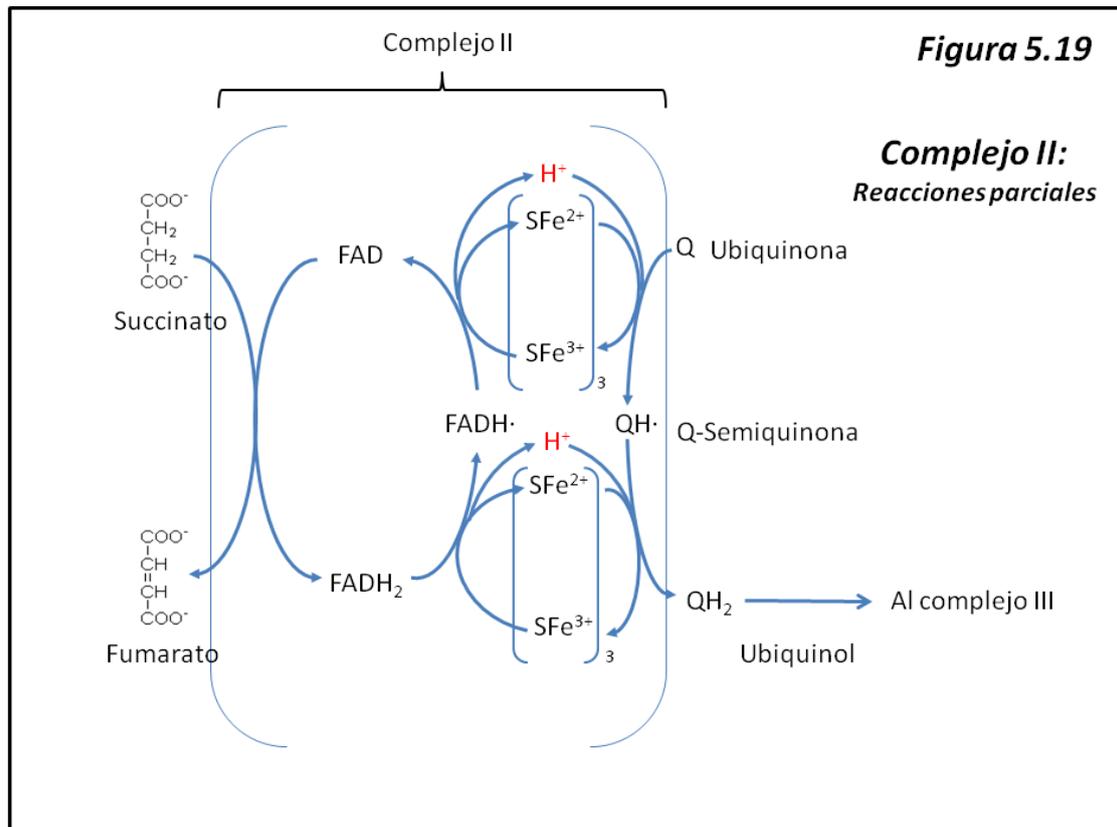
Dado que la primera cesión de electrones en el complejo II tiene lugar desde los substratos citados a una flavoproteína integrante del complejo con FAD como grupo prostético, las reacciones citadas se suelen representar como una cesión de electrones desde los substratos (succinato, acil-CoA, glicerol fosfato) al par redox FAD/FADH₂.

El complejo II tiene una estructura trimérica, integrada en la membrana interna mitocondrial, y cada uno de los monómeros (figura 5.18) consta de cuatro subunidades: Una flavoproteína, subunidad a, cuyo grupo prostético es FAD; una proteína Fe-S, subunidad b, con tres centros Fe-S; citocromo B-556, subunidad c; una proteína de anclaje a membrana, subunidad d.



Los electrones procedentes de la oxidación del succinato (o de acil-CoA o glicerol fosfato) siguen el siguiente camino: En primer lugar reducen a la coenzima FAD a FADH₂ con intermediario semiquinona, dado que la transferencia en los centros Fe-S y en los citocromos es monoelectrónica; FADH₂ los cede a tres centros Fe-S; que a su vez reducen al hemo del citocromo B-556, que en último término reduce a la ubiquinona para dar ubiquinol. Esta reducción también tiene lugar con un intermediario semiquinona.

A diferencia de los otros tres complejos respiratorios, el complejo II no da lugar a bombeo protónico. (figura 5.19)



5.4.5 El complejo III

El complejo III acepta electrones desde ubiquinol (procedente de complejos I o II) y reduce al citocromo c. La reacción global catalizada por este complejo es



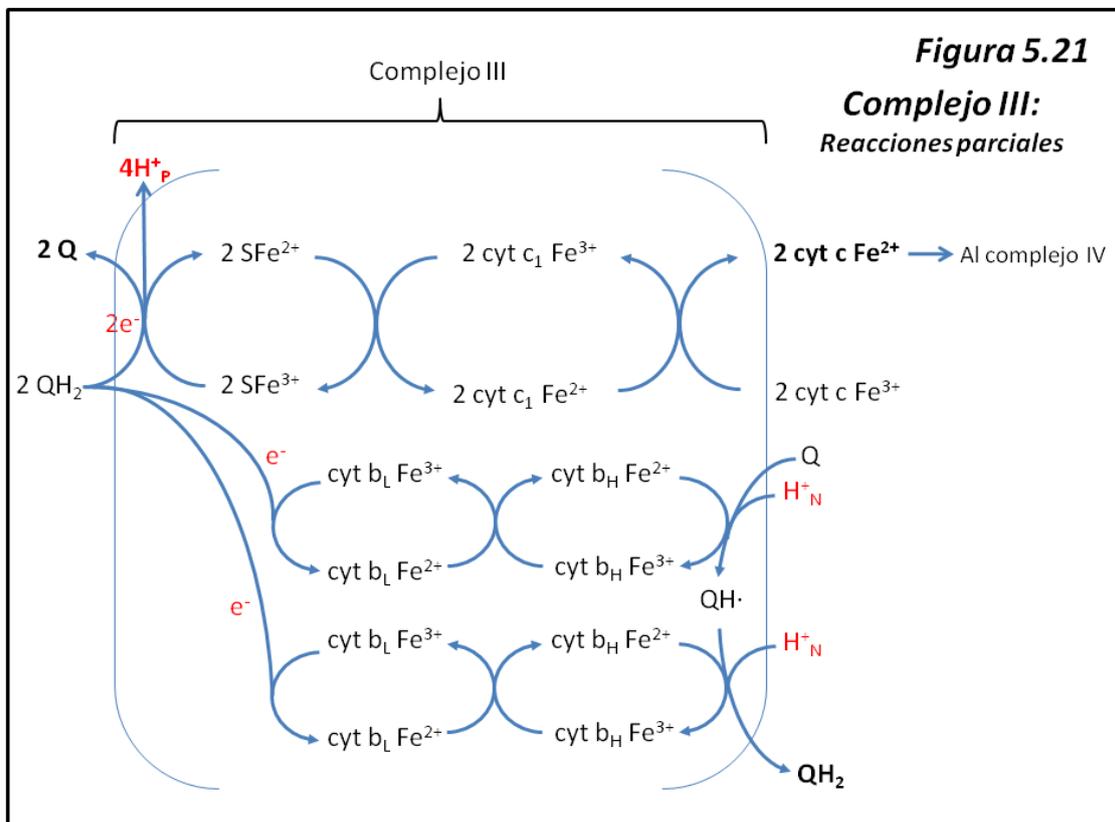
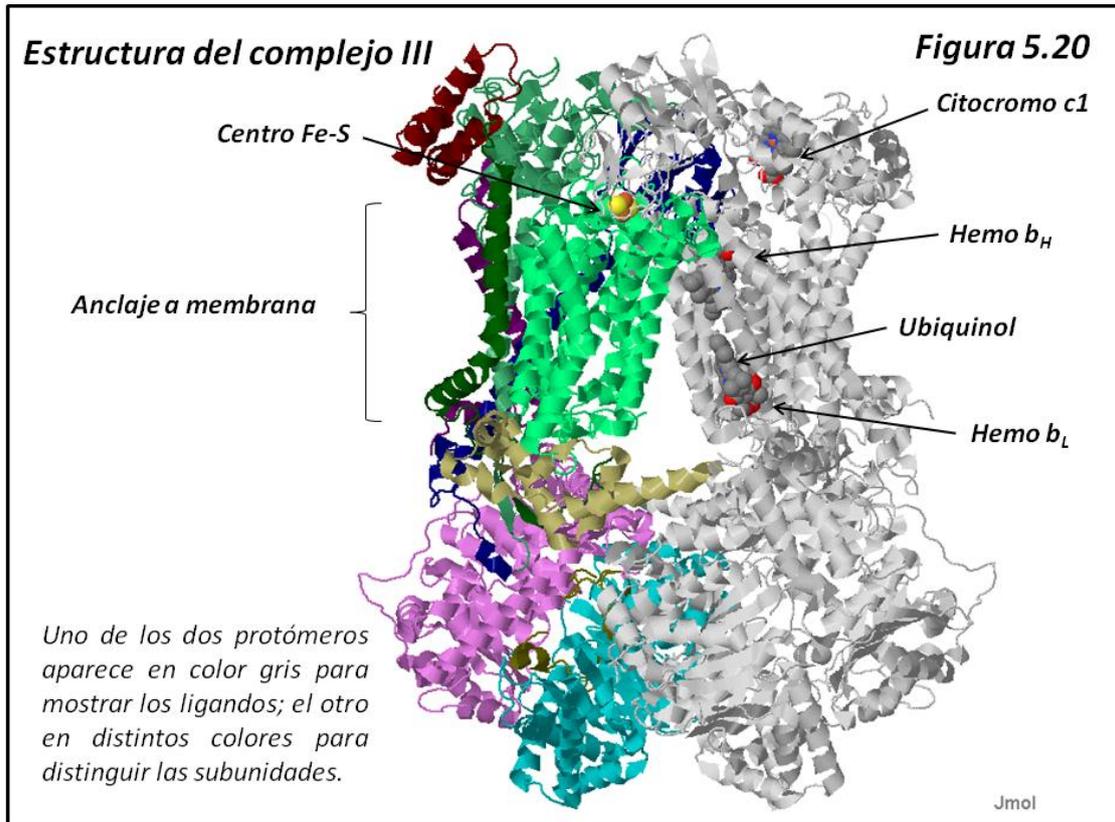
Por lo que también es conocido como **citocromo c reductasa**. La reacción, como veremos, es algo más compleja.

El complejo III es una estructura dimérica, formado por 20 subunidades iguales dos a dos, constituyendo 10 de ellas un protómero plenamente funcional. La estructura del complejo se presenta en la [figura 5.20](#).

Cada protómero está constituido por 10 subunidades, de las cuales las más relevantes en el transporte electrónico son el citocromo b, el citocromo c1 y una proteína Fe-S (proteína Rieske). Las restantes siete subunidades no participan en el proceso de transporte electrónico. En el citocromo b existen dos grupos hemo, b_L y b_H , con diferente potencial redox.

El flujo de electrones a través del complejo III ([figura 5.21](#)) sigue dos caminos: por una parte, los electrones procedentes de los complejos I y II, en forma de ubiquinol, reducen al centro Fe-S de la proteína Rieske, que a su vez reduce al ion férrico del citocromo c1, el cual reduce al

citocromo c, transportador soluble (no ligado a complejos) que cederá sus electrones al complejo IV.



El segundo flujo electrónico terminará *reduciendo* otra molécula de ubiquinona. En este caso, los electrones procedentes de ubiquinol reducen a uno de los dos hemo b presentes en el citocromo b; que a su vez reduce al otro hemo de la misma molécula, la cual reduce a una molécula de ubiquinona a ubiquinol.

De esta manera, la actividad del complejo III *oxida* a dos moléculas de ubiquinol y *reduce* a una molécula de ubiquinona.

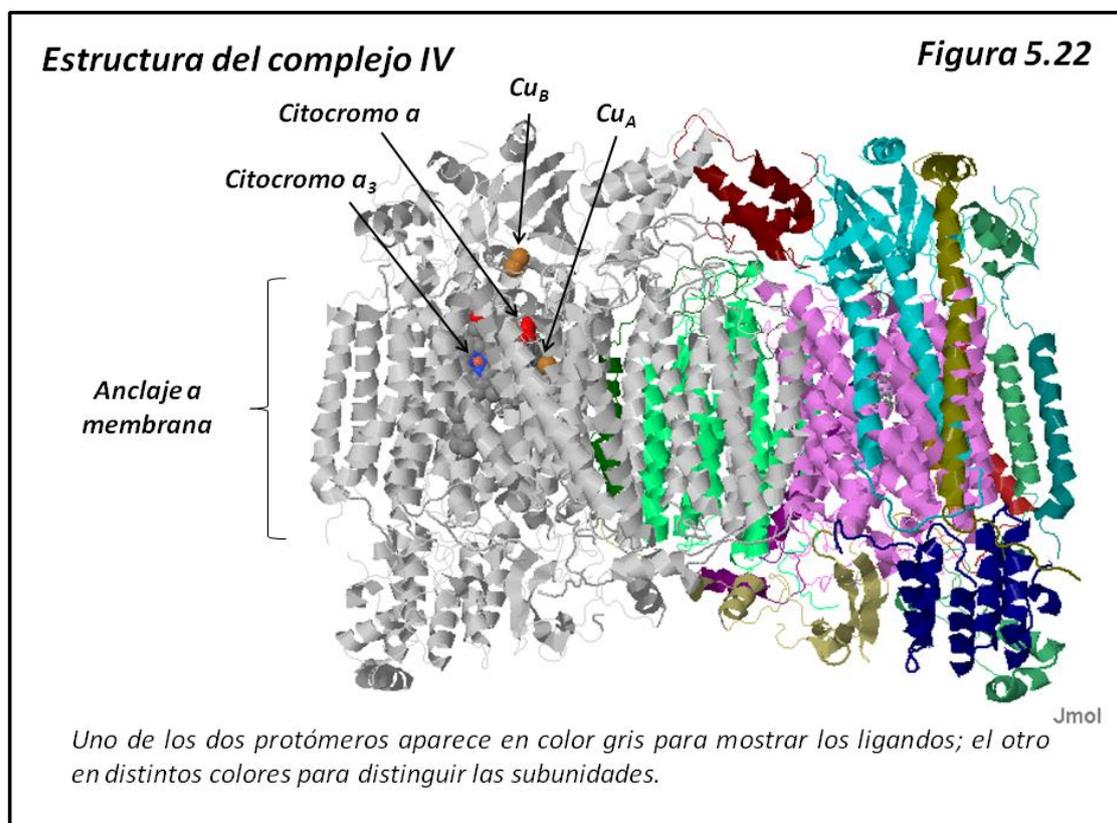
Al tiempo que los electrones fluyen por el complejo III, los cuatro protones H⁺ procedentes de la oxidación de dos moléculas de ubiquinol se descargan al espacio intermembrana, contribuyendo de esa manera a la formación del gradiente protónico, tal como se muestra en la [figura 5.21](#).

5.4.6 El complejo IV

El complejo IV cataliza la fase terminal del transporte electrónico. Los electrones provistos por el citocromo c reducido irán a parar a la reducción del oxígeno molecular O₂ a agua H₂O. Por esa razón este complejo es comúnmente llamado **citocromo oxidasa**. La reacción global catalizada por este complejo es la siguiente:

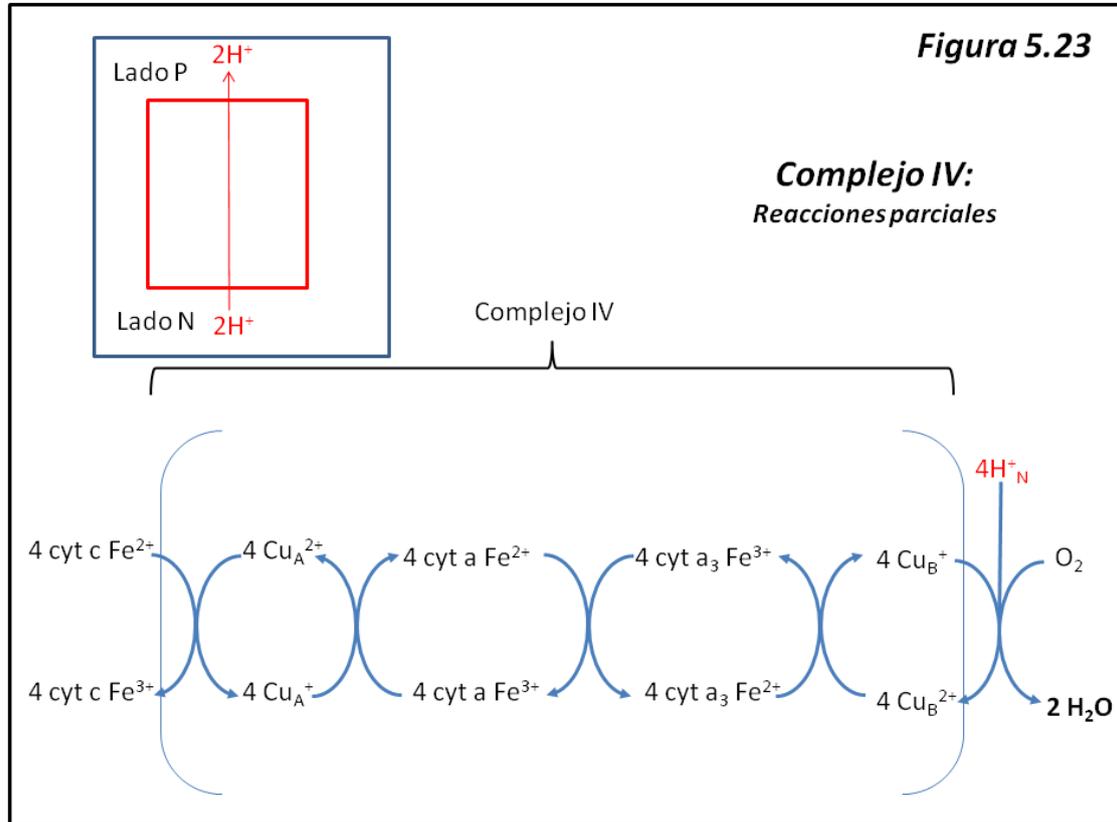


La estructura molecular del complejo se presenta en la [figura 5.22](#). Al igual que en el complejo III se trata de dos protómeros idénticos de 13 subunidades cada uno plenamente integrados en la membrana interna mitocondrial. Todas las especies estudiadas presentan tres subunidades conocidas como I, II y III. Los eucariotas presentan otras 10 subunidades adicionales.



La subunidad I es una hemoproteína con dos hemos tipos a (citocromo a) y a₃ (citocromo a₃) y un ion de cobre (Cu_B). La subunidad II contiene dos átomos de cobre (Cu_A). La subunidad III no contiene centros redox.

El flujo electrónico en el complejo IV se presenta en la [figura 5.23](#).



Consiste en la cesión de electrones por parte del citocromo c reducido al primer centro de cobre (Cu_A, en la subunidad I). Éste cede los electrones al primer hemo de la misma subunidad (hemo a), el cual los cede al hemo a₃ de la misma. Este segundo hemo cederá sus electrones al segundo centro de cobre, Cu_B, situado en la subunidad II, el cual reducirá directamente al oxígeno. El cobre participa en el proceso redox alternando sus estados de oxidación Cu⁺ (reducido) y Cu⁺⁺ (oxidado).

La energía liberada en el complejo IV está acoplada a la translocación de dos protones H⁺ desde el interior al exterior. De esta manera, la oxidación aeróbica de NADH, dará lugar al bombeo de 10 protones (4 en el complejo I, 4 en el complejo III y 2 en el complejo IV); mientras que la oxidación de succinato, a través de FADH₂, bombea 6 protones (4 en el complejo III y 2 en el complejo IV).

5.4.7 Energética del transporte electrónico

Hemos visto que la cadena de transporte electrónico está estructurada de forma escalonada, de manera que sus diversos componentes se ordenan a lo largo de la misma en orden de menor a mayor potencial redox.

El potencial redox standard de un sistema es la diferencia de potencial observada entre el sistema y el electrodo standard de hidrógeno, con todos sus componentes a concentración

unidad, y se representa como $\Delta E^{0'}$ (el signo ' nos indica que las mediciones se hacen a pH 7.0, de la misma manera que la energía libre standard $\Delta G^{0'}$) y se mide en voltios. En la tabla I aparece una lista con el potencial redox de los diferentes elementos que hemos visto a lo largo de la cadena de transporte electrónico.

Tabla I

Substrato	$\Delta E^{0'}$ (voltios)
NAD/NADH	-0.32
FMN (I)	-0.30
Fe-S (I)	-0.25 a -0.05
Succinato	+0.03
FAD (II)	0.0
Fe-S (II)	-0.26 a 0.0
Q/QH ₂	+0.04
Citocromo b _L (III)	-0.01
Citocromo b _H (III)	+0.03
Fe-S (III)	+0.28
Citocromo c ₁ (III)	+0.22
Citocromo c	+0.23
Citocromo a (IV)	+0.21
CuA (IV)	+0.24
Citocromo a ₃ (IV)	+0.39
CuB (IV)	+0.34
O ₂	+0.82

Teniendo en cuenta que la energía libre liberada en un proceso redox viene dada por la ecuación

$$\Delta G^{0'} = -n\mathcal{F}\Delta E^{0'}$$

Donde $\Delta G^{0'}$ es la energía libre liberada, n el número de electrones transferidos, \mathcal{F} la constante de Faraday (96.48 kJ V⁻¹ mol⁻¹) y $\Delta E^{0'}$ la diferencia de potencial redox entre reductor y oxidante, podemos calcular la energía liberada en los diferentes complejos, que aparece en la tabla II:

Tabla II

Complejo	Substratos	$\Delta E^{0'}$ (V)	$\Delta G^{0'}$ (kJ mol ⁻¹)
I	NADH/Q	+0.36	-70
II	Succinato/Q	+0.01	-2
III	QH ₂ /Citocromo c	+0.19	-37
IV	Citocromo c/O ₂	+0.59	-110

5.5 Fosforilación oxidativa

5.5.1 Introducción

La energía liberada por los procesos redox a lo largo de los complejos respiratorios se traduce en la síntesis de ATP a expensas de ADP y fosfato inorgánico, en el proceso que conocemos como **fosforilación oxidativa**. Recibe este nombre para distinguirla de procesos de fosforilación a nivel de sustrato, del tipo hasta ahora visto en la glucólisis (fosfoglicerato kinasa y piruvato kinasa) y en una particular reacción del ciclo de Krebs (succinato tiokinasa).

En condiciones normales, ambos procesos (transporte electrónico y fosforilación oxidativa) se encuentran **acoplados**: es decir, a pesar de ser procesos independientes tienen lugar de forma simultánea. Sin embargo, hay ocasiones en las que los vamos a encontrar **desacoplados**, bien por la presencia de ciertos tóxicos (agentes *desacoplantes*) o bien en determinadas condiciones fisiológicas en las que la energía del transporte electrónico debe traducirse en la generación de calor sin producir energía libre química (en el tejido adiposo pardo en condiciones de hibernación, por ejemplo).

En un principio, tres eran las hipótesis que se presentaban para explicar el mecanismo de fosforilación oxidativa. Estas hipótesis consideraban que la formación de ATP era una especie de reversión de los procesos en los que participa este nucleótido.

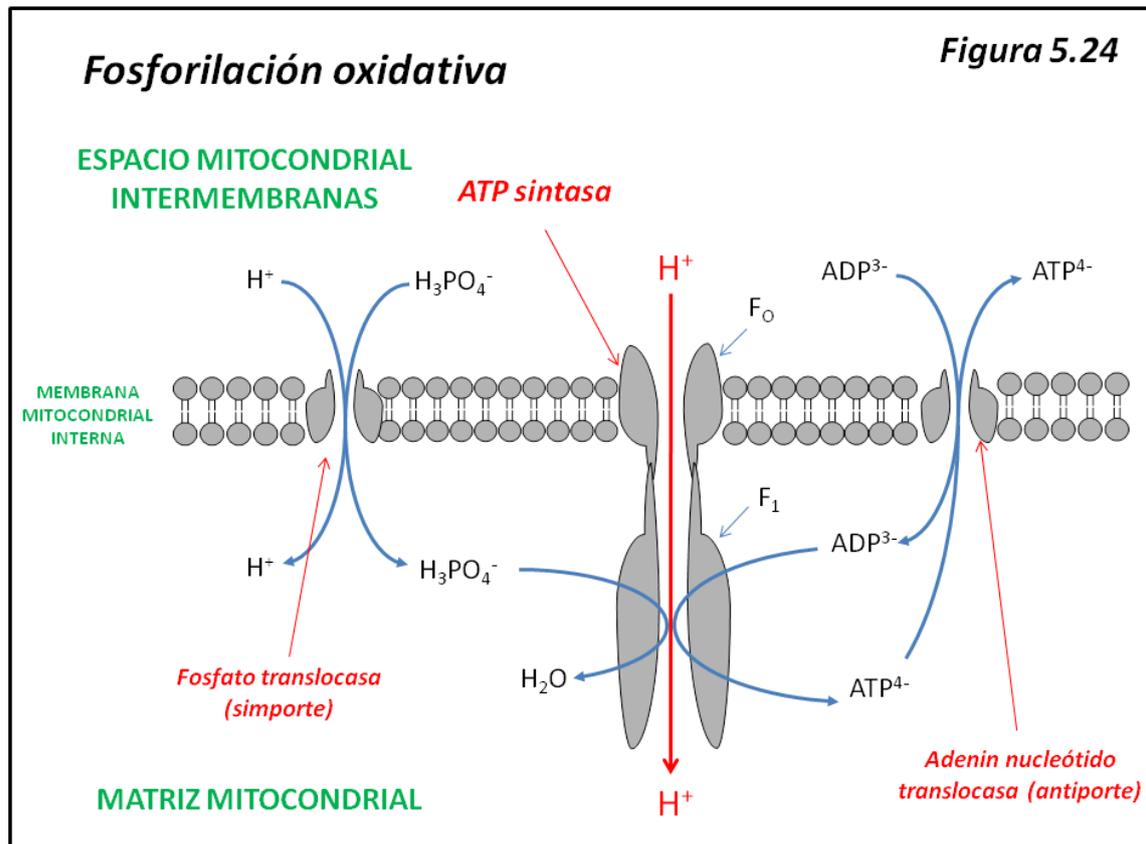
(a) Uno de estos procesos es el suministro de energía libre química para reacciones termodinámicamente desfavorables. Así, la **hipótesis del acoplamiento químico**, postulaba que el transporte electrónico generaba compuestos de alta energía de hidrólisis (del tipo de fosfoenolpiruvato o 1,3 bisfosfoglicerato en la glucólisis) que transferían el fosfato de alta energía al ADP para formar ATP.

(b) Otro proceso que consume grandes cantidades de ATP es la contracción muscular (o el movimiento mecánico en general). Esto dio origen a la **hipótesis del acoplamiento mecanoquímico**, según la cual el transporte electrónico generaba en la mitocondria una configuración de alta energía potencial mecánica que al relajarse era capaz de mover la reacción de fosforilación de ADP para dar ATP.

(c) El ATP es asimismo consumido en grandes cantidades en los procesos de transporte activo (contra gradiente). Aquí está el origen de la **hipótesis de acoplamiento quimiosmótico**. En esta hipótesis, el transporte electrónico genera un gradiente de concentración en torno a la membrana interna mitocondrial que al destruirse liberaría la energía suficiente para llevar a cabo la síntesis de ATP. Gracias a los trabajos de **Peter Mitchell** hoy día se acepta universalmente esta hipótesis. El transporte electrónico genera un gradiente de protones de forma que se acidifica el espacio intermembrana (al tiempo, lógicamente, que el interior mitocondrial se alcaliniza). Cuando los protones vuelven al interior mitocondrial (a favor de gradiente) a través de un determinado complejo supramolecular presente en la membrana interna (el **complejo F_0F_1** , también conocido como **complejo V**) la energía liberada se aprovecha para la síntesis de ATP. En síntesis:

Transporte electrónico → bombeo de protones → fuerza protonmotriz → síntesis de ATP

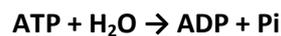
La denominación *fuerza protonmotriz* es análoga a la *fuerza electromotriz* que mueve a los electrones en un circuito eléctrico. Una visión esquemática del proceso de fosforilación oxidativa se presenta en la **figura 5.24**.



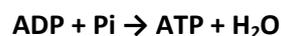
Ahora bien, en el mecanismo actualmente postulado para explicar la fosforilación oxidativa también tiene cabida parte de la hipótesis mecanoquímica: al circular los protones a favor de gradiente en el complejo F_0F_1 , el ATP se forma gracias a la acción de un motor molecular presente en el mismo.

5.5.2 El complejo F_0F_1 (ATP sintasa, EC 3.6.3.14)

Se trata de una estructura supramolecular integrada en la membrana interna mitocondrial, de tal manera que uno de sus componentes, F_0 (nótese que se trata de F “O mayúscula” y no de F “cero”; la O procede de su sensibilidad a **O**ligomicina) está formando parte integral de la membrana mientras que el otro, F_1 , se proyecta hacia el interior de la mitocondria. Este complejo es visible al microscopio electrónico, y cuando se purifica F_1 en condiciones controladas cataliza una reacción de hidrólisis de ATP:



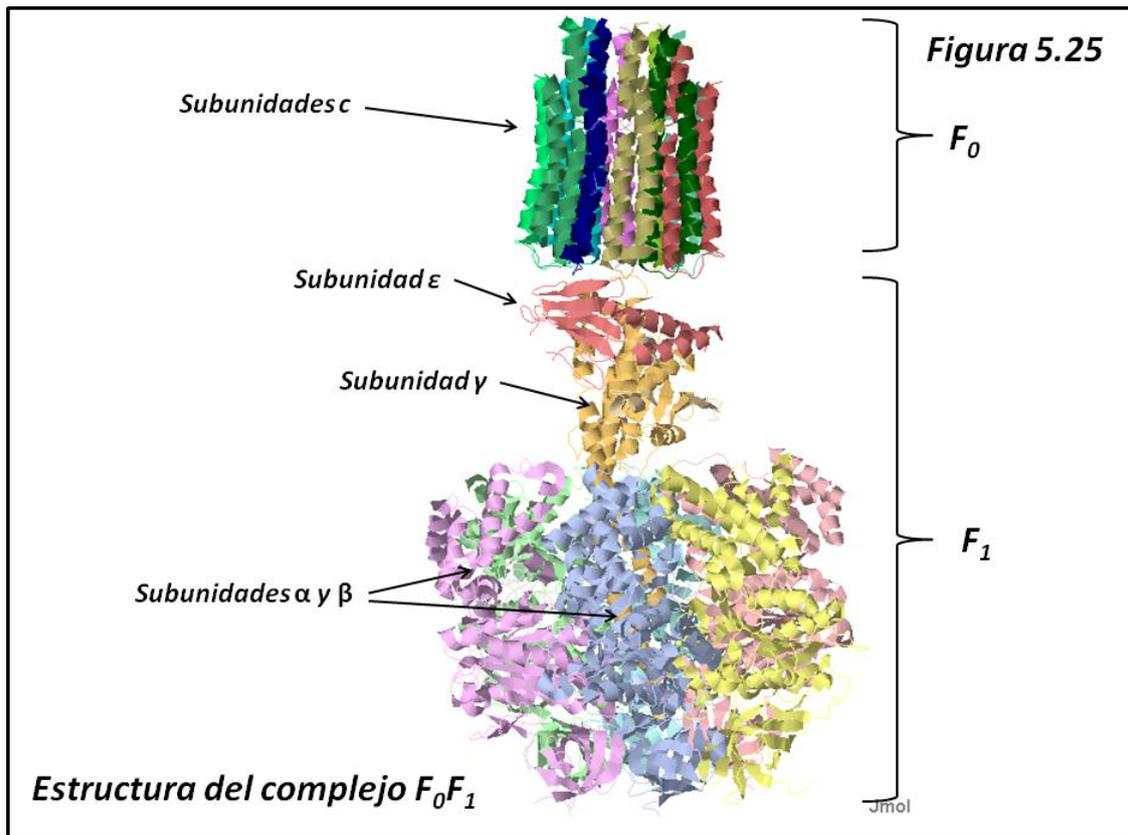
Por lo que también es conocido como F_1 -ATPasa. Ahora bien, la reacción que realmente tiene lugar en este complejo es la inversa:



De manera que hoy se prefiere la denominación de **ATP sintasa**.

El componente F_0 está incluido en la membrana interna. Está formado por subunidades a, b y c (de estas últimas entre 10 y 14 copias) formando un canal iónico a través del cual los

protones volverán al interior mitocondrial a favor de un gradiente de concentración. El componente F_1 tiene una estructura subunitaria $\alpha_3\beta_3\gamma\delta\varepsilon$. Esta estructura se presenta en la [figura 5.25](#), y en su conjunto constituye un **motor molecular**.



Las subunidades α y β , con tres copias cada una, forman una estructura cilíndrica que se proyecta hacia el interior de la mitocondria, la cual se une a F_0 mediante las subunidades c de éste con γ y ε . Este conjunto $c_{10}\text{-}\gamma\text{-}\varepsilon$ forma un **rotor** que gira en el interior de la membrana; las restantes subunidades, es decir: $\alpha_3\beta_3\delta ab$ constituyen el **estator** del mismo ([figura 5.26](#))

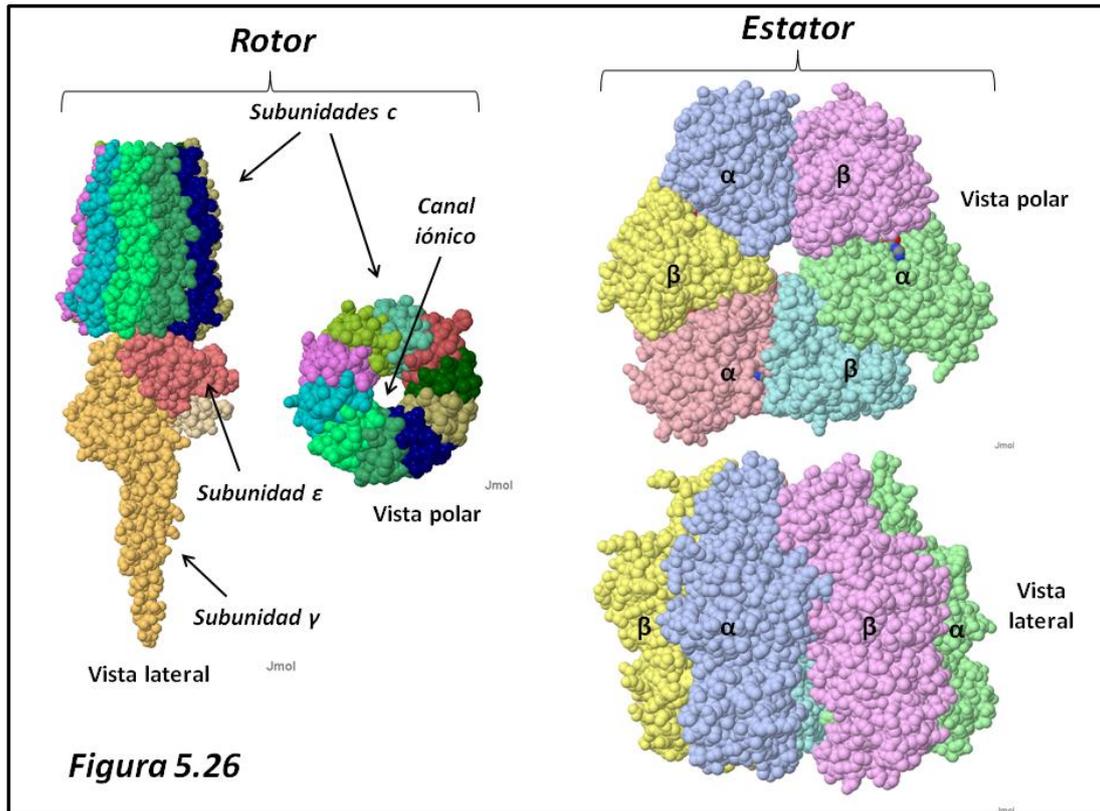


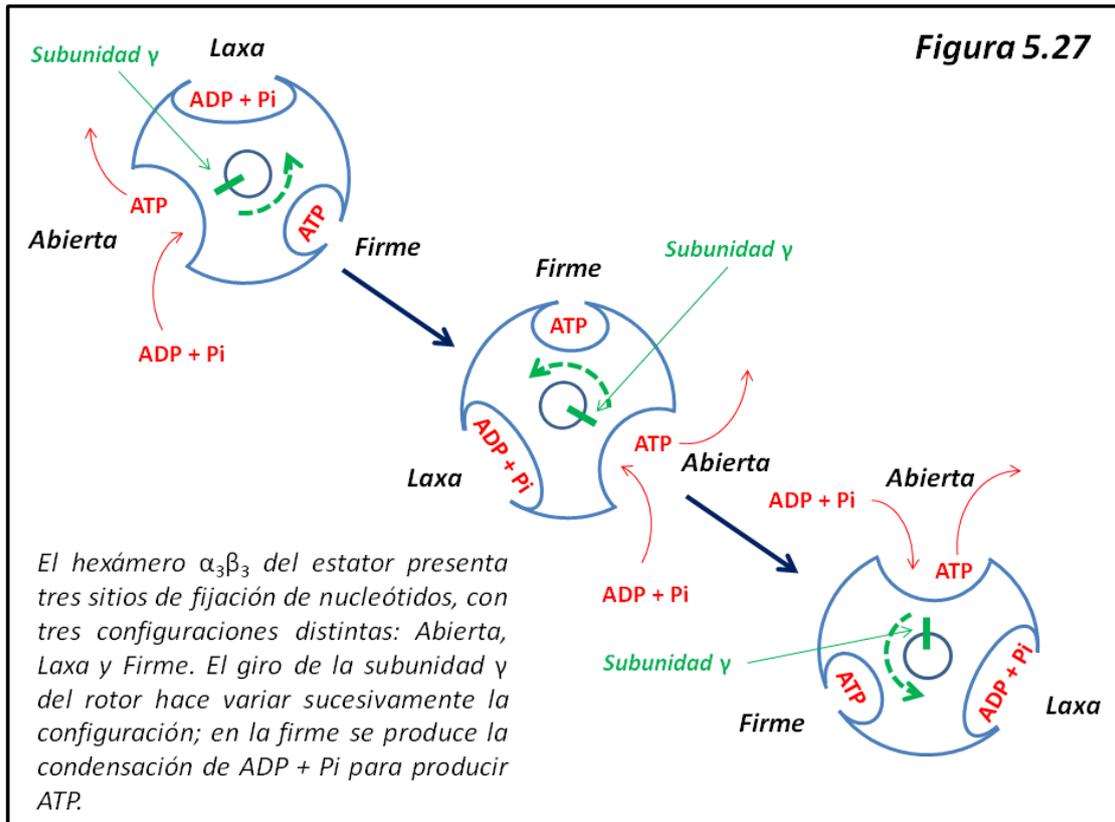
Figura 5.26

El flujo de protones a favor de gradiente va a mover el rotor determinando cambios conformacionales en el estator que a su vez llevarán a cabo la síntesis de ATP a partir de ADP y Pi.

5.5.3 El proceso de síntesis de ATP

Podemos considerar que la porción $\alpha_3\beta_3$ de F1 constituye un trómero de protómeros $\alpha\beta$. Cada uno de estos trómeros posee un sitio de fijación de nucleótidos. La conformación de estos sitios varía conforme rota la subunidad γ , que es parte del rotor (figura 5.26)

Los sitios de fijación en los protómeros $\alpha\beta$ pueden estar en tres conformaciones distintas: **abierta**, **laxa** y **firme**. En la configuración abierta el sitio puede fijar ADP + Pi o liberar ATP; en la conformación laxa el ADP + Pi fijado no puede desprenderse; en la conformación firme se favorece la condensación de ADP y Pi para formar ATP, el cual no puede desprenderse del sitio (figura 5.27).



El proceso sería el siguiente para cualquiera de los tres sitios:

1. Un sitio abierto desprende el ATP formado y fija $ADP + Pi$.
2. La subunidad γ del rotor gira 120° , con lo cual el sitio cambia de abierto a laxo.
3. Un nuevo giro de γ hace que el sitio cambie de laxo a firme; tiene lugar la síntesis de ATP pero éste no se desprende.
4. Un nuevo giro de γ cambia el sitio de firme a abierto: el ATP se desprende y pueden acceder al sitio nuevamente ADP y Pi , con lo que el ciclo comienza otra vez.

Si tenemos en cuenta que el estator $\alpha_3\beta_3$ es trimérico, veríamos los tres sitios funcionando según este ciclo, de manera que cuando un sitio está abierto, el siguiente está en conformación laxa y el siguiente en conformación firme. Así, una vuelta completa de la subunidad γ del rotor produce tres moléculas de ATP. Se ha estimado que este sistema puede rotar a velocidades de 130 revoluciones por segundo; esto supondría la síntesis de 390 moléculas de ATP por segundo y por complejo F_0F_1 .

5.5.4 Procesos de transporte en la mitocondria

En la [figura 5.24](#) veíamos que el proceso de fosforilación oxidativa tiene que estar necesariamente acompañado de dos procesos de transporte: entrada de ADP y Pi a la mitocondria y salida del ATP formado. Todas estas especies tienen carga eléctrica y no pueden atravesar libremente la membrana interna mitocondrial.

Existen sistemas de transporte específicos para estos procesos. Uno de ellos es la **Adenin nucleótido translocasa**, un antiporte que intercambia ADP (citoplasma → mitocondria) por ATP (mitocondria → citoplasma). El gradiente protónico generado por el transporte electrónico favorece este antiporte, dado que el ATP aparece normalmente con cuatro cargas electronegativas (4-) mientras que el ADP tiene tres (3-). El exceso de carga electropositiva en el exterior mitocondrial favorece el transporte de la molécula más electronegativa (ATP).

Por su parte, el fosfato inorgánico H_2PO_4^- (abreviadamente, Pi) ingresa en la mitocondria gracias a un simporte electroneutro acoplado a la entrada de un protón hacia la mitocondria, que está lógicamente favorecida por el gradiente creado por el transporte electrónico.

5.5.5 Desacoplamiento

Se estima que en condiciones de reposo aproximadamente un 20 % del oxígeno consumido en la cadena de transporte electrónico no se acopla a la fosforilación oxidativa debido a la pérdida de protones hacia el interior de la mitocondria.

Este desacoplamiento puede asimismo tener lugar mediante determinados tóxicos llamados generalmente desacoplantes. Quizá el mejor estudiado es el compuesto **2,4-dinitrofenol**. Éste se comporta como un transportador hidrofóbico, interaccionando con las estructuras de la membrana interna y permitiendo que ésta se vuelva permeable a los protones. De esta manera se suprime el gradiente protónico y se impide la formación de ATP por fosforilación oxidativa. La energía liberada en condiciones de desacoplamiento se disipa en forma de calor.

En los mamíferos hibernantes y en los recién nacidos hay un tejido adiposo especializado, el tejido adiposo pardo, en el cual la fosforilación oxidativa y el transporte electrónico aparecen en gran parte desacoplados. De esta forma se favorece la generación de calor en estas condiciones. El desacoplamiento se debe a la presencia en las células adiposas pardas de una proteína, la **termogenina**, que se integra en la membrana interna mitocondrial y constituye un canal iónico para protones de manera que se anula el gradiente protónico y se impide de esa manera la fosforilación oxidativa.

5.5.6 Inhibidores de la función mitocondrial

En el descubrimiento de los distintos procesos que tienen lugar en la mitocondria los inhibidores han tenido un papel relevante. De la misma manera, estos inhibidores tienen muchos empleos prácticos (como antibióticos, defoliantes, herbicidas, fitosanitarios en general) aunque por lo general presentan una elevada toxicidad para la especie humana. podemos citar los siguientes:

1. Inhibidores que actúan sobre el complejo I: Rotenona, Amital, Piericidina A
2. Inhibidores que actúan sobre el complejo III: Antimicina
3. Inhibidores que actúan sobre el complejo IV: Ion cianuro (CN^-), monóxido de carbono (CO). Estos agentes actúan como ligandos de la sexta posición de coordinación de los grupos Hemo a y Hemo a_3 presentes en este complejo. Esta posición en condiciones normales está vacante (a diferencia de otros citocromos, que la tienen ocupada). La ocupación por estos ligandos inhibe la función del complejo (citocromo oxidasa) y de ahí su elevada toxicidad.
4. Agentes que actúan sobre el componente F_0 de la ATP sintasa: Oligomicina
5. Agentes que actúan sobre el componente F_1 de la ATP sintasa: Aurovertina

6. Agentes desacoplantes: 2,4 Dinitrofenol (DNP); Diciclohexil carbodiimida (DCCI), Valinomicina. Este último es un antibiótico ionóforo, que se fija a la membrana y permite el paso de cationes como el K^+ y el H^+ .

7. Inhibidores del intercambio ATP/ADP: Atractilósido.

5.5.7 Balance energético de la degradación aeróbica de piruvato y acetil-CoA

Consideraremos el ATP producido a través del transporte electrónico y la fosforilación oxidativa.

(a) Desde Acetil-CoA:

Isocitrato deshidrogenasa	NADH	2.5 ATP
α -Cetoglutarato deshidrogenasa	NADH	2.5 ATP
Succinato deshidrogenasa	$FADH_2$	1.5 ATP
Malato deshidrogenasa	NADH	2.5 ATP
Succinato tiokinasa (substr.)		1 GTP
Total		9 ATP + 1 GTP = 10 ATP equiv.

(b) Desde Piruvato:

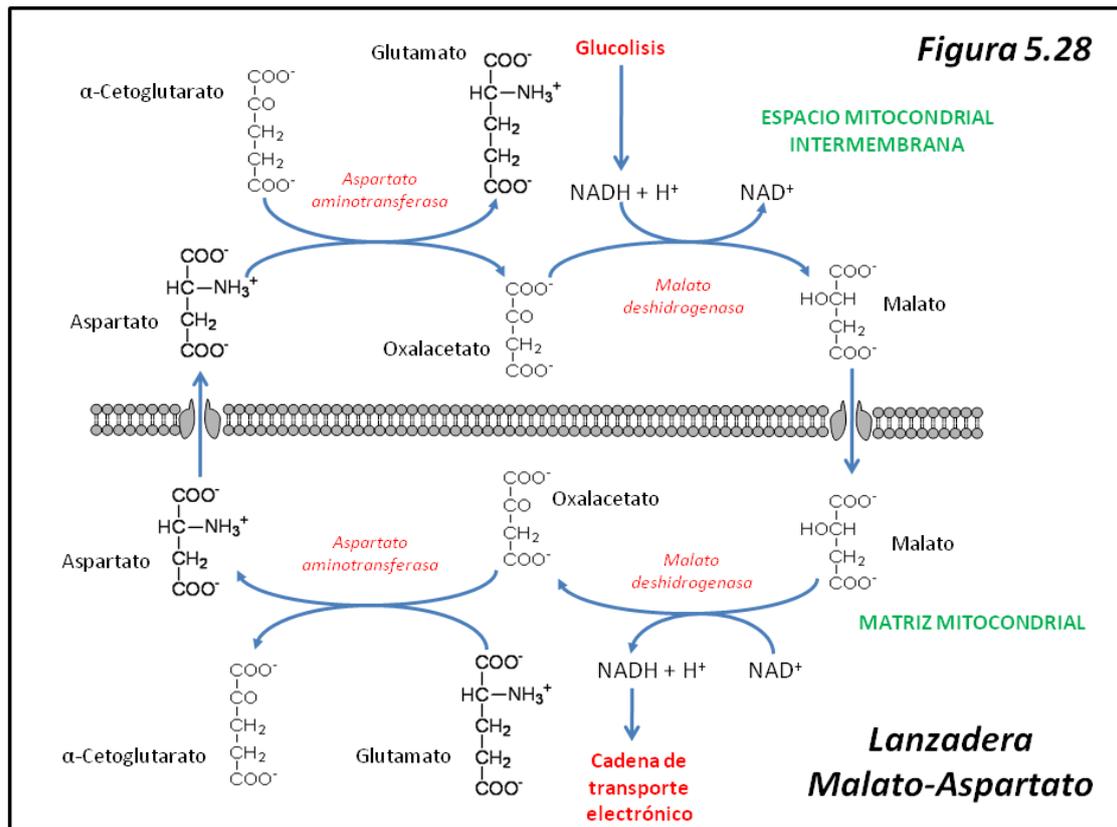
Piruvato deshidrogenasa	NADH	2.5 ATP
Acetil-CoA (vía ciclo)		10.0 ATP
Total		12.5 ATP

5.6 Mecanismos de lanzadera

Hemos visto en el capítulo anterior cómo la degradación glucolítica puede llegar a detenerse si no se regenera el NAD^+ necesario para la reacción de la gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa. En condiciones anaeróbicas, esta regeneración tiene lugar en la reacción de la lactato deshidrogenasa (en la fermentación láctica) o en la alcohol deshidrogenasa (fermentación alcohólica). Pero en condiciones aeróbicas, el piruvato ingresa en la mitocondria y no da lugar a las reacciones citadas. Por otra parte, NADH no puede atravesar la membrana mitocondrial interna. Para regenerar este NAD^+ y de paso, introducir en la mitocondria los equivalentes de reducción de NADH, están los **mecanismos de lanzadera** (ingl. *shuttle*). Consideraremos dos: uno, mayoritario, que es la **lanzadera malato-aspartato**; otro, minoritario, que es la **lanzadera de glicerofosfato**.

5.6.1 Lanzadera malato-aspartato

La **figura 5.28** nos muestra las reacciones propias de este mecanismo. El NADH producido en la glucolisis es oxidado por la malato deshidrogenasa citoplásmica a NAD^+ y el oxalacetato reducido a malato. Éste es capaz de atravesar la membrana mitocondrial interna gracias a un transportador específico.

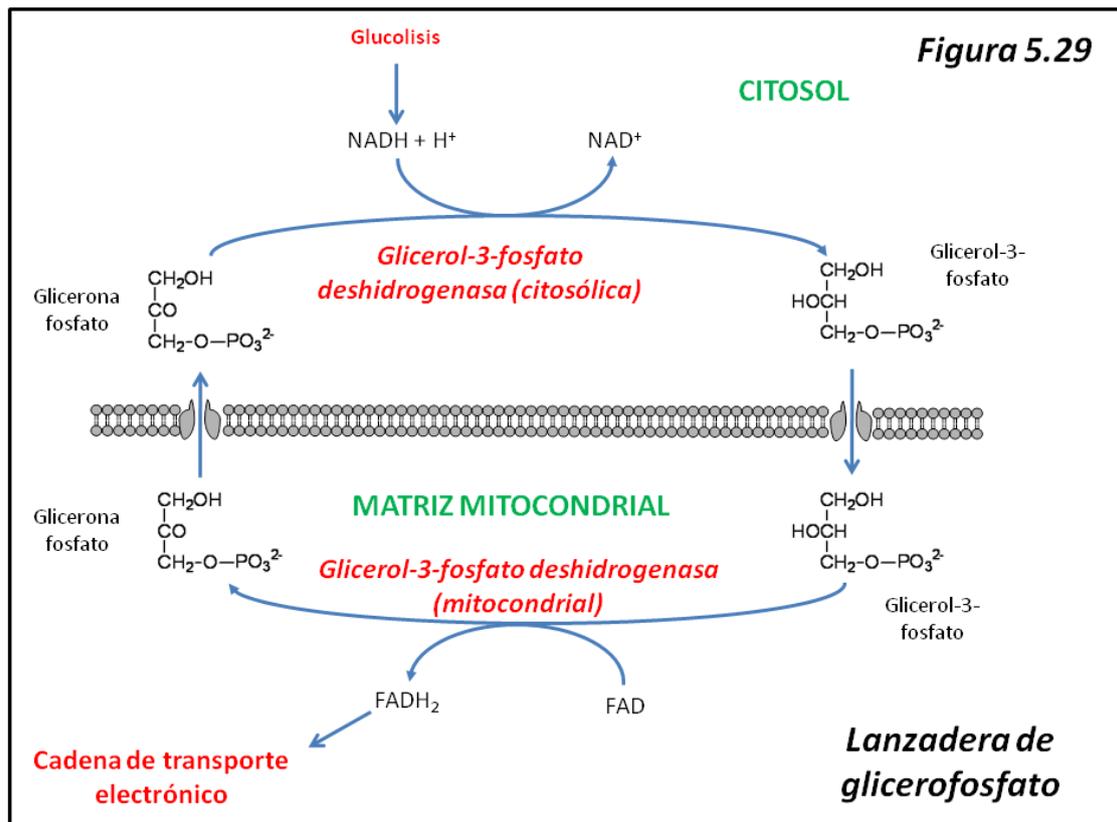


Una vez en el interior de la mitocondria, la malato deshidrogenasa mitocondrial vuelve a oxidar el malato a oxalacetato con reducci3n del NAD^+ a NADH . Éste será oxidado por la cadena de transporte electr3nico, completándose así el transporte de equivalentes de reducci3n del citoplasma a la mitocondria.

El ciclo se completa mediante una reacci3n de transaminaci3n (ver cap. 7), catalizada por la aspartato aminotransferasa (EC 2.6.1.1), con glutamato, lo que da lugar a α -cetoglutarato y aspartato. Éste atraviesa hacia el citoplasma la membrana mitocondrial, en la que la versi3n citoplásmica de la misma aminotransferasa produce, al reaccionar aspartato con α -cetoglutarato, glutamato y oxalacetato (con lo que se cierra el ciclo). Por tanto, vemos que la lanzadera malato-aspartato introduce en la mitocondria un equivalente de NADH a expensas de una salida hacia el citoplasma de grupos amino en forma de glutamato.

5.6.2 Lanzadera glicerofosfato

Un mecanismo muy parecido, aunque algo más simple, puede llevarse a cabo mediante la enzima glicerol-3-fosfato deshidrogenasa (EC 1.1.1.8) (figura 5.29)



Por la acción de esta enzima, la glicerona-fosfato citoplásmica es reducida a glicerol-3-fosfato a expensas de NADH que se oxida a NAD⁺, regenerándose el contenido citoplásmico de este último.

El glicerol-3-fosfato producido puede atravesar la membrana mitocondrial. En el interior de la misma, es oxidado a glicerona-fosfato por acción de la glicerol-3-fosfato deshidrogenasa mitocondrial (EC 1.1.5.3). La glicerona-fosfato vuelve al citoplasma y queda cerrado el ciclo.

Ahora bien, la enzima mitocondrial está ligada al complejo respiratorio II y al oxidar glicerol fosfato se produce FADH₂. Por lo tanto, no se va a producir la misma cantidad de ATP a través de fosforilación oxidativa que en el caso de utilizarse la lanzadera anterior.

5.6.3 Balance energético de la degradación aeróbica de glucosa

Al llegar a este punto estamos en condiciones de determinar la energía liberada en la degradación aeróbica de glucosa. Como en los casos anteriores, lo haremos en términos de ATP producido.

(a) Mediante lanzadera malato-aspartato

Degradación glucolítica	2 ATP
2 Piruvato	25 ATP
2 Malato deshidrogenasa (NADH)	5 ATP
Total	32 ATP

(b) Mediante lanzadera glicerol fosfato

Degradación glucolítica	2 ATP
2 Piruvato	25 ATP
2 Glicerol fosfato deshidrogenasa (FADH ₂)	3 ATP
Total	30 ATP

5.7 Reacciones anapleróticas

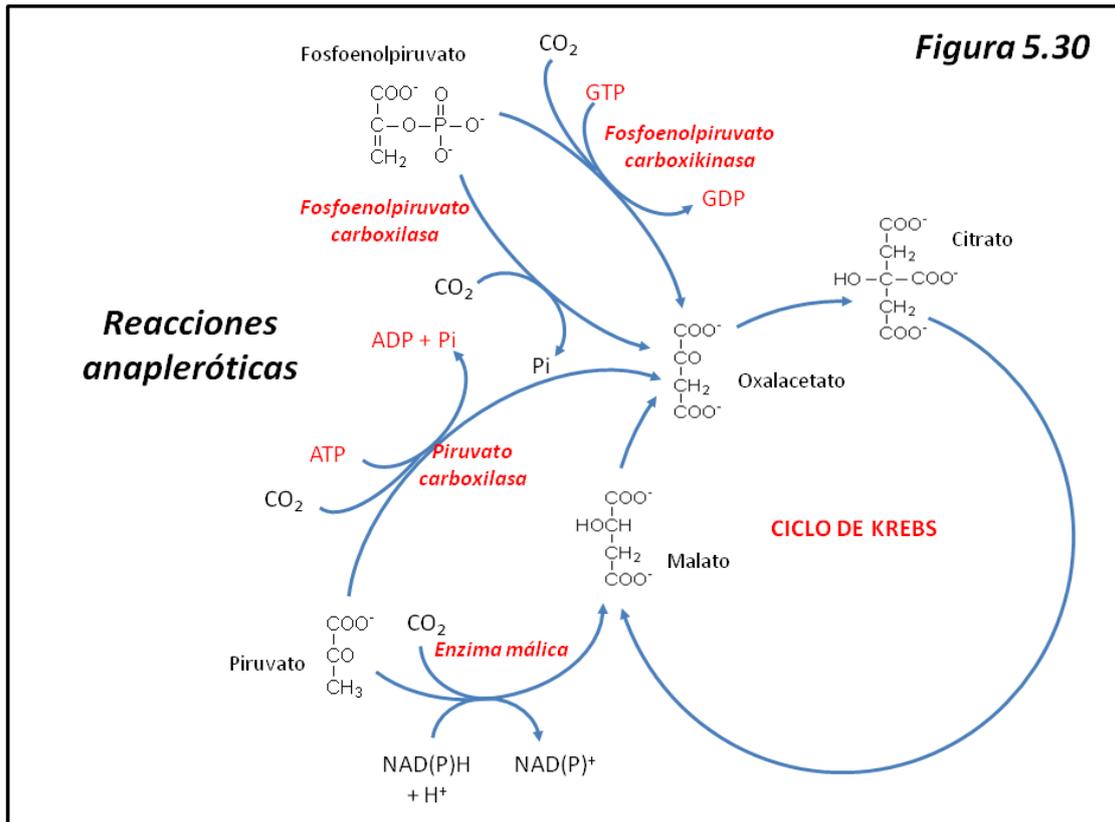
5.7.1 Concepto

Una idea que nunca hemos de perder de vista es que el ciclo de Krebs del ácido cítrico no solamente constituye una vía final común para la degradación aeróbica de sustratos, sino que también es el punto de partida para la biosíntesis de lípidos, de aminoácidos y de carbohidratos (vía neoglucogénesis, cap. 4). Si la célula está sintetizando activamente proteínas se necesita un suministro continuo de aminoácidos, muchos de los cuales tienen su origen en intermediarios del ciclo de Krebs. Igualmente, la síntesis de ácidos grasos tiene lugar a partir de citrato.

En esas condiciones, la concentración de intermediarios del ciclo puede decaer bastante; y dado que la velocidad de consumo de oxígeno (y por tanto, producción de energía) guarda una relación lineal con dicha concentración, el suministro de ATP puede verse comprometido. Para solucionar este déficit están las **reacciones anapleróticas** (del gr. reacciones de “relleno”). Por lo general, se trata de la formación de intermediarios del ciclo de Krebs a partir de intermediarios glucolíticos sin pasar por el proceso de descarboxilación oxidativa.

5.7.2 Principales reacciones anapleróticas

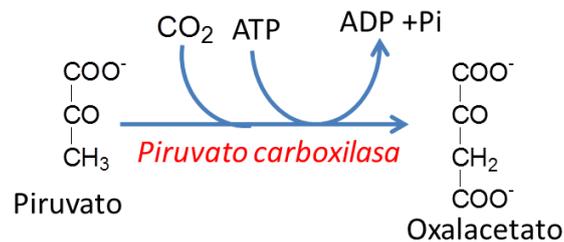
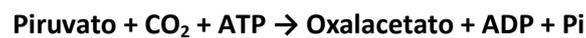
La **figura 5.30** nos muestra esquemáticamente las principales reacciones anapleróticas.



Son las siguientes:

1. Piruvato carboxilasa (EC 6.4.1.1)

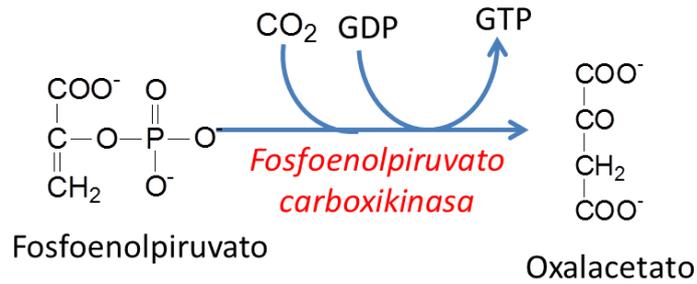
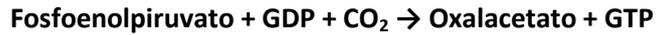
Hemos visto la acción de esta enzima en el contexto de la neoglucogénesis. Esta enzima, dependiente de biotina, cataliza la formación de oxalacetato a partir de la carboxilación de piruvato:



De esta manera, a partir de un intermediario glucolítico se forma un intermediario del ciclo de Krebs sin pasar por su descarboxilación oxidativa. Si no fuera así, piruvato daría lugar a acetil-CoA, que aunque entre en el ciclo no añade materia al mismo, dado que en una vuelta se pierden los mismos carbonos (2) que entraron.

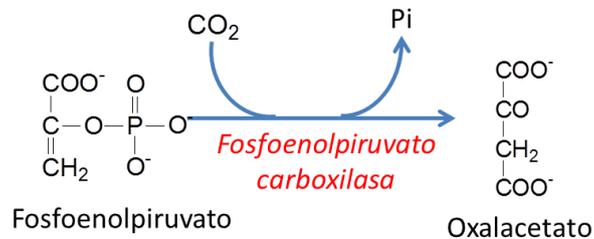
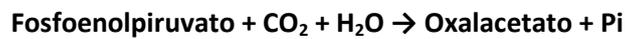
2. Fosfoenolpiruvato carboxikinasa (PEPCK, EC 4.1.1.32)

Se trata también de una enzima neoglucogénica que a partir de un intermediario glucolítico (fosfoenolpiruvato) y funcionando en sentido inverso, produce oxalacetato:



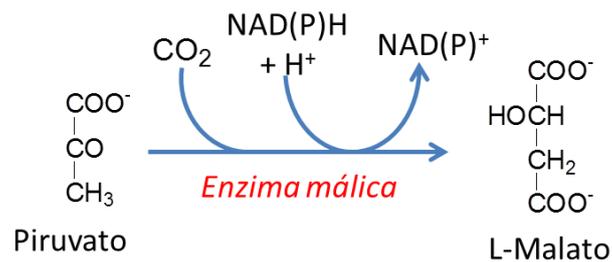
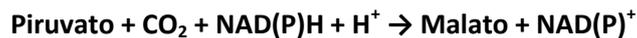
3. Fosfoenolpiruvato carboxilasa (EC 4.1.1.31)

Es una reacción parecida a la anterior:



4. Enzima málica (EC 1.1.1.39)

En esta reacción, el piruvato es carboxilado y reducido a malato, y utiliza indistintamente NADH y NADPH:



Funcionando en sentido inverso al mostrado, la reacción de la enzima málica es una fuente de NADPH (al igual que la vía pentosa-fosfato que estudiamos en el capítulo 4).

5.8 Stress oxidativo

5.8.1 Introducción

De acuerdo con todos los escenarios postulados hoy día para el origen de la vida, ésta surgió hace aproximadamente 3600 millones de años en condiciones estrictamente anaeróbicas. No obstante, muy pronto surgieron organismos capaces de utilizar la energía solar para poder sintetizar compuestos como el ATP y el NADPH mediante el proceso que hoy conocemos como **fotosíntesis**. Este proceso, entre otras cosas, es capaz de descomponer el agua utilizando su hidrógeno como poder reductor y liberando hacia la atmósfera oxígeno molecular O_2 (como producto de desecho). Por tanto, desde casi los mismos orígenes de la vida estos organismos fotosintéticos, concretamente las cianobacterias, han estado liberando oxígeno hacia la atmósfera. El oxígeno es un elemento muy reactivo y en principio todo el oxígeno liberado iba quedando fijado en forma de óxidos diversos en la corteza terrestre. Ahora bien, llegó un momento en que ésta se saturó y el oxígeno comenzó a ser un componente de la atmósfera terrestre. Hay evidencia geológica sobre la existencia de oxígeno libre hace 2900 millones de años.

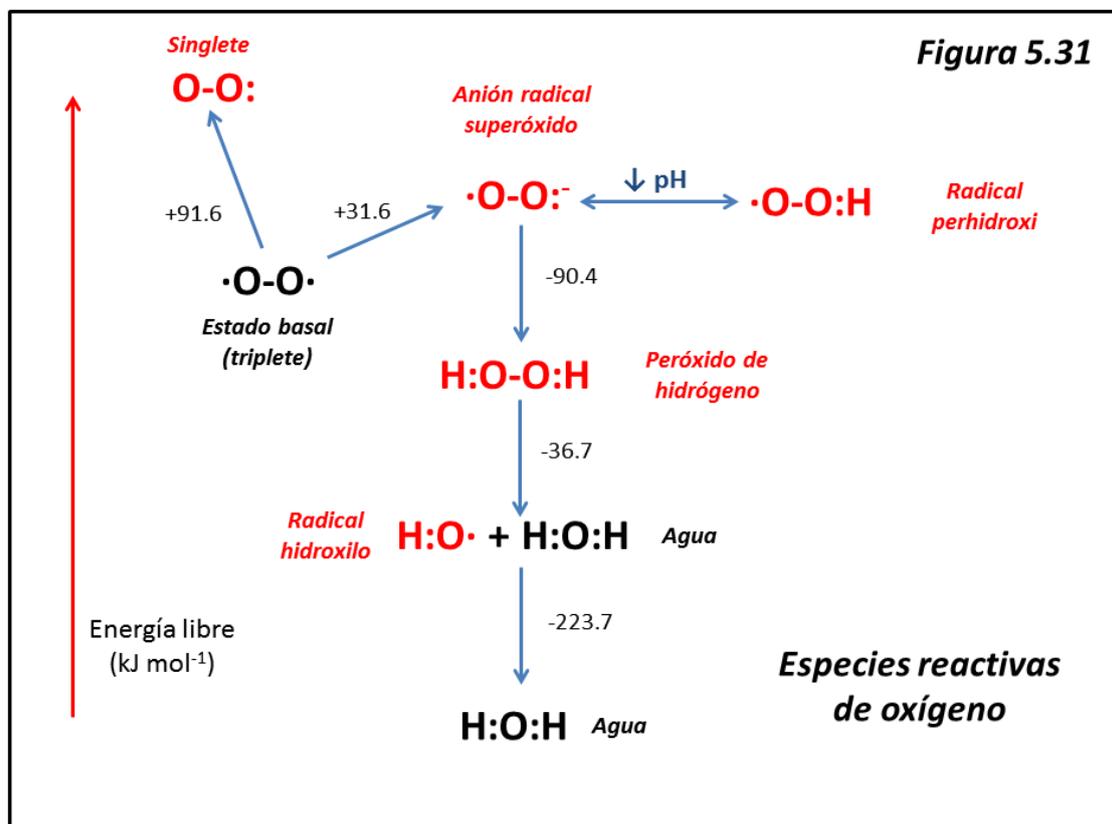
Al propio tiempo, los organismos vivientes desarrollaron sistemas de obtención de energía mediante oxidaciones (el metabolismo aeróbico que hemos visto en este capítulo) que se revelaron mucho más productivos que los procesos anaeróbicos, y por tanto se generalizaron en la biosfera. Pero la reactividad del oxígeno es muy alta y puede fácilmente dañar las estructuras celulares; en consecuencia, y en paralelo al empleo del metabolismo aeróbico, los organismos han tenido que desarrollar sistemas de defensa contra la toxicidad del oxígeno.

Con el nombre de **stress oxidativo** conocemos el conjunto de reacciones mediadas por radicales y especies oxigenadas sobre las estructuras celulares y los mecanismos que las neutralizan. Hoy día se piensa que el stress oxidativo es responsable de procesos como el envejecimiento, el daño al DNA, el enranciamiento de lípidos, el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas (Alzheimer, Parkinson, Lou Gehrig, etc.), la diabetes tipo I (coexistiendo con mecanismos autoinmunes en este caso) y II, y muchas otras reacciones deletéreas para el organismo, que pueden iniciar la **apoptosis** y en casos intensos la **necrosis** de las células. Contra esas consecuencias indeseables del empleo del oxígeno en el metabolismo celular, existen sistemas enzimáticos encargados de neutralizarlo; y por otra parte, el propio stress oxidativo es empleado por el organismo normal en la destrucción inmune de células extrañas y en algunos aspectos de la señalización intra- e intercelular. En los apartados que siguen veremos sucintamente alguno de estos aspectos.

5.8.2 Especies reactivas del oxígeno

La **figura 5.31** muestra las diferentes especies reactivas del oxígeno. En su estado basal o *triplete* (tal como aparece en el oxígeno molecular o dioxígeno O_2) hay dos electrones desapareados (es decir, se trata de un *birradical*); pero al tener ambos spines paralelos, es una especie con escasa reactividad, y no reaccionará con moléculas orgánicas a no ser que sea “activado”. La activación puede tener lugar de dos maneras: (1) Si la molécula absorbe suficiente energía para invertir el spin de uno de los dos electrones, el oxígeno pasa al estado *singlete*, con los dos electrones con spines opuestos, y entonces podrá participar en reacciones que impliquen dos electrones (reducción divalente). Como los pares electrónicos son frecuentes en las biomoléculas, esta especie es mucho más reactiva que el estado triplete. (2) el segundo mecanismo de activación es la reducción escalonada monovalente para formar de

manera sucesiva (a) **Anión radical superóxido** ($\cdot\text{O}_2^-$), que a pH bajo puede dar lugar al **radical perhidroxi** ($\cdot\text{OOH}$); (b) **Peróxido de hidrógeno** (H_2O_2); (c) **Radical hidroxilo** ($\text{HO}\cdot$); y finalmente (d) **agua** H_2O (Figura 5.31). Téngase en cuenta que los radicales libres son aquellas especies con un electrón desapareado: superóxido, perhidroxi y radical hidroxilo. Existe la costumbre de llamar incorrectamente a todas ellas radicales libres; por eso hoy preferimos llamarlas ERO (Especies Reactivas de Oxígeno, en inglés ROS, *Reactive Oxygen Species*).



El anión radical superóxido ($\cdot\text{O}_2^-$) es relativamente poco reactivo. Normalmente es eliminado por la enzima superóxido dismutasa (SOD, ver más adelante).

La reducción univalente de superóxido produce peróxido de hidrógeno H_2O_2 . Muchas enzimas (peroxidasas, catalasa) utilizan peróxido de hidrógeno como aceptor electrónico, y es un producto en reacciones oxidásicas catalizadas por flavoenzimas. Tiene la particularidad de difundir libremente a través de las membranas debido a su liposolubilidad. Su alta reactividad se debe a que en presencia de metales forma radical hidroxilo $\text{HO}\cdot$ que es el agente oxidante más poderoso que se conoce y reacciona con todo tipo de moléculas orgánicas. Esta reacción se conoce como reacción de **Fenton**:



En presencia de agentes reductores, el ion Fe^{3+} producido en esta reacción vuelve a dar ion Fe^{2+} , con lo cual esta reacción se autoalimenta y puede llegar a ser muy destructiva. En la misma pueden participar iones metálicos distintos del hierro. El radical hidroxilo $\text{HO}\cdot$ es extremadamente reactivo y puede atacar virtualmente a todas las biomoléculas. Es el radical libre más peligroso en el stress oxidativo.

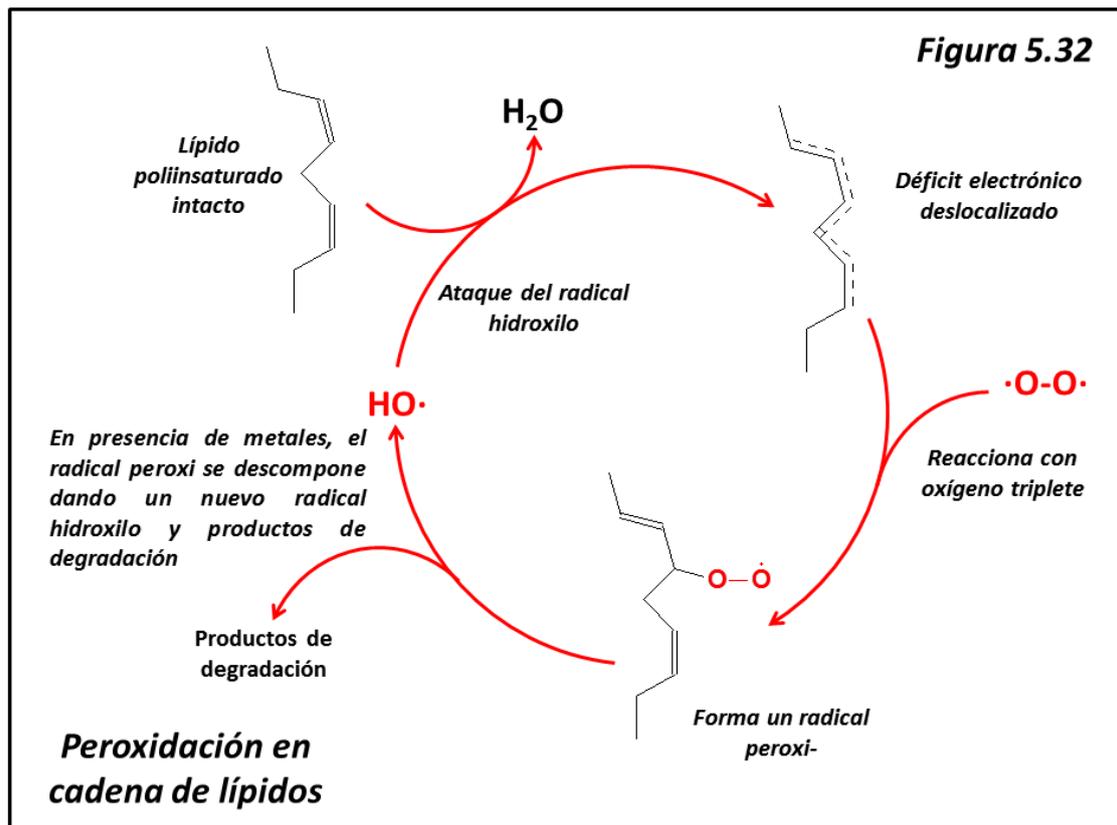
Además de estas especies que podemos considerar “primarias” existen otras producidas secundariamente: Los radicales alcoxi (R-O·) y peroxi (R-OO·) que se producen al atacar las especies primarias a radicales lipídicos (dobles enlaces), ácido hipocloroso (HClO) y anión peroxinitrito (ONOO⁻). La protonación de este último da lugar a ácido peroxinitroso, el cual se descompone dando radical hidroxilo HO· y dióxido de nitrógeno NO₂. Tanto el ácido hipocloroso como el peroxinitrito son liposolubles y muy reactivos.

5.8.3 Efectos biológicos de las ERO

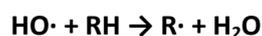
La reactividad de las ERO (muchas veces a velocidades limitadas por difusión, es decir, las más rápidas posibles) junto con la complejidad del medio intracelular, hacen bastante difícil la sistematización de las reacciones del stress oxidativo.

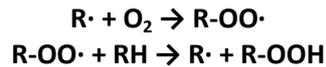
5.8.3.1 Efectos sobre lípidos

El efecto sobre lípidos insaturados o poliinsaturados es quizá la consecuencia mejor estudiada hasta la fecha gracias al estudio del proceso de *enranciamiento* (figura 5.32):

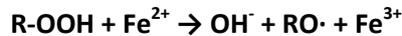


La reacción iniciadora consiste en la sustracción de un átomo de hidrógeno del grupo metilvinil del ácido insaturado. Esta reacción se propaga por la reacción de la estructura resultante con oxígeno triplete (que es un birradical) formando un radical peróxido que a su vez sustrae un átomo de hidrógeno en otra molécula lipídica semejante, dando lugar a una reacción en cadena (R representa un radical lipídico):



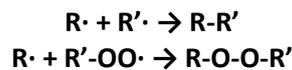


Esta reacción puede incluso amplificarse dado que el hidroperóxido R-OOH puede reaccionar con metales dando lugar a un radical alcoxi RO· que tiene los mismo efectos que el radical hidroxilo:



Entre los productos de degradación encontramos aldehidos como el *malonodialdehido* e hidrocarburos como etano y etileno.

Este ciclo termina cuando los radicales libres hidrocarbonados o peróxidos reaccionan entre sí para formar productos conjugados, como los que muestran las siguientes reacciones:



5.8.3.2 Efectos sobre proteínas

El ataque oxidativo a las proteínas resulta en modificaciones puntuales de aminoácidos, fragmentación de la cadena peptídica, entrecruzamientos (*crosslinks*) covalentes, alteración de la carga eléctrica e incremento de la susceptibilidad a proteólisis; todo ello con los consiguientes efectos sobre todos los niveles estructurales de la proteína.

Los efectos de las ERO sobre aminoácidos están bien documentados en el caso de los tioaminoácidos: así, el grupo tiol de la cisteína es fácilmente oxidado a disulfuro; la metionina puede reaccionar para dar lugar a un grupo sulfóxido; en ambos casos el proceso puede ser revertido por agentes reductores.

Sin embargo, en otros casos, la acción de las ERO es irreversible; por ejemplo, los centros Fe-S de las ferredoxinas pueden oxidarse destruyendo su función transportadora de electrones. Otros aminoácidos que pueden ser atacados son triptófano, histidina, lisina, prolina, arginina y serina. Igualmente la presencia de iones metálicos en la proteína puede dar lugar a reacciones en cadena como las vistas para los lípidos insaturados.

Por otra parte, la modificación oxidativa de aminoácidos puede ser una señal para iniciar el proceso de proteólisis.

5.8.3.3 Efectos sobre el DNA

Las ERO producen numerosos daños a la estructura del DNA, causando deleciones, mutaciones y reagrupamientos del material genético. Tanto las bases como las pentosas son susceptibles de ataques por estas especies reactivas.

La causa principal de roturas monohebra parece ser que es el ataque por el radical hidroxilo HO· sobre la pentosa. Otra consecuencia es el entrecruzamiento covalente de DNA a proteína, con el consiguiente daño a la funcionalidad del DNA (transcripción, replicación, etc.).

Sin lugar a dudas, el daño al DNA es el que mayores consecuencias puede tener para la célula a medio y largo plazo; por esa razón no es extraño que existan numerosos sistemas de reparación del DNA.

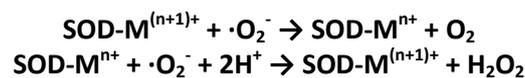
5.8.4 Mecanismos de defensa contra el stress oxidativo

Las consecuencias indeseables del stress oxidativo resultan de un imbalance entre la producción de los mismos y los mecanismos que vamos a estudiar a continuación. A lo largo de la evolución bioquímica, estos mecanismos de defensa han surgido paralelos a la utilización del oxígeno por parte de los seres vivos. Podemos clasificarlos en dos categorías: (a) sistemas enzimáticos y (b) antioxidantes naturales. No obstante, ambas categorías aparecen solapadas en múltiples casos.

Entre los primeros estudiaremos las siguientes enzimas: superóxido dismutasa, catalasa, y glutatión peroxidasa; como antioxidantes naturales mencionaremos al ácido ascórbico, el glutatión y los tocoferoles.

5.8.4.1 Superóxido dismutasa (SOD, EC 1.15.1.1)

Esta enzima cataliza la siguiente reacción (en dos fases):



Donde M es un ion metálico: Cu (+1), Fe (+2), Mn (+2), Ni (+2). Se trata de una reacción de dismutación del anión radical superóxido. Es una reacción muy rápida, controlada por difusión. En ocasiones la segunda molécula de superóxido puede ser sustituida por otro radical, particularmente el óxido nítrico NO·, en cuyo caso se produce el anión peroxinitrito, extremadamente reactivo.

Se trata de una metaloenzima. En la mayor parte de los eucariotas existe una **Cu-Zn SOD**, cuya estructura y función son bien conocidas. Es un homodímero con un P.M. de alrededor de 32000. En procariotas (y mitocondrias) la enzima contiene Mn o Fe. Existe también en procariotas una Ni-SOD. En el organismo humano se distinguen tres isozimas SOD1, SOD2 y SOD3. SOD1 (Cu-Zn) aparece en el citoplasma; SOD2 (Mn) en la mitocondria; y SOD3 (Cu-Zn) es extracelular.

El fundamental papel antioxidante de la SOD se pone de manifiesto en ratones *knockout* a estas enzimas, que mueren a los pocos días del nacimiento víctimas de un stress oxidativo generalizado. En la especie humana, la carencia o defecto en SOD1 parece ser una de las causas de la ELA (*Esclerosis Lateral Amiotrófica*, una enfermedad de las motoneuronas)

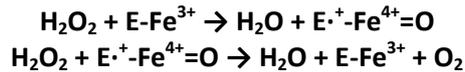
5.8.4.2 Catalasa (EC 1.11.1.6)

Es una enzima muy ampliamente distribuida en todos los seres vivos que cataliza la descomposición de peróxido de hidrógeno a oxígeno molecular y agua:



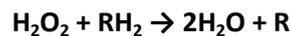
en la que el peróxido de hidrógeno funciona a la vez como dador y aceptor electrónico.

Es una hemoproteína tetramérica, con un grupo prostético ferroporfirínico en cada subunidad. Se cree que su mecanismo de reacción es el siguiente:



donde E es la enzima cuyo Fe oscila entre los estados férrico (Fe^{3+}) y un intermedio $\text{E}^{\cdot+}\text{-Fe}^{4+}=\text{O}$ entre los estados de oxidación ferrilo (Fe^{4+}) y perferrilo (Fe^{5+}) quedando el grupo hemo como un catión radical ($\text{E}^{\cdot+}$). La reacción es una de las más veloces que se conocen, siendo la catalasa el prototipo de *enzimas controladas por difusión*.

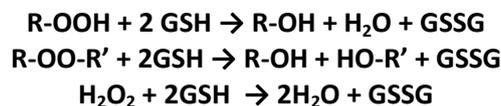
Además de la reacción citada, la catalasa es capaz de catalizar la oxidación de diversos compuestos a expensas de peróxido de hidrógeno según la reacción



La catalasa actúa fundamentalmente en la eliminación de peróxido de hidrógeno, que es producido en muchas reacciones oxidásicas y en la superóxido dismutasa. Hemos visto que se trata de una especie oxigenada liposoluble capaz de producir radical hidroxilo mediante la reacción de Fenton, y de ahí su peligrosidad en cuanto al stress oxidativo. En la célula se encuentra normalmente localizada en los peroxisomas, en particular en el hígado y en los leucocitos polimorfonucleares.

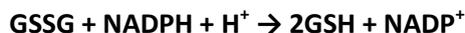
5.8.4.3 Glutación peroxidasa (EC 1.11.1.9)

Es una familia de enzimas con actividad peroxidásica y que constituyen el principal contingente de defensa contra el stress oxidativo. Utiliza como reductor el glutatión reducido (GSH, ver más adelante) atacando tanto a hidroperóxidos y peróxidos lipídicos como al peróxido de hidrógeno libre, según las reacciones



Donde GSSG es glutatión oxidado (ver más adelante).

El glutatión oxidado puede ser nuevamente reducido por la enzima **glutatión reductasa**:

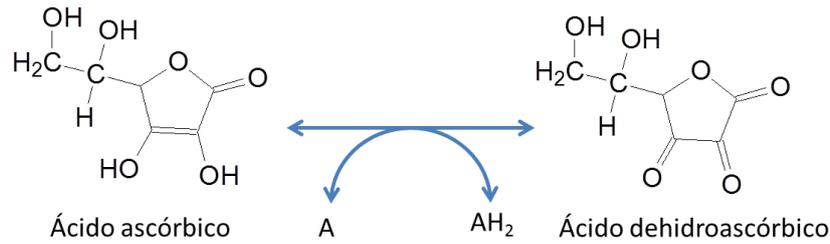


Enzima que utiliza NADPH (procedente de la vía pentosa-fosfato, y de ahí la importancia de esta vía en los mecanismos de defensa contra el stress oxidativo).

La glutatión peroxidasa presenta ocho isoenzimas de especificidad tisular (plasmática, gastrointestinal, olfatoria, etc.). Estas isoenzimas contienen *selenio* en forma de *selenocisteína* (es decir, una cisteína en la que el azufre está sustituido por selenio), el cual es fundamental en el mecanismo catalítico.

5.8.4.4 Ácido ascórbico

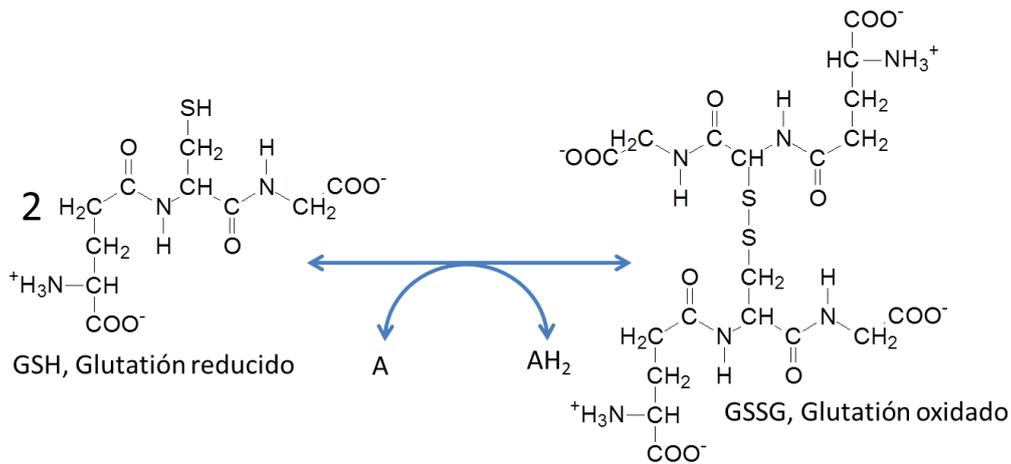
Conocido también como **vitamina C** (ver Enzimología, cap. 4), participa como correductor en reacciones hidroxilásicas (por ejemplo, en la modificación postraducciona del colágeno) a través de su oxidación reversible a ácido dehidroascórbico (dehidroascorbato):



El ácido ascórbico puede actuar como neutralizador de ERO's en reacciones enzimáticas y no enzimáticas; participa en la reducción de radicales tocoferilo (ver más adelante) y reacciona muy rápidamente con el radical hidroxilo HO·. El dehidroascorbato puede ser nuevamente reducido a ascorbato a expensas de una reductasa dependiente de glutatión.

5.8.4.5 Glutatión

El glutatión es el tripéptido **γ-Glutamil-cisteinil-glicina** (ver Enzimología, cap. 4) que opera como transportador redox mediante la oxidación del tiol de la cisteína a un disulfuro formado con otra molécula de glutatión. Por ello el glutatión reducido se representa como GSH y el glutatión oxidado como GSSG.



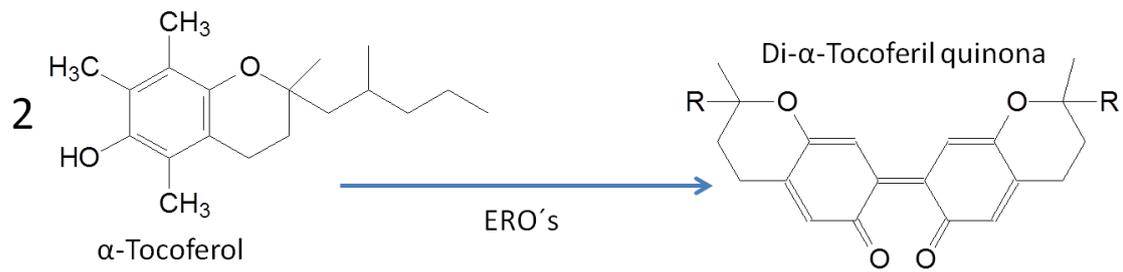
El GSH es la principal reserva de poder reductor en las células, y de ahí su abundancia en todas las células y tejidos. Puede reaccionar con oxígeno singlete, radical superóxido, radical hidroxilo y acilperóxidos producidos en los lípidos de membrana. Según hemos visto más arriba, elimina peróxidos e hidroperóxidos mediante la enzima glutatión peroxidasa.

El GSSG, como hemos visto, puede ser reducido nuevamente a GSH mediante la glutatión reductasa, enzima dependiente de NADPH (cuyo suministro, recordemos, depende de la actividad de la vía pentosa-fosfato).

5.8.4.6 Tocoferoles

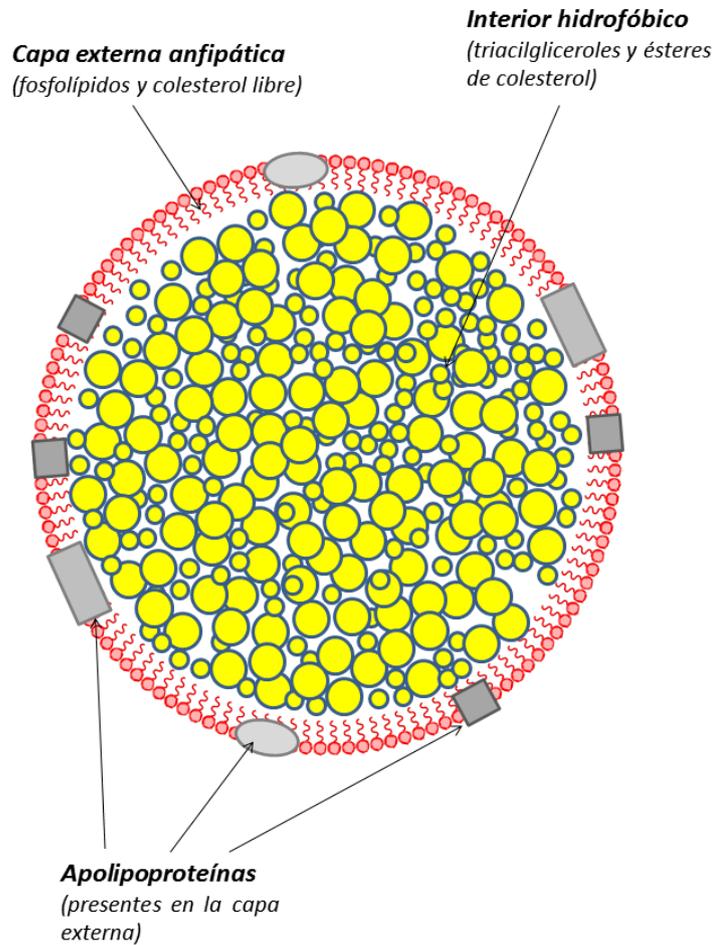
Se trata de una familia de compuestos poliprenoides (ver Biomoléculas, cap. 6) conocidos como **vitamina E**. El más activo de todos ellos es el α-tocoferol. Sus propiedades antioxidantes

derivan de la capacidad de reaccionar con oxígeno singlete y con peróxidos, dando lugar a la di- α -tocoferil quinona.



El carácter liposoluble del tocoferol hace que habitualmente aparezca como elemento protector de los lípidos de membrana.

CAPÍTULO 6: Metabolismo de lípidos



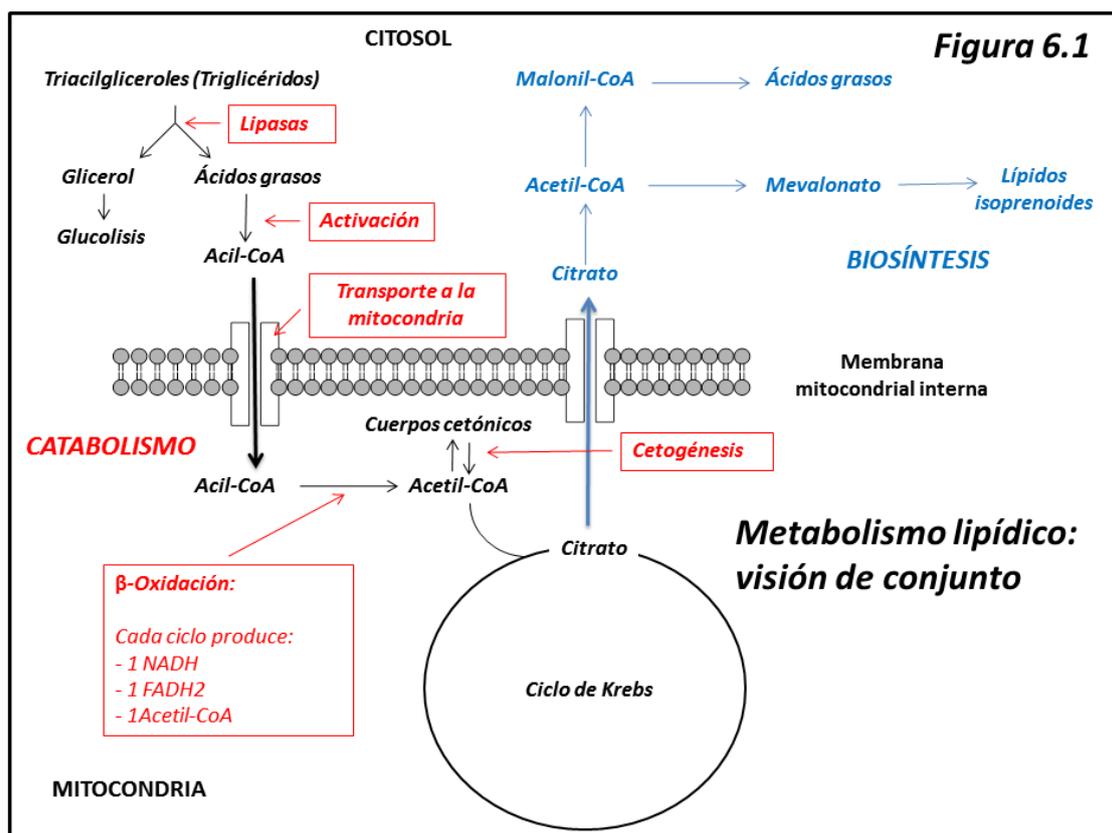
6.1 Introducción y etapas iniciales

6.1.1 Generalidades

Los lípidos cumplen en el organismo funciones muy definidas. Son, en principio, biomoléculas cuya característica esencial es la de ser insolubles en agua (en todo o en parte). Por esta razón los vamos a encontrar como **elementos estructurales básicos** en las interfases entre compartimentos acuosos (formando las membranas, por ejemplo); por otra parte, son una **reserva energética de alto valor calórico** (el más alto de todas las biomoléculas); y asimismo, muchas **señales de comunicación inter- o intracelular** son de naturaleza lipídica.

Aunque en principio las cadenas o ciclos hidrocarbonados que forman la estructura de los lípidos son poco reactivas desde el punto de vista químico, veremos que el metabolismo lipídico es, como poco, tan intenso como el hidrocarbonado; y que sus regulaciones celulares y sistémicas son tan estrictas como las de éste.

La **figura 6.1** nos muestra una visión de conjunto del metabolismo lipídico.



En lo que respecta a su catabolismo, estudiaremos en primer lugar la degradación (Fase I) de los lípidos, estudio centrado ante todo en las diferentes **lipasas** que degradan triacilgliceroles (TAG). El glicerol resultante será metabolizado a través de su entrada en la vía glucolítica. Los ácidos grasos, por su parte, van a experimentar un proceso de **activación** consistente en su unión a **coenzima A** para formar derivados acil-CoA (proceso que hasta cierto punto puede considerarse análogo a la fosforilación de azúcares en el metabolismo hidrocarbonado). Como el resto del catabolismo lipídico tiene lugar en la mitocondria, estudiaremos el **transporte a la mitocondria**, donde se hace necesario el cofactor **carnitina**. Una vez dentro, el acil-CoA va a ser degradado escalonadamente mediante el proceso de **β-oxidación**, que produce acetil-CoA y coenzimas reducidas. Éstas serán reoxidadas por la cadena de transporte electrónico que hemos visto en el capítulo 5. Acetil-CoA puede seguir dos caminos: (a) Ser **degradado totalmente** a CO₂ y H₂O mediante su entrada al ciclo de Krebs o (b) ante una acumulación excesiva del mismo, producir **cuerpos cetónicos** mediante el proceso de **cetogénesis**. Hay asimismo otras formas minoritarias de degradación de ácidos grasos: **α-oxidación** y **ω-oxidación**.

En cuanto al anabolismo lipídico, podemos considerar que tiene su origen en el intermediario **citrato** intramitocondrial. Transportado hacia el citoplasma, dará lugar a **acetil-CoA**, el cual puede seguir dos vías: (a) convertido en **malonil-CoA** será el sustrato básico de la **síntesis de ácidos grasos**; (b) convertido en **mevalonato** será el punto de partida de la **síntesis de lípidos isoprenoides** como el **colesterol** y todos sus derivados. A partir de acil-CoA y diversos metabolitos intermediarios estudiaremos la **síntesis de lípidos complejos** como triacilgliceroles, fosfolípidos y glicolípidos.

Hay otro aspecto que habitualmente se estudia en el metabolismo lipídico. Al ser los lípidos, por lo general, insolubles en agua, su transporte a través de los medios acuosos de los organismos como el humano requiere unas estructuras específicas para su transporte, que son

las **lipoproteínas**. Estudiaremos algunos aspectos de su estructura y función en relación esencialmente con la especie humana.

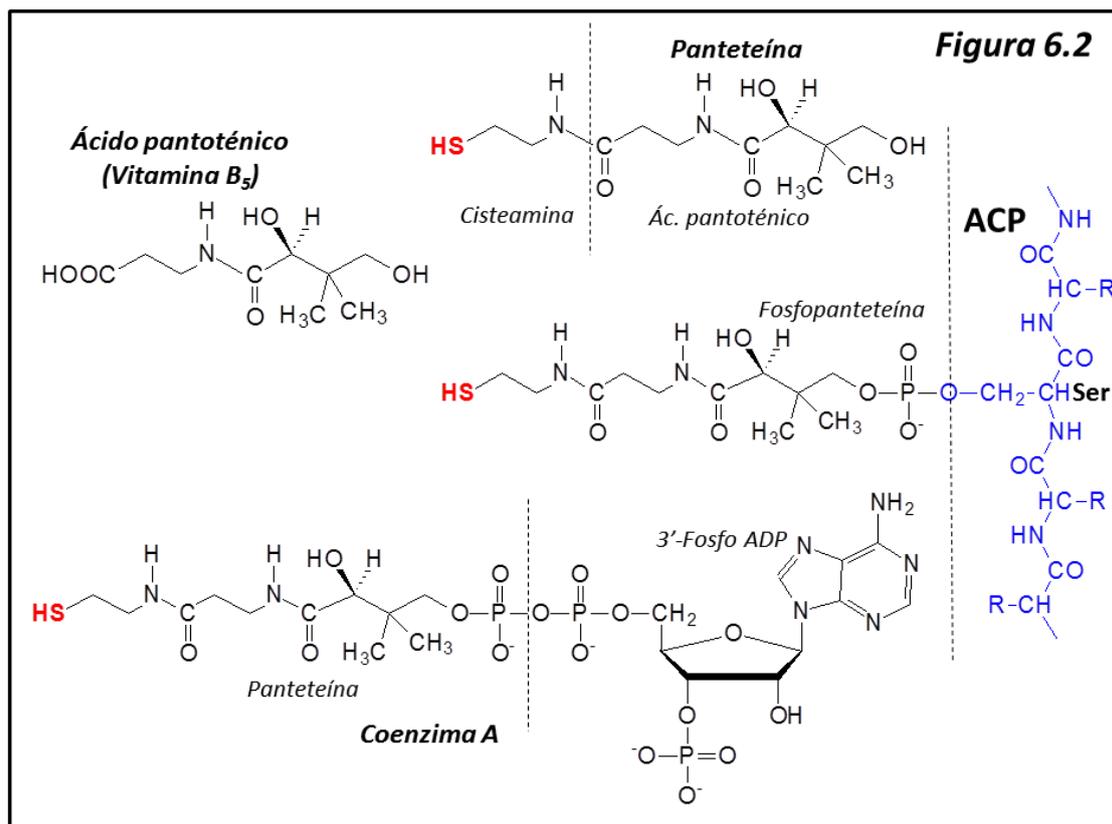
6.1.2 Panteteínas: Coenzima A y proteína transportadora de acilos (ingl. *ACP*)

De la misma manera que las formas metabólicamente activas de los carbohidratos son los ésteres fosfóricos, podemos considerar que las panteteínas son las moléculas activadoras de los ácidos grasos. Una de ellas, la **coenzima A**, participa indistintamente en procesos degradativos y biosintéticos de los mismos; otra, la **proteína transportadora de acilos** (en adelante, *ACP*, del ingl. *Acyl Carrier Protein*) forma derivados que son intermediarios en la biosíntesis de ácidos grasos.

La coenzima A es una molécula compleja de naturaleza nucleotídica cuya estructura se presenta en la **figura 6.2**. Se trata de una molécula de **ácido pantoténico** (vitamina B₅) unida a una **cisteamina** terminal. El conjunto de ácido pantoténico y cisteamina recibe el nombre de **panteteína**. La coenzima A queda formada por la unión de la panteteína al nucleótido **3'-fosfo-ADP**.

El grupo activo de la coenzima A es el **-SH** terminal, a través del que va a formar tioésteres de alta energía de hidrólisis con radicales acilo (**R-CO-**) dando lugar a **acil-CoA**, que es la forma activa metabólicamente de los ácidos grasos. Por ello, la coenzima A se suele representar abreviadamente como **CoA-SH**.

Una fosfopanteteína es asimismo el grupo prostético de la **proteína transportadora de acilos (ACP)**. Se trata de una proteína de tamaño pequeño que se une a radicales acilo a través del grupo **-SH** de la fosfopanteteína. A través del fosfato, ésta se une a un residuo de serina en la proteína. Los **Acil-ACP** son los derivados intermediarios de la biosíntesis de ácidos grasos mediada por el complejo ácido graso sintetasa (ver más adelante).

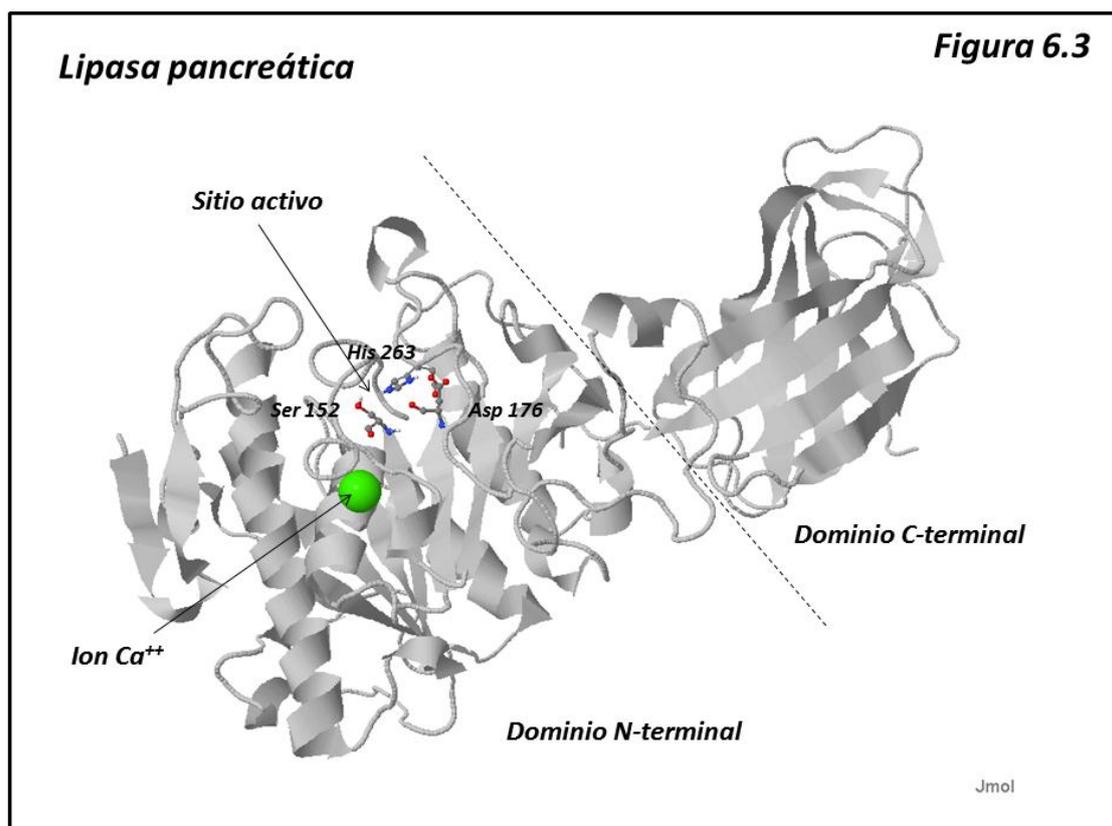


6.1.3 Degradación de triacilgliceroles: Lipasas

Las lipasas son las enzimas encargadas de la degradación de lípidos, a través de la hidrólisis del enlace éster establecido entre un ácido graso y un grupo alcoholico. Aunque esta definición pueda valer para toda clase de lípidos, en la presente discusión va a quedar restringida a las enzimas que degradan triacilgliceroles (TAG). Para otros sustratos lipídicos se reservan nombres más específicos: fosfolipasas, esfingomielinasas, colesterol esterasas, etc.

Las lipasas son enzimas esenciales en el metabolismo de lípidos. Participan en su absorción digestiva, en el transporte de los mismos en el medio plasmático y en la movilización de los lípidos almacenados en el tejido adiposo. Además hay participación de estas enzimas en procesos de señalización intra- e intercelular, así como en la reacción inflamatoria. Por lo general suelen tener especificidad por las distintas posiciones del ácido graso: sn-1, sn-2 y sn-3.

Todas ellas presentan una serie de similitudes estructurales que hacen pensar en un antecesor proteico común a todas ellas. En la [figura 6.3](#) se presenta la estructura de una lipasa pancreática de mamífero, en la que podemos ver dos dominios. Uno es el dominio α/β (N-terminal) característico de muchas hidrolasas (*hydrolase fold*), con una lámina β paralela en el centro, y otro (C-terminal) está constituido por dos láminas antiparalelas superpuestas, que está asimismo presente en una gran cantidad de lipasas.



La acción enzimática se lleva a cabo gracias a una tríada catalítica Ser, His, Asp (o Glu) de manera muy parecida a la de quimotripsina (ver Enzimología, capítulo 7), con un intermediario covalente acil-enzima.

Tres son las lipasas que nos interesan en el contexto de esta obra: las lipasas digestivas, las lipoprotein lipasas y las lipasas hormono-sensibles.

6.1.3.1 Lipasas digestivas

Los lípidos de la dieta son emulsificados gracias a la presencia de sales biliares segregadas por el hígado a través de la vesícula biliar. El principal contingente de estas lipasas está constituido por la **lipasa pancreática (EC 3.1.1.3)**, que hidroliza los ácidos grasos en las posiciones sn-1 y sn-3 para dar un monoacilglicerol y dos ácidos grasos. La presencia de otra proteína, la **colipasa**, parece ser necesaria para que la lipasa pancreática despliegue toda su actividad.

Los productos de degradación producidos en la luz intestinal son absorbidos por las células epiteliales de la mucosa digestiva, donde son reesterificados a triacilgliceroles que van a ser empaquetados en unas lipoproteínas específicas del proceso digestivo, los **quilomicrones**, mediante los cuales serán transportados a través de los medios acuosos linfático y sanguíneo.

Hay asimismo una **lipasa gástrica**, producida en la mucosa del estómago, que al parecer tiene su principal función en los recién nacidos.

6.1.3.2 Lipasas endoteliales: Lipoprotein lipasa (EC 3.1.1.34)

Esta lipasa está localizada en el endotelio vascular, y su función principal es degradar los triacilgliceroles presentes en los quilomicrones (que transportan los TAG absorbidos en la digestión) y en las **lipoproteínas VLDL** (lipoproteínas de muy baja densidad, que transportan los TAG producidos de forma endógena por el hígado, ver más adelante). De esta manera

permiten que los ácidos grasos libres puedan ser captados por células y tejidos, especialmente por el tejido adiposo, en el que vuelven a ser esterificados a triacilglicerol para su almacenamiento.

A medida que quilomicrones y VLDL van siendo atacados por la lipoprotein lipasa dan lugar a fragmentos conocidos como *restos de quilomicrones* o *restos de VLDL* que, a su vez, serán degradados por una lipasa similar a la lipoprotein lipasa presente en el hígado, la **lipasa hepática**.

La acción de la lipoprotein lipasa se coordina con otras enzimas, como la lecitina-colesterol acil transferasa (LCAT), en el metabolismo de las lipoproteínas, que estudiaremos más adelante.

6.1.3.3 Lipasa hormonosensible (EC 3.1.1.79)

Se trata de una lipasa intracelular que está presente básicamente en el tejido adiposo, aunque también aparece en otros tejidos. La característica más importante de esta lipasa es la de ser sensible a hormonas. Tiene la particularidad de ser capaz de hidrolizar muchos tipos de ésteres, como por ejemplo ésteres de colesterol, además de los triacilglicerol. Su especificidad radica en que hidroliza un éster del TAG, dando lugar a un diacilglicerol y un ácido graso.

La lipasa hormonosensible puede ser activada de dos maneras. Una (al parecer la más importante) consiste en que merced a la acción de la **perilipina A fosforilada** la lipasa se sitúa en la superficie de la gota líquida intracelular del adipocito, permitiendo su acción.

Otra forma de controlar la actividad de la lipasa hormonosensible es a través de una regulación covalente: existe una forma fosforilada activa y otra forma defosforilada inactiva. La fosforilación tiene lugar gracias a la acción de la **protein kinasa A**, que ya hemos visto en el metabolismo del glucógeno. En el adipocito existen receptores β -adrenérgicos que responden a las catecolaminas activando a la proteinkinasa A mediante un sistema de proteínas G y adenilato ciclasa (como la glucogenolisis). Otras influencias que activan la lipasa hormonosensible son el glucagon y la ACTH (hormona adrenocorticotropa). La insulina, por el contrario, ejerce un efecto inhibitorio, debido a la activación de protein fosfatasas.

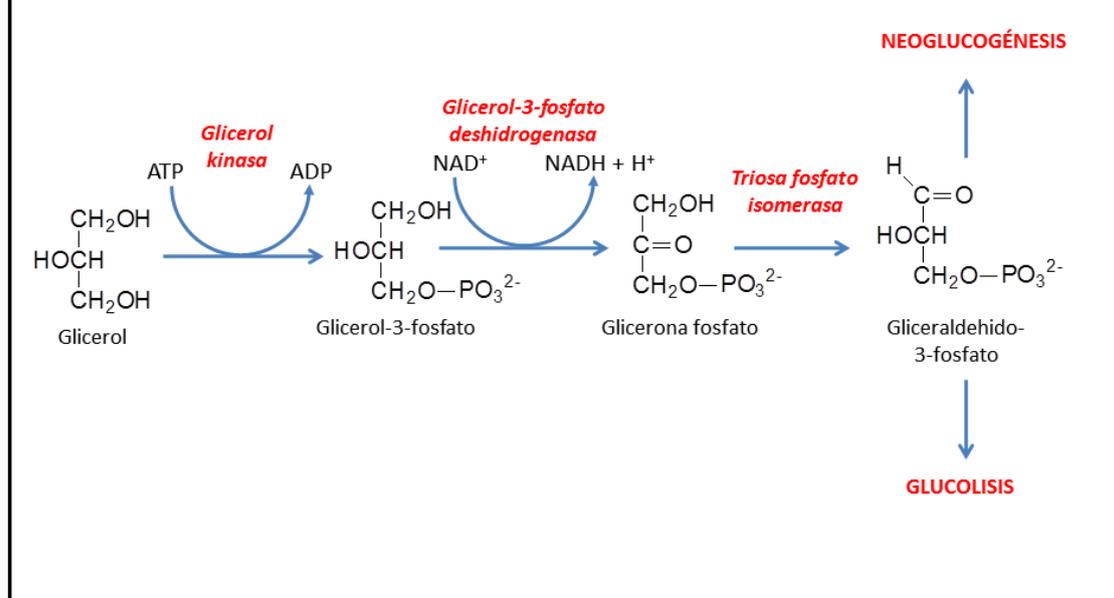
Los ácidos grasos liberados al medio plasmático por la lipasa hormonosensible circulan unidos a la **seroalbúmina**.

6.1.4 Destino del glicerol

El glicerol producido por la hidrólisis de los TAG es rápidamente metabolizado por todo tipo de células, pero en especial en el hígado, gracias a la acción sucesiva de (1) **glicerol kinasa** (EC 2.7.1.30), que produce glicerol-3-fosfato; (2) **glicerol fosfato dehidrogenasa** (EC 1.1.1.8) que da lugar a glicerona fosfato y (3) **triosa fosfato isomerasa** (EC 5.3.1.1), que lo convierte en gliceraldehido-3-fosfato. Este último puede ser degradado a través de la vía glucolítica o bien utilizado como sustrato neoglucogénico (**figura 6.4**)

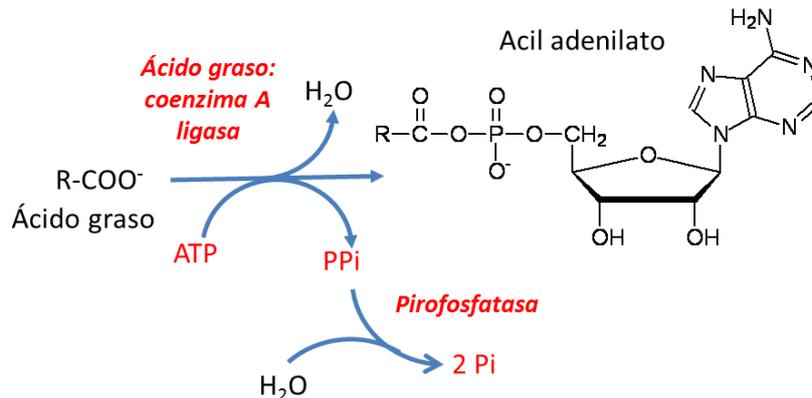
Figura 6.4

Metabolismo del glicerol

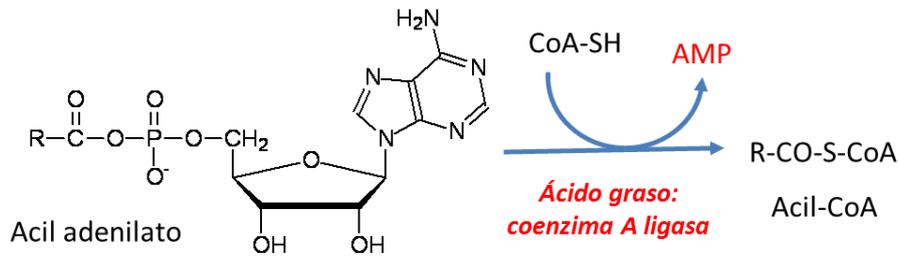


6.1.5 Activación de ácidos grasos

La forma activa de los ácidos grasos es un tioéster del mismo con el grupo -SH de la coenzima A. La activación tiene lugar gracias a las enzimas **Ácido graso: coenzima A ligasa (EC 6.2.1.3)**, de las cuales existen diversas formas específicas para ácidos grasos de cadena corta, media y larga. La reacción se produce en dos pasos: en primer lugar el ácido graso reacciona con ATP formando un **acil-adenilato** y liberando pirofosfato inorgánico (PPi). El acil-adenilato posee un grupo fosfoanhídrido de alta energía de enlace; la reacción se ve favorecida porque el pirofosfato formado es rápidamente hidrolizado a ortofosfato por **pirofosfatasa** inorgánicas (EC 3.6.1.1):



En una segunda fase, el acil-adenilato transfiere el radical acil a la coenzima A:

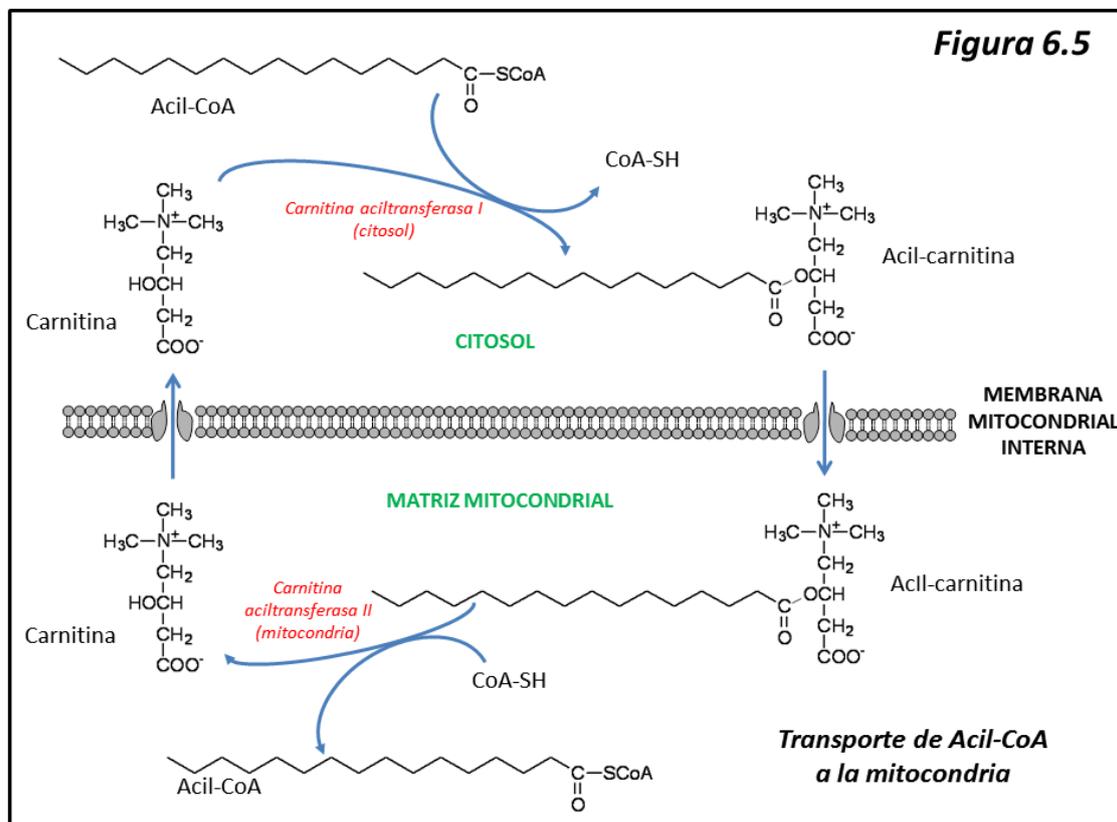


Esta reacción de activación tiene lugar para cualquier reacción metabólica que implique ácidos grasos; así, no solamente es necesaria para la degradación, sino también para las síntesis; en particular, la resíntesis que tiene lugar en las células de la mucosa intestinal tras la absorción requiere como substratos acil-CoA's.

6.1.6 Transporte a la mitocondria

En la mayor parte de los seres vivos (y en particular, en los mamíferos) la degradación de ácidos grasos es un proceso aeróbico, y como tal, tiene lugar en el interior de la mitocondria. Ahora bien, los acil-CoA producidos en la activación de los ácidos grasos no pueden atravesar la membrana mitocondrial interna.

El transporte se logra gracias a la acción del cofactor **carnitina**. En una primera reacción, catalizada por la **Acil-CoA: carnitina acil transferasa I, EC 2.3.1.21 (citoplásmica)**, se forma un acil-carnitina que puede atravesar la membrana; una vez ingresada la molécula en la mitocondria, la **Acil-CoA: carnitina acil transferasa II (mitocondrial)** intercambia el radical acilo desde la carnitina hasta una molécula de CoA-SH, dando lugar nuevamente a un acil-CoA (figura 6.5)

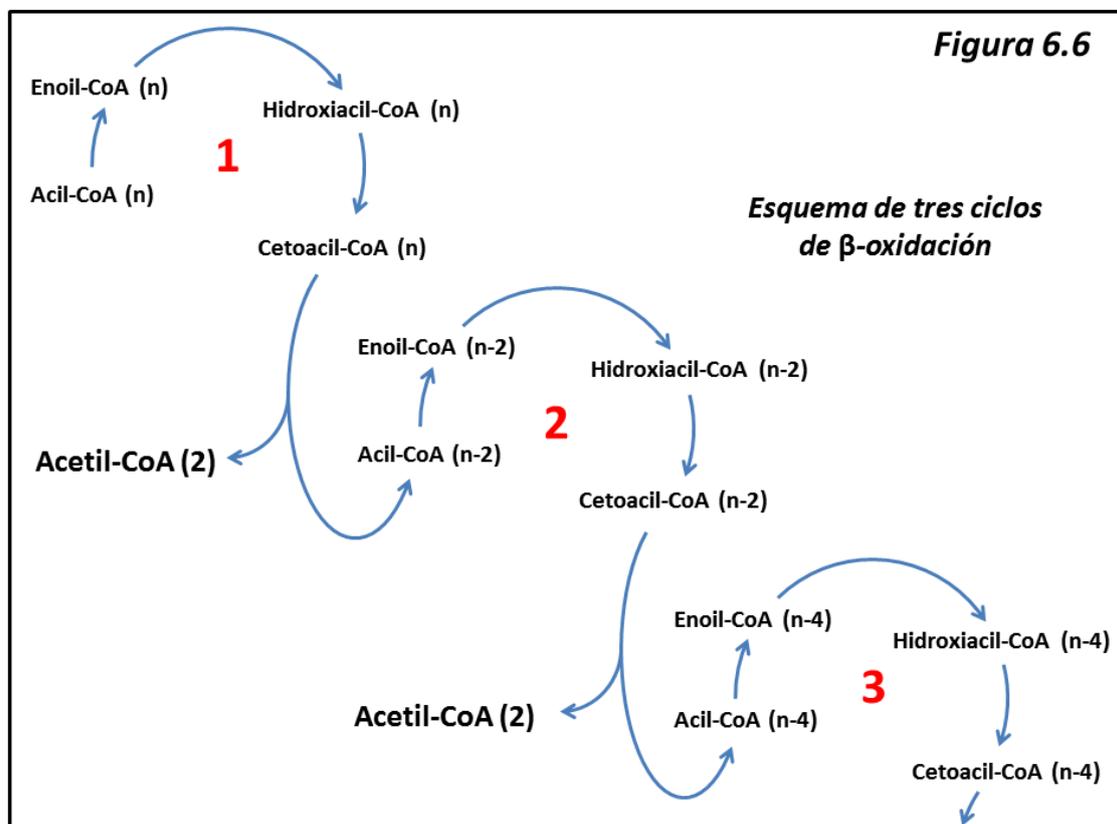


La carnitina (β -hidroxi γ -butirotetina) es un cofactor que puede normalmente ser sintetizado por el organismo humano. No obstante, ante altos niveles de ejercicio físico que requieren un suministro aumentado de la misma, la carnitina puede convertirse en factor limitante de la oxidación de ácidos grasos. Téngase en cuenta que la carnitina se utiliza y se renueva, por lo que hay una dependencia cíclica de la misma y la velocidad de transporte mantiene una relación lineal con la concentración intracelular de carnitina. En estos casos (por ejemplo, en entrenamientos deportivos de alto rendimiento) se recomienda su adición a la dieta.

6.2 Degradación aeróbica de ácidos grasos: La β -oxidación

6.2.1 Introducción

La principal ruta degradativa seguida por los ácidos grasos en el interior de la mitocondria recibe el nombre de **β -oxidación** debido a que se trata de un proceso oxidativo a nivel del carbono β (carbono 3) de un ácido graso. El proceso, en síntesis, es el siguiente: Dado un ácido graso de n átomos de carbono, a través de una serie de reacciones que cursan con oxidación del carbono β , produce una molécula de acetil-CoA a partir de los dos primeros carbonos de la cadena. Este acetil-CoA puede ser degradado mediante el ciclo de Krebs y queda un ácido graso con $n-2$ carbonos. Sobre éste vuelve a tener lugar otro ciclo de β -oxidación, dando acetil-CoA y un ácido graso de $n-4$ carbonos. El proceso sigue, en ciclos sucesivos, hasta que toda la cadena del ácido graso queda convertida en acetil-CoA. A lo largo de cada ciclo, además de acetil-CoA, se producen coenzimas reducidas ($FADH_2$ y $NADH$) que serán oxidadas por la cadena de transporte electrónico mitocondrial que vimos en el capítulo 5. El proceso de β -oxidación se presenta esquemáticamente en la [figura 6.6](#).

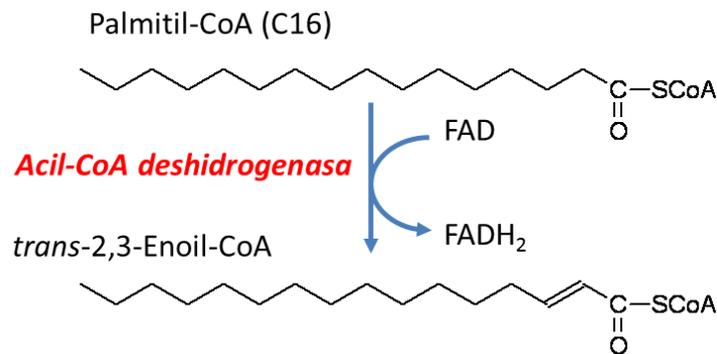


Aunque este proceso, en mamíferos, tiene lugar en las mitocondrias y en los peroxisomas, nos referiremos fundamentalmente a la β -oxidación mitocondrial.

6.2.2 Secuencia de reacciones

Acil-CoA deshidrogenasa (EC 1.3.99.13)

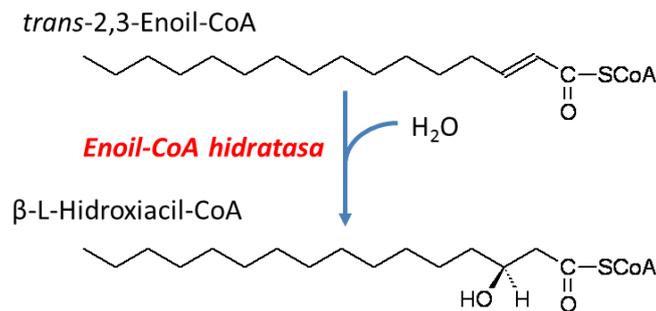
Esta enzima oxida en la posición α,β (2,3) al acil-CoA produciendo **trans-2,3-Enoil-CoA**. Se trata de una flavoproteína con un grupo prostético FAD, que en el curso de la reacción quedará reducido a FADH₂:



Existen varios tipos de acil-CoA deshidrogenasas, que actúan dependiendo de la longitud de la cadena (larga, media o corta). Esta enzima entrega sus electrones a una proteína soluble conocida como ETF (*Electron Transferring Flavoprotein*) que a su vez reducirá a la ubiquinona presente en la membrana interna mitocondrial gracias a la acción de una **ETF:ubiquinona oxidorreductasa**; el ubiquinol producido entrega sus electrones al complejo III, según vimos en el capítulo 5.

Enoil-CoA hidratasa (EC 4.2.1.17)

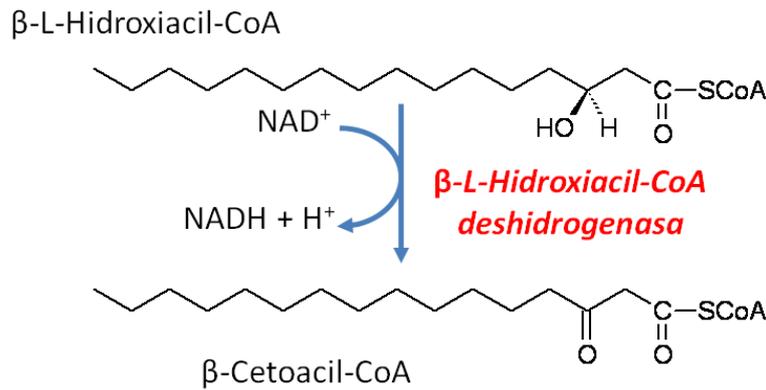
Cataliza una reacción de hidratación del doble enlace producido en la reacción anterior, produciendo un **β -L-hidroxiacil CoA (3-L-hidroxiacil CoA)**:



Se trata de una enzima proquiral, dado que únicamente produce el isómero L- del derivado hidroxiacil.

β -L-Hidroxiacil-CoA deshidrogenasa (EC 1.1.1.35)

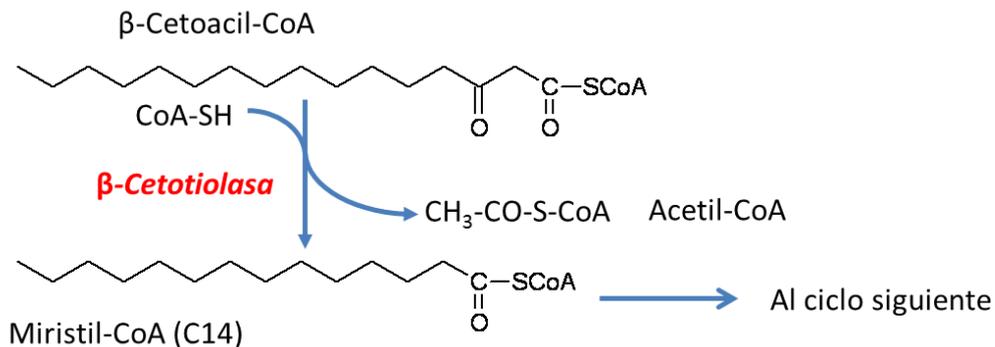
A continuación, el grupo hidroxilo del carbono 3 (carbono β) es oxidado dando lugar a **β -cetoacil-CoA (3-cetoacil-CoA)**:



La oxidación tiene lugar a expensas de NAD⁺, dando NADH que puede ser reoxidado por la cadena de transporte electrónico (complejo I)

β -Cetotiolasa (EC 2.3.1.16)

Esta enzima cataliza un ataque al cetoacil-CoA por parte del grupo tiol (-SH) de la coenzima A, dando lugar a **acetil-CoA** (que puede ser degradado por el ciclo de Krebs o dar lugar a cuerpos cetónicos) y un **acil-CoA** de dos átomos de carbono menos que el inicial, y que está en condiciones de iniciar un nuevo ciclo de β -oxidación:



Podemos observar que las tres primeras reacciones de la β -oxidación son similares a las reacciones del ciclo de Krebs catalizadas sucesivamente por succinato deshidrogenasa, fumarato hidratasa y malato deshidrogenasa.

6.2.3 Balance energético de la β -oxidación

Es obvio que un ácido graso de n átomos de carbono (n par) se degrada a través de $(n/2 - 1)$ ciclos de β -oxidación y que produce $n/2$ moléculas de acetil-CoA. En cada ciclo de β -oxidación se producen, por otra parte, dos coenzimas reducidas, FADH₂ y NADH que serán reoxidadas por la cadena de transporte electrónico, con producción por fosforilación oxidativa de 1.5 y 2.5 moléculas de ATP respectivamente. Así, tomando como ejemplo el ácido palmítico (C16), podemos establecer el balance energético de la siguiente manera:

ATP producido:		
8 Acetil-CoA	10 ATP	80 ATP
7 FADH ₂	1.5 ATP	10.5 ATP
7 NADH	2.5 ATP	17.5 ATP
Producido:		108 ATP
ATP consumido:		
Activación de C16	1 ATP	- 1 ATP
Consumido:		- 1 ATP
Total		107 ATP

De manera que la ecuación estequiométrica de la oxidación aeróbica de ácido palmítico sería la siguiente:



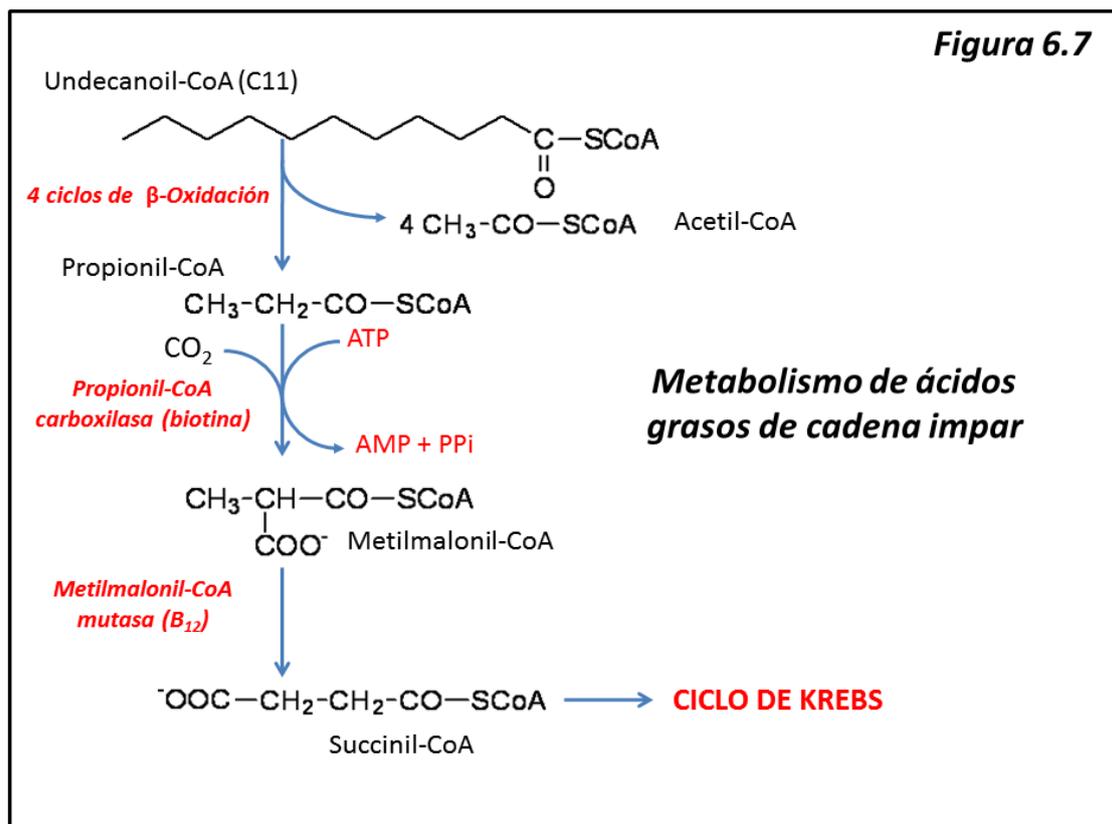
Llama la atención la gran cantidad de agua producida en el proceso. De estas 123 moléculas de agua, sólo 16 proceden de la combustión propiamente dicha. Las restantes 107 son producto de la fosforilación oxidativa ($\text{ADP} + \text{P}_i \rightarrow \text{ATP} + \text{H}_2\text{O}$). De aquí se deduce que los ácidos grasos no solamente constituyen una importante reserva energética, sino también un reservorio de agua. Este almacenamiento de energía y de agua tiene además lugar en unas condiciones esencialmente anhidras, cuales son las que se dan en el tejido adiposo. En comparación, la reserva de hidratos de carbono, en forma de glucógeno, requiere una cierta retención de agua, por una parte, y por otra supone aproximadamente un 80 % del rendimiento energético, a igualdad de peso, que la degradación aeróbica de ácidos grasos.

6.2.4 Degradación de ácido grasos de número impar de átomos de carbono

Aunque constituyan una cierta excepción, tenemos que considerar la degradación de ácidos grasos de número impar de átomos de carbono.

Estos ácidos grasos son degradados por β -oxidación de manera enteramente análoga a la vista anteriormente, hasta que el proceso llega a un último fragmento de 3 átomos de carbono en forma de **propionil-CoA**. Éste es entonces carboxilado por la **propionil-CoA carboxilasa (EC 6.4.1.3)**, dando **metilmalonil-CoA** que es isomerizado a **succinil-CoA**, substrato directo del ciclo de Krebs, por la **metilmalonil-CoA mutasa (EC 5.4.99.2)**. La carboxilasa requiere hidrólisis de ATP y el cofactor **biotina**; la mutasa, por su parte, requiere una **coenzima cobamídica (vitamina B₁₂)**. Estas reacciones se presentan en la **figura 6.7**.

Una característica interesante de este proceso es que termina en un substrato intermediario del ciclo de Krebs (succinil-CoA). Por esta razón, los ácidos grasos de cadena impar pueden considerarse **glucogénicos**, es decir, pueden dar lugar a síntesis neta de glucosa. Los ácidos grasos normales, de cadena par, por el contrario, no lo son; ya que son degradados a acetil-CoA en su totalidad, y la entrada de éste al ciclo de Krebs no supone adición alguna de materia al mismo, dado que en cada ciclo salen tantos carbonos como entran (2). La entrada de succinil-CoA, sin embargo, añade al ciclo 4 carbonos que podrían emplearse en neoglucogénesis sin necesidad de reposición por parte de reacciones anapleróticas.



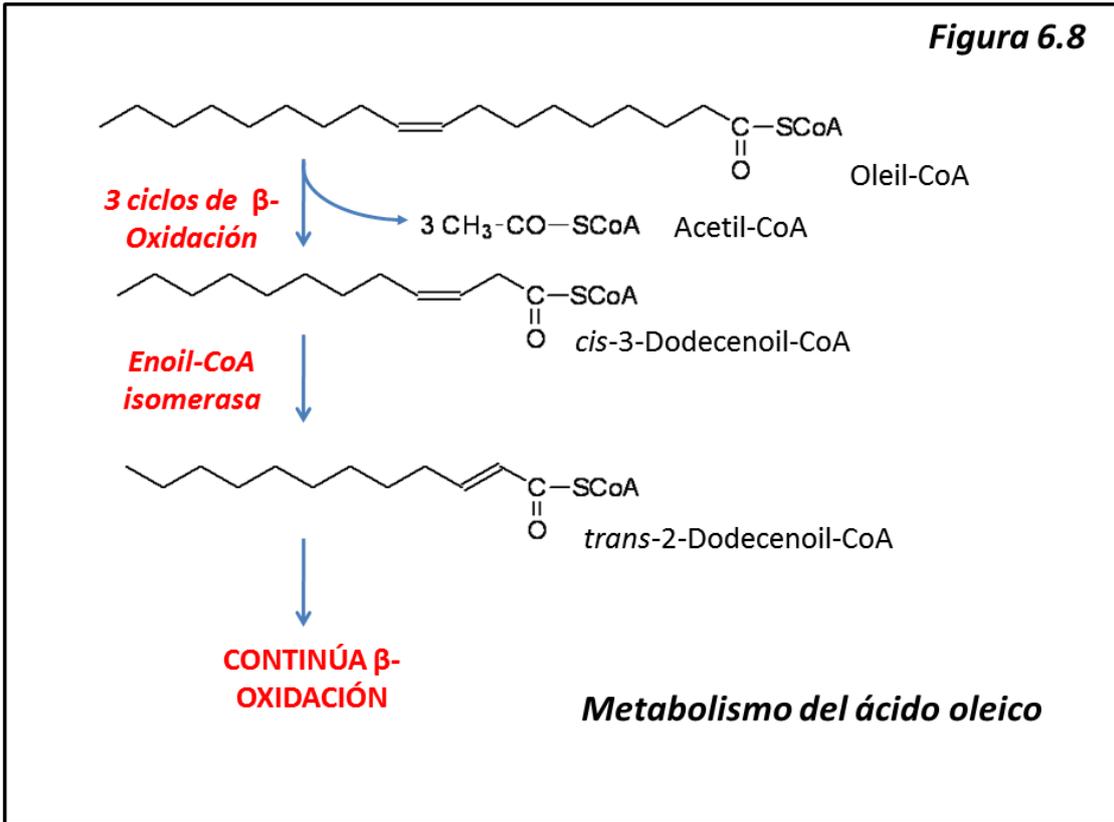
6.2.5 Degradación de ácidos grasos insaturados

En general, los ácidos grasos insaturados siguen la misma ruta de β -oxidación que hemos visto para los ácidos saturados, con la salvedad de que al llegar la degradación a las insaturaciones se hacen necesarias reagrupaciones moleculares debido a (a) en carácter *cis*- de las insaturaciones y (b) que la insaturación puede quedar, en el curso de la β -oxidación, en una posición incompatible con el intermediario 2-enoil-CoA. Estos problemas se resuelven, en el primer caso, mediante *cis-trans* isomerasas como la **enoil-CoA isomerasa (EC 5.3.3.8)** y en el segundo, mediante las mismas isomerasas y una **dienoil-CoA reductasa (EC 1.3.1.34)** dependiente de NADPH. Para ilustrar estos mecanismos tomaremos como ejemplo la degradación de ácido oleico (9-*cis* octadecenoico) y la de ácido linoleico (9,12-*cis*-octadecadienoico).

La degradación de ácido oleico se ilustra en la **figura 6.8**. Tras tres ciclos de β -oxidación, oleil-CoA queda transformado en 3-*cis* dodecenoil-CoA. La acción de la enoil-CoA isomerasa transforma este compuesto en 2-*trans* dodecenoil-CoA, que puede continuar normalmente la β -oxidación dado que sobre este intermediario 2-*trans* puede actuar normalmente la enoil-CoA hidratasa.

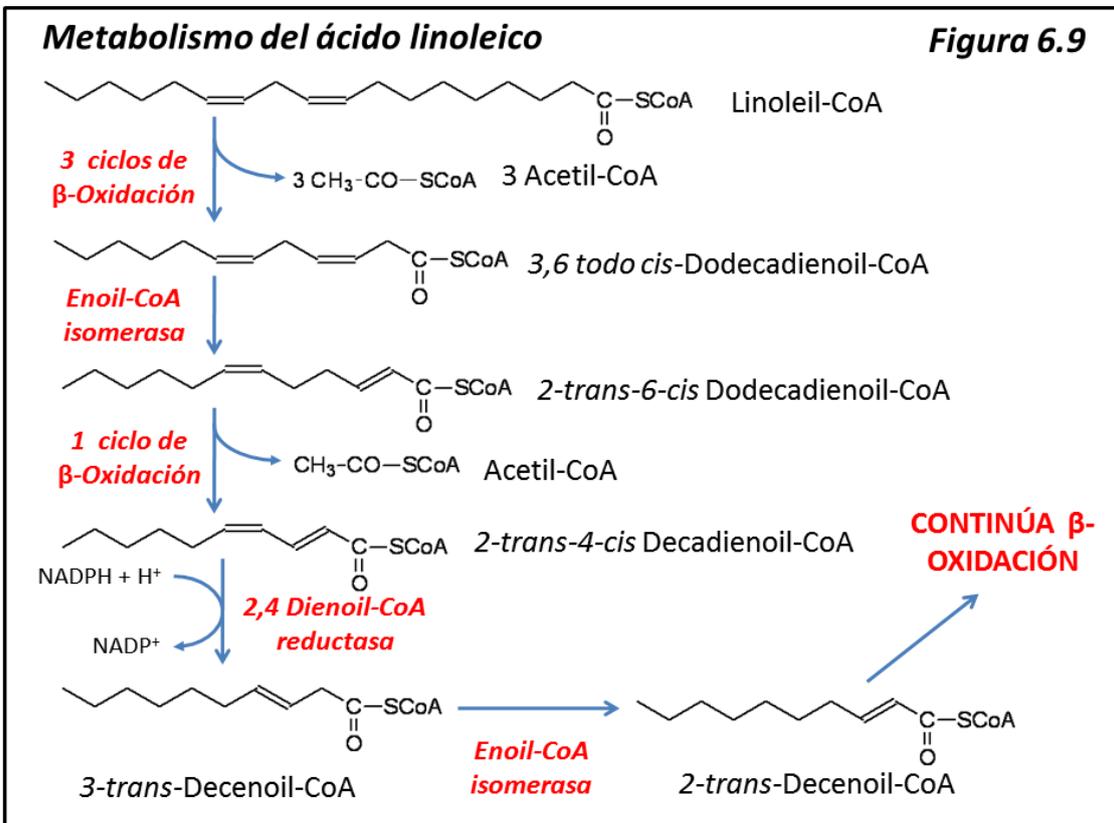
El caso del ácido linoleico es algo más complicado (**figura 6.9**). La primera insaturación está en la posición 9-*cis*, igual que en el caso anterior. Por tanto, tras tres ciclos de β -oxidación, la actuación de la enoil-CoA isomerasa y otro ciclo de β -oxidación se obtiene el intermediario 2-*trans* 4-*cis* decadienoil-CoA, sobre el que no puede actuar la hidratasa. Ocurre entonces que el doble enlace en 4 es reducido por la dienoil-CoA reductasa, a expensas de NADPH, dando un 3-*trans*-decenoil-CoA que por acción de la isomerasa da el derivado 2-*trans* que puede seguir normalmente el proceso de β -oxidación.

Figura 6.8



Metabolismo del ácido linoleico

Figura 6.9

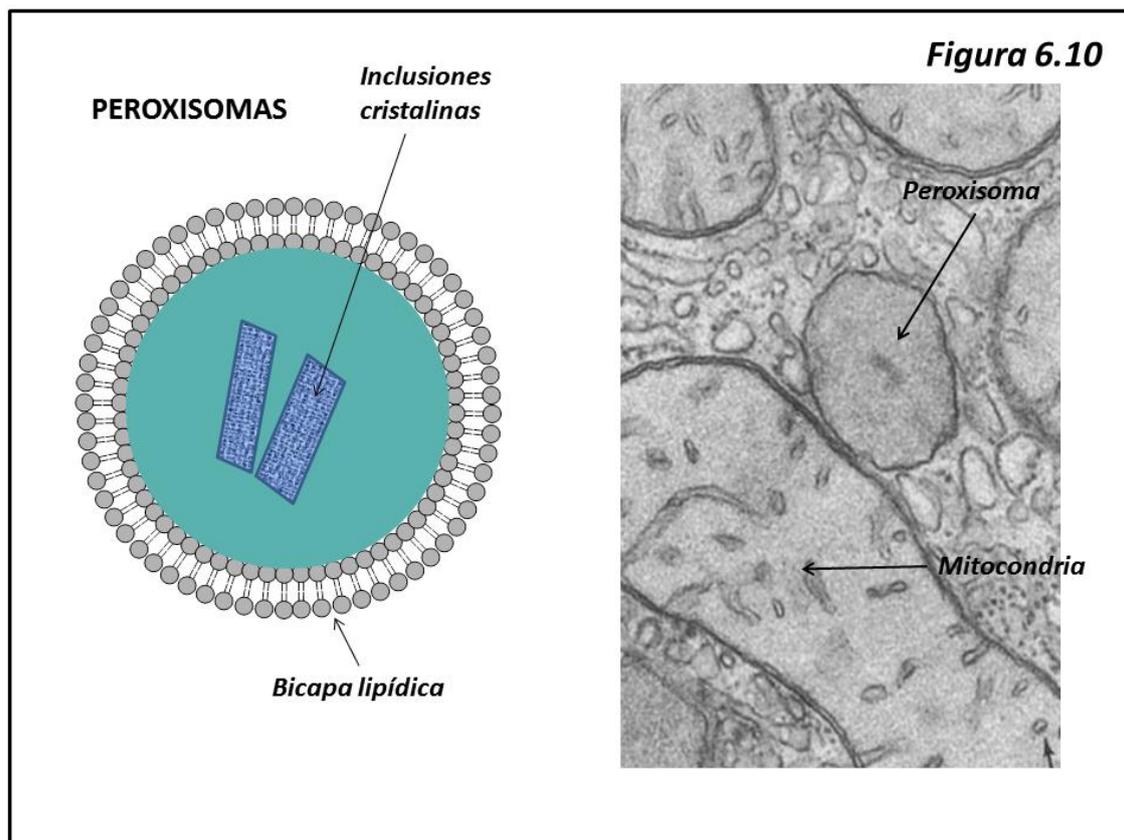


6.2.6 Alternativas a la β -oxidación: β -Oxidación peroxisomal, α -oxidación y ω -oxidación

6.2.6.1 β -Oxidación peroxisomal

Los peroxisomas son organelas celulares cuyo origen, a diferencia de las mitocondrias, está codificado por el DNA nuclear; es decir, no se trata de organismos endosimbiontes. Aparecen prácticamente en todo tipo de célula conocido, y sus funciones son eminentemente oxidativas: oxidación de ácidos grasos (en sus variantes β - y α -), D-aminoácidos (presentes en peptidoglicanos bacterianos), y en general, reacciones de tipo oxidásico (es decir, que emplean O_2 como aceptor electrónico y que producen H_2O_2). Como tales, los peroxisomas son una fuente importante, junto con la mitocondria, de especies reactivas de oxígeno (ERO); en ellos abundan enzimas neutralizantes del stress oxidativo, como catalasa y superóxido dismutasa. Otra de las funciones importantes de los peroxisomas es la síntesis de plasmalógenos, lípidos de membrana con radicales grasos unidos en enlace éter al glicerol y con una insaturación en *trans*-.

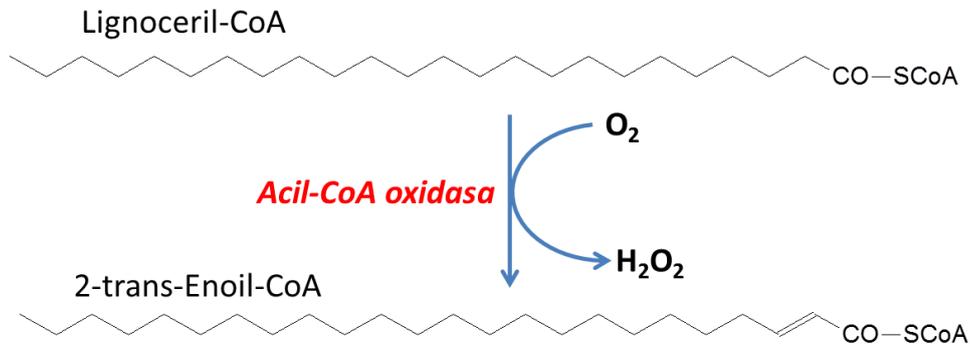
Desde el punto estructural, los peroxisomas derivan por especialización del retículo endoplásmico. Constan de una sola membrana (y no dos, como en la mitocondria) que rodea a un espacio no diferenciado en el que a veces aparece una inclusión cristaloida (figura 6.10) de catalasa o urato oxidasa.



Una de las funciones básicas de los peroxisomas es la β -oxidación de ácidos grasos de cadena muy larga (C24 y más), que son reducidos a un menor tamaño (C14, C16) antes de ser transportados a la mitocondria para su degradación final. A diferencia del proceso mitocondrial, la β -oxidación peroxisomal no está acoplada a transporte electrónico ni fosforilación oxidativa. En lo que respecta a ácidos grasos, su función consiste esencialmente en la producción de moléculas más pequeñas con un cierto grado de oxidación que pueden ser

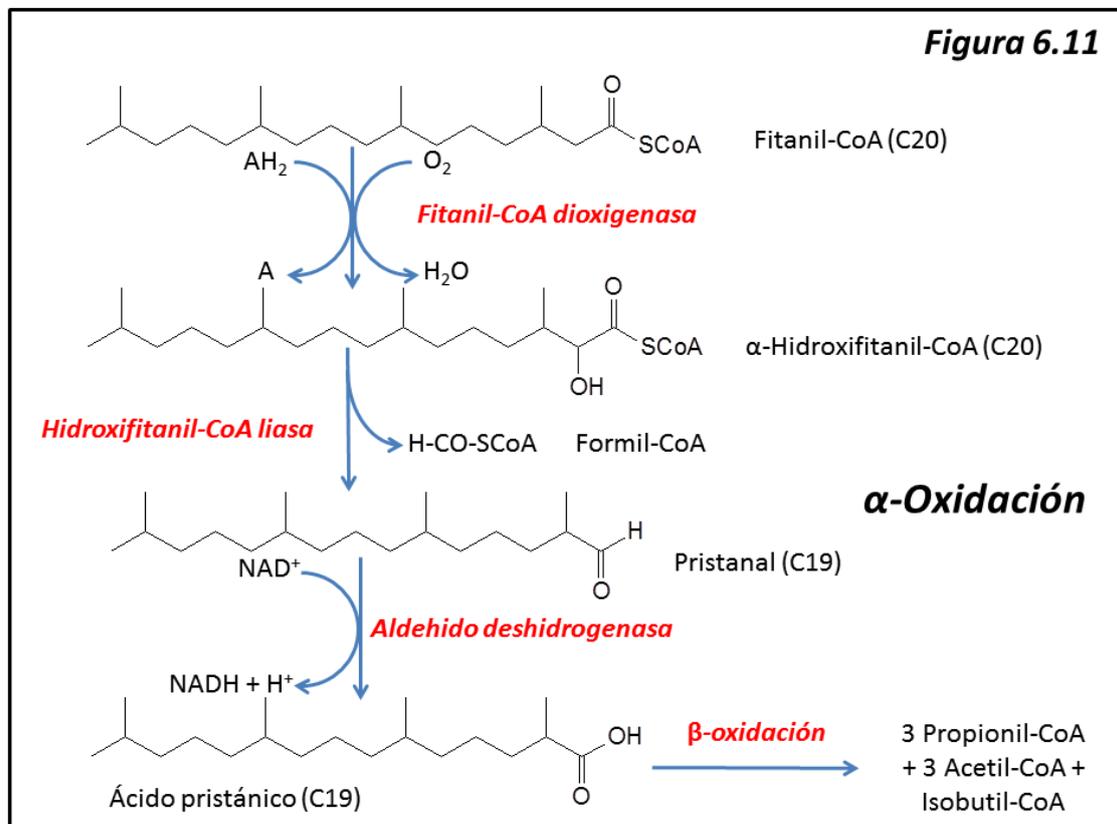
más fácilmente metabolizadas, así como la oxidación de ácidos ramificados (ver más adelante, α -oxidación) o dicarboxílicos.

Además de no estar acoplada a la producción de ATP, la principal diferencia con la β -oxidación mitocondrial consiste en la primera reacción del ciclo, que en los peroxisomas está catalizada por una **acil-CoA oxidasa (EC 1.3.3.6)** (y no por una acil-CoA deshidrogenasa):



6.2.6.2 α -Oxidación

Una variante importante de la β -oxidación que tiene lugar en los peroxisomas es la **α -oxidación**, un proceso dedicado esencialmente al metabolismo de ácidos grasos ramificados. Uno de los más abundantes en la dieta es el **ácido fitánico** (ver figura 6.11), un poliprenoide saturado con varias ramificaciones que deriva del **fitol**, componente de la **clorofila**, y por tanto presente en los alimentos de origen vegetal.



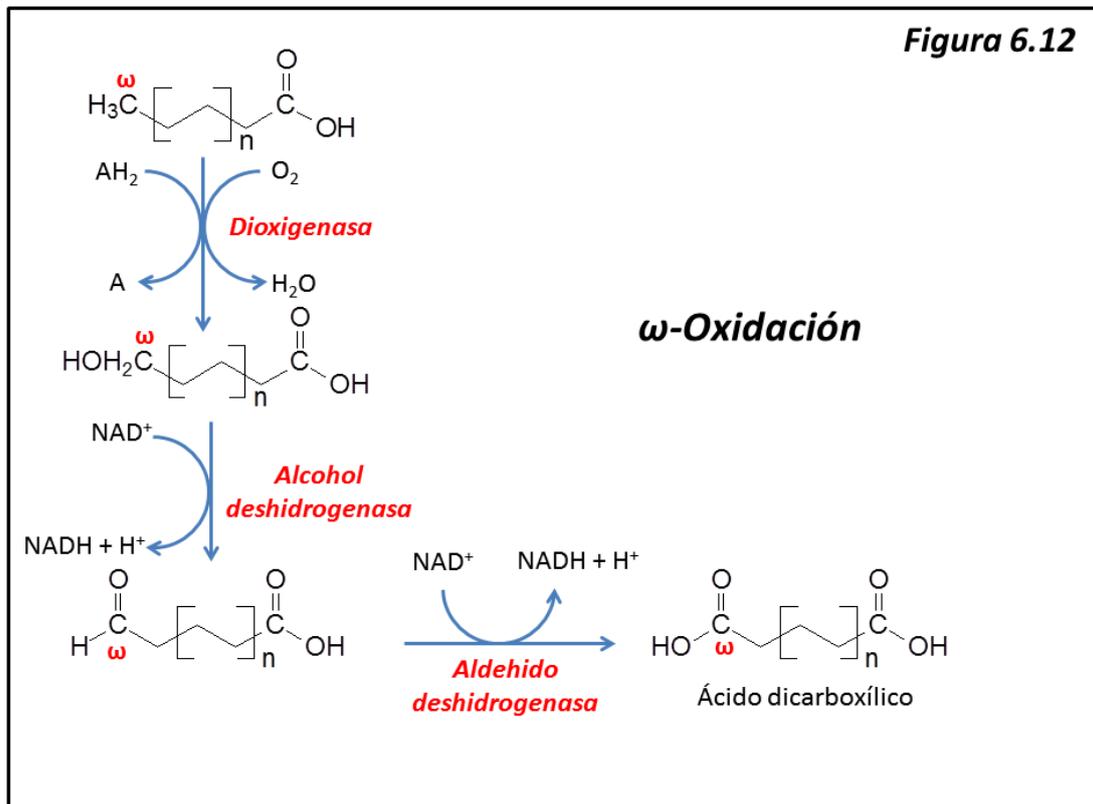
Al tener las ramificaciones en posición β , no puede degradarse por una β -oxidación. Para lograrlo, se debe eliminar el carbono 1 de manera que la ramificación quede en posición α , en cuyo caso puede tener lugar la β -oxidación normal (pero con liberación de propionil-CoA en lugar de acetyl-CoA).

La primera enzima es una **dioxigenasa (EC 1.14.11.18)** dependiente de O_2 y de un correductor que introduce un grupo hidroxilo en el carbono α . A continuación, el derivado hidroxilado es roto por una **liasa (EC 4.1.2.n2)** liberándose formil-CoA y el aldehído pristanal, cuyas ramificaciones quedan en α . La oxidación por la **aldehído deshidrogenasa (EC 1.2.1.3)** del pristanal da ácido pristánico, cuyo derivado pristanyl-CoA puede entrar en la β -oxidación normal al tener la ramificación en α . Los ciclos sucesivos darán propionil-CoA y acetyl-CoA. El primero sigue su metabolismo de la misma manera que vimos en el caso de ácidos grasos de número impar de átomos de carbono.

6.2.6.3 ω -Oxidación

Se trata de un proceso minoritario por el cual el carbono oxidado es el último de la cadena hidrocarbonada (el carbono ω), produciéndose por lo general un ácido dicarboxílico. Este ácido dicarboxílico puede experimentar β -oxidación normal (comenzando desde cualquiera de los dos extremos), dando como productos finales ácido succínico (ácido butanodioico) o ácido adípico (ácido hexanodioico). Se trata de un proceso que tiene lugar en el retículo endoplásmico de hígado y riñón, y al parecer de escasa importancia metabólica.

Las reacciones que tienen lugar sobre el carbono ω son parecidas a las que hemos visto en el proceso de α -oxidación. Es decir: una **dioxigenasa** ataca al carbono ω , $-CH_3$ introduciendo una función hidroxilo en el mismo, que queda en forma de grupo **hidroximetil $-CH_2OH$** . A continuación, la **alcohol deshidrogenasa (EC 1.1.1.1)** oxida esta función a **aldehído $-CHO$** . Por último, la **aldehído deshidrogenasa (EC 1.2.1.3)** oxida el aldehído a **carboxilo $-COOH$** (figura 6.12)



6.3 Cetogénesis

6.3.1 Generalidades

El acetil-CoA producido durante la β -oxidación o la descarboxilación oxidativa de piruvato entra normalmente en el ciclo de Krebs a través de su condensación con oxalacetato para dar citrato (citrato sintasa). Pero existen circunstancias metabólicas en las que la concentración de oxalacetato se hace muy baja; tal es el caso de las condiciones de ayuno, en las que la neoglucogénesis aparece estimulada para mantener una tasa adecuada de glucemia (no olvidemos que oxalacetato es un punto habitual de partida de la neoglucogénesis). Al tiempo, en esas mismas condiciones, la hormona glucagon (además de estimular la neoglucogénesis) induce una activación de la lipasa hormonosensible del tejido adiposo, con lo que aumenta la cantidad de ácidos grasos a disposición de la β -oxidación, lo que eleva todavía más la concentración intramitocondrial de acetil-CoA.

En esas circunstancias, acetil-CoA sigue una ruta alternativa, la **cetogénesis** o **formación de cuerpos cetónicos**, ruta esencialmente hepática, mediante la cual se forman compuestos con un grado de oxidación suficiente para facilitar su transporte por los medios acuosos y que sin embargo pueden servir como combustibles en otros tejidos como el músculo, el corazón e incluso el cerebro.

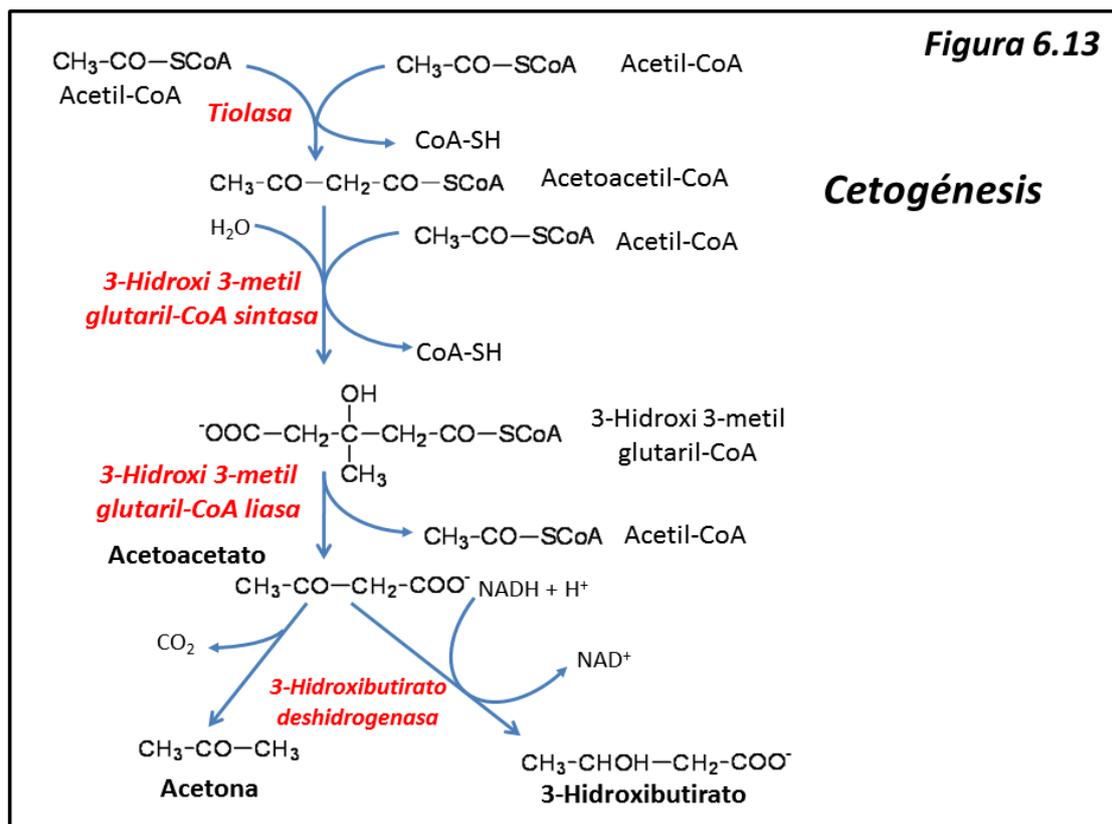
Los cuerpos cetónicos son básicamente dos: **3-hidroxiacetato** y **acetoacetato**, y puede aparecer también **acetona**, por descarboxilación no enzimática de acetoacetato, aunque en menor medida.

Ambos cuerpos cetónicos (3-hidroxiacetato y acetoacetato) son ácidos, por lo que su síntesis conlleva la liberación de protones al medio; de manera que una producción exagerada de cuerpos cetónicos puede conducir a un estado de acidosis metabólica, que en este caso recibe el nombre de **cetoacidosis**, y que es una complicación característica de la *diabetes mellitus*. Los cuerpos cetónicos son perfectamente solubles en agua, por lo que un exceso en sangre de los mismos provocará su aparición en orina, condición conocida como **cetonuria**. Por otra parte, al ser la acetona particularmente volátil, una cantidad significativa de la misma puede eliminarse a través del aire espirado en el pulmón, lo que da lugar a un olor característico del aliento tanto en la diabetes como después de un ayuno prolongado, condiciones ambas que favorecen la cetogénesis.

En resumen, los cuerpos cetónicos se producen ante una acumulación excesiva de acetil-CoA en las células hepáticas, al objeto de producir combustible secundario que pueda ser aprovechado por otras células. En este sentido, es interesante el hecho de que la síntesis de cuerpos cetónicos sólo tiene lugar en el hígado, mientras que su degradación puede tener lugar en muchos otros órganos o tejidos con excepción del hígado.

6.3.2 Cetogénesis: Síntesis de cuerpos cetónicos

La biosíntesis de cuerpos cetónicos tiene lugar en las mitocondrias hepáticas, y se presenta esquemáticamente en la **figura 6.13**.



El proceso comienza por la condensación de dos moléculas de acetil-CoA con liberación de CoA-SH y producción de **acetoacetyl-CoA**, catalizada por la enzima **acetoacetyl-CoA tiolasa (EC 2.3.1.9)**. A la molécula de acetoacetyl-CoA se une una nueva molécula de acetil-CoA, con liberación de otra CoA-SH y síntesis de **3-hidroxi 3-metilglutaril-CoA (HMGCoA)**, reacción catalizada por la **3-hidroxi 3-metilglutaril-CoA sintasa (EC 2.3.3.10)**. Estos dos reacciones son idénticas a las dos primeras reacciones de síntesis de colesterol (y poliprenoides en general), con la particularidad de que en este caso (síntesis de cuerpos cetónicos) tienen lugar en la matriz mitocondrial mientras que la síntesis de colesterol es una ruta citoplásmica (ver más adelante), existiendo isozimas específicas en cada compartimento.

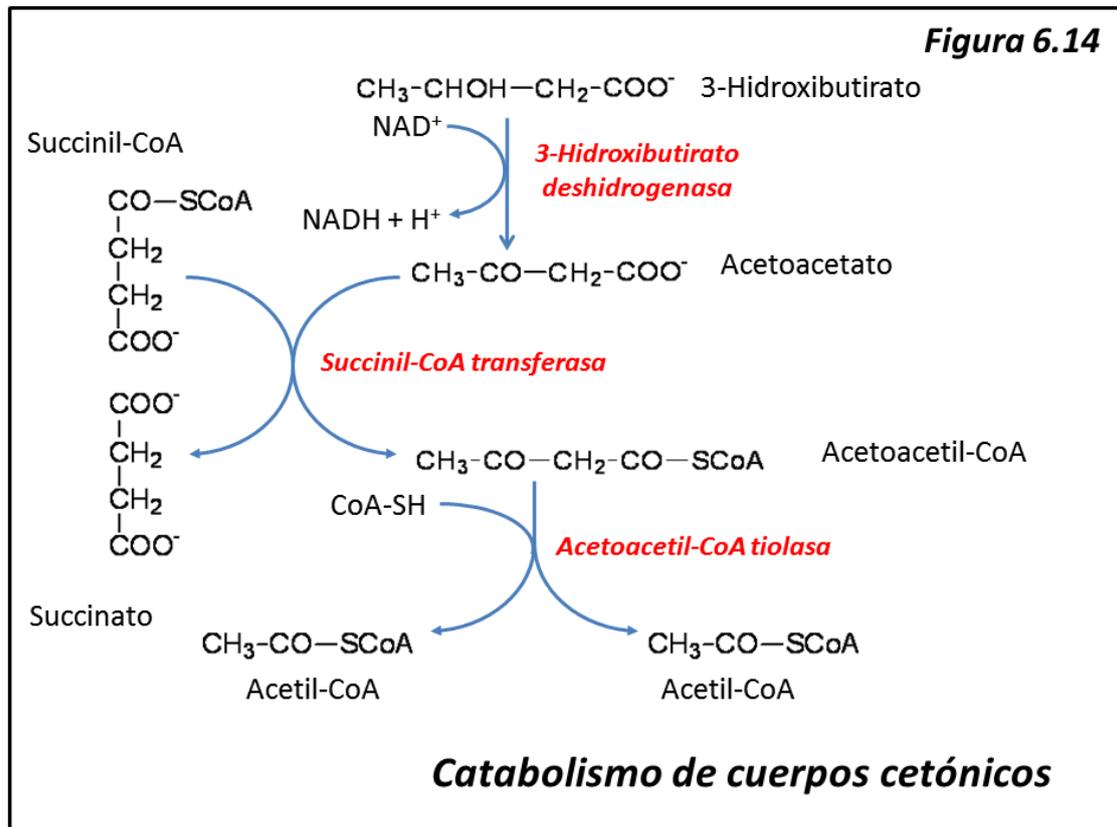
HMGCoA es atacado a continuación por la **3-hidroxi 3-metilglutaril-CoA liasa (EC 4.1.3.4)**, que desprende una molécula de acetil-CoA y otra de **acetoacetato**. Acetoacetato es reducido a **3-hidroxiacetil-CoA** por la **3-hidroxiacetil-CoA deshidrogenasa (EC 1.1.1.30)** a expensas de NADH. Puede asimismo experimentar una descarboxilación no enzimática para dar **acetona**.

A lo largo del proceso de cetogénesis, se utilizan tres moléculas de acetil-CoA y se desprende una, por lo que hay un consumo neto de dos. Esto nos indica que la acumulación de acetil-CoA favorece la cetogénesis por mera acción de masas. El glucagon estimula la cetogénesis a través de un control transcripcional (sobre el mRNA de la HMGCoA sintasa) mientras que la insulina inhibe dicho proceso.

6.3.3 Catabolismo de cuerpos cetónicos

Los cuerpos cetónicos pueden ser degradados a acetil-CoA (y su posterior entrada al ciclo de Krebs) en multitud de órganos y tejidos, con excepción del hígado, como ya hemos visto. El

proceso degradativo de los cuerpos cetónicos se presenta en la **figura 6.14**. Tiene lugar en la mitocondria.



3-Hidroxiacetil-CoA es oxidado a **acetoacetato** mediante una **3-hidroxiacetil-CoA tiolasa** (**EC 1.1.1.30**) diferente de la hepática. A continuación acetoacetato forma el tioéster **acetoacetil-CoA** utilizando como dador **succinil-CoA** (intermediario del ciclo de Krebs) que da lugar a **succinato**, proceso catalizado por la **succinil-CoA transferasa** (**EC 2.8.3.5**). Ésta es la enzima que falta en el hígado, razón por la cual este órgano no cataboliza los cuerpos cetónicos.

Acetoacetil-CoA es atacado por la **acetoacetil-CoA tiolasa** (**EC 2.3.1.9**), que incorpora una nueva molécula de **CoA-SH** y rinde **dos moléculas de acetil-CoA** que son degradadas a CO_2 y H_2O en el ciclo de Krebs.

6.4 Biosíntesis de ácidos grasos

6.4.1 Generalidades

Un principio general del metabolismo es que las vías biosintéticas son diferentes a las vías degradativas, a pesar de que todas las reacciones enzimáticas son en principio reversibles. En el caso de la glucosa, su degradación (glucólisis) y su biosíntesis (neoglucogénesis) utilizan varias enzimas comunes; pero los tres pasos metabólicamente irreversibles de la glucólisis tienen que ser sorteados por caminos diferentes en la neoglucogénesis.

En el caso de los ácidos grasos, sabemos que las reacciones de la β -oxidación son reversibles incluso en las condiciones intracelulares; sin embargo, la vía biosintética de los ácidos grasos se diferencia bastante de la vía degradativa, a pesar de la similitud química de muchos de sus intermediarios. Enumeramos a continuación las diferencias entre uno y otro procesos:

1. La β -oxidación tiene una localización mitocondrial (o peroxisomal) mientras que la biosíntesis de ácidos grasos es un proceso **citoplásmico**.
2. Las coenzimas utilizadas en las reacciones redox de la β -oxidación son NAD^+ y FAD; en la biosíntesis, exclusivamente **NADPH**. Este requerimiento nos remite a la importancia del funcionamiento de la vía pentosa-fosfato para llevar a cabo la biosíntesis de ácidos grasos.
3. La unidad de degradación es un elemento de dos átomos de carbono, acetyl-CoA; sin embargo, la biosíntesis se hace por aposición de un elemento de tres átomos de carbono, **malonil-CoA** (que posteriormente, en el curso de la biosíntesis, perderá uno de ellos).
4. En la biosíntesis es indispensable la presencia de dióxido de carbono CO_2 (normalmente en forma de ion bicarbonato HCO_3^-), cuya concentración está relacionada *linealmente* con la velocidad de biosíntesis, lo que indica una dependencia *catalítica*.
5. El cofactor transportador de acilo en la β -oxidación es la coenzima A; en la biosíntesis se trata de una proteína de pequeño tamaño, la **proteína transportadora de acilo, ACP** según sus siglas en inglés. Recordemos que el grupo prostético de la ACP es una **fosfopanteteína** unida en enlace éster a la cadena lateral de un residuo de serina de la proteína (figura 6.2).
6. La biosíntesis, en eucariotas, está catalizada por un complejo multienzimático, el **complejo ácido graso sintasa citoplásmico**, mientras que las enzimas de la β -oxidación aparecen aisladas en la matriz mitocondrial. En procariontes, sin embargo, las enzimas individuales de la biosíntesis actúan aisladamente.
7. Los intermediarios de la β -oxidación son sucesivamente enoil, hidroxiacil y cetoacil (unidos a CoA); en la biosíntesis encontraremos igualmente, aunque en sentido inverso, la misma naturaleza química de los intermediarios, esto es, cetoacil, hidroxiacil y enoil (unidos a ACP). Sin embargo, mientras que el intermediario hidroxiacil en la β -oxidación tiene la configuración L-hidroxiacil, en la biosíntesis se trata del **D-hidroxiacil**.

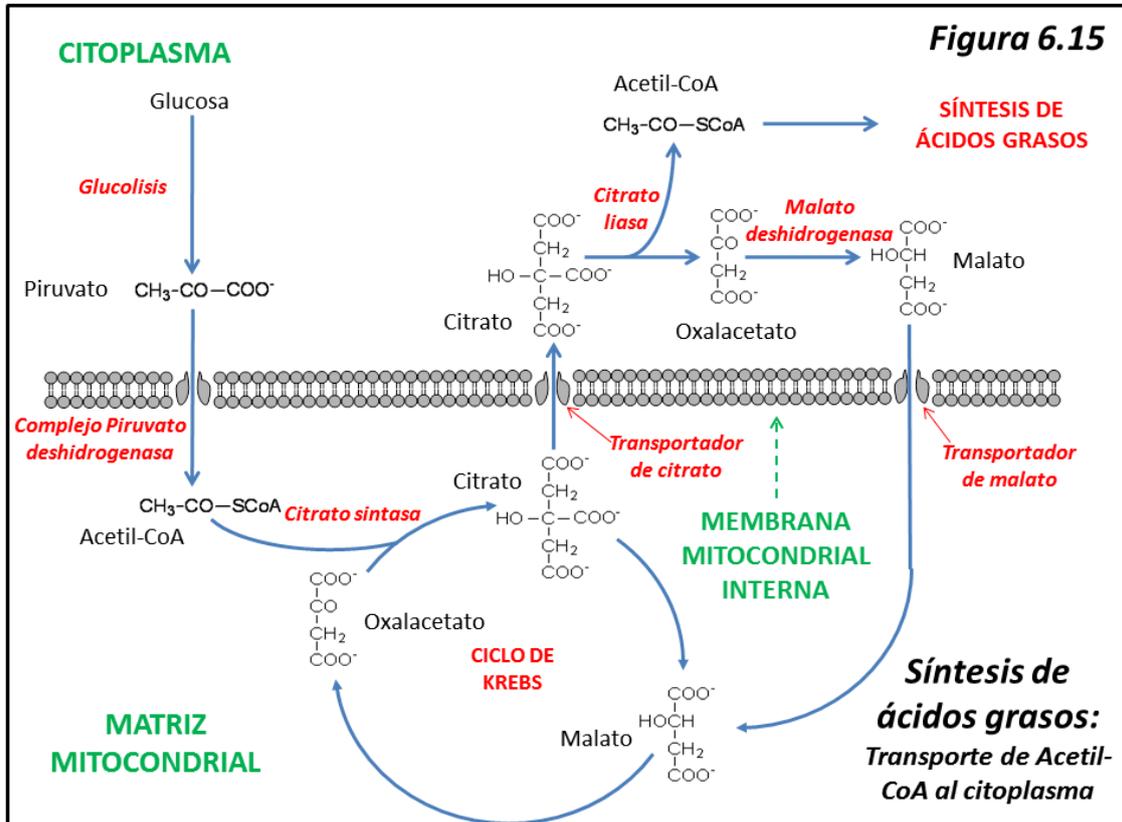
Podríamos citar, al igual que en otros procesos metabólicos, las regulaciones de estricto sentido contrario entre biosíntesis y degradación. De momento diremos que mientras que la degradación se ve favorecida por el estado de ayuno (cuya hormona es el glucagón) la biosíntesis lo está por el estado de saciedad (cuya hormona es la **insulina**). Aparte, naturalmente, de otros controles más pormenorizados que veremos más adelante.

En la vía biosintética de glucosa, la neoglucogénesis, podemos considerar como precursor el oxalacetato mitocondrial. En la biosíntesis de ácidos grasos, el precursor es el **citrato** mitocondrial. Es decir, en ambos casos se trata de intermediarios del ciclo de Krebs.

Al estudiar la síntesis de ácidos grasos, consideraremos sucesivamente el transporte de citrato desde la mitocondria al citoplasma, el complejo ácido graso sintasa, la iniciación o cebado de la biosíntesis, y la elongación de la cadena hidrocarbonada.

6.4.2 Transporte de citrato al citoplasma

Acetil-CoA no puede atravesar la membrana mitocondrial interna. En su lugar, y como precursor de la biosíntesis de ácidos grasos, lo va a hacer el **citrato** (producto de la condensación de oxalacetato y acetil-CoA), para el que dicha membrana es permeable mediante un transportador específico. El proceso global de transporte se ilustra en la **figura 6.15**.



Una vez llegado al citoplasma, el citrato es escindido por la **citrato liasa (EC 4.1.3.34)** dando lugar a **oxalacetato** y **acetil-CoA**. Este acetil-CoA citoplásmico se une al procedente de la β -oxidación peroxisomal y servirá como precursor de la síntesis de ácidos grasos y de compuestos poliprenoides.

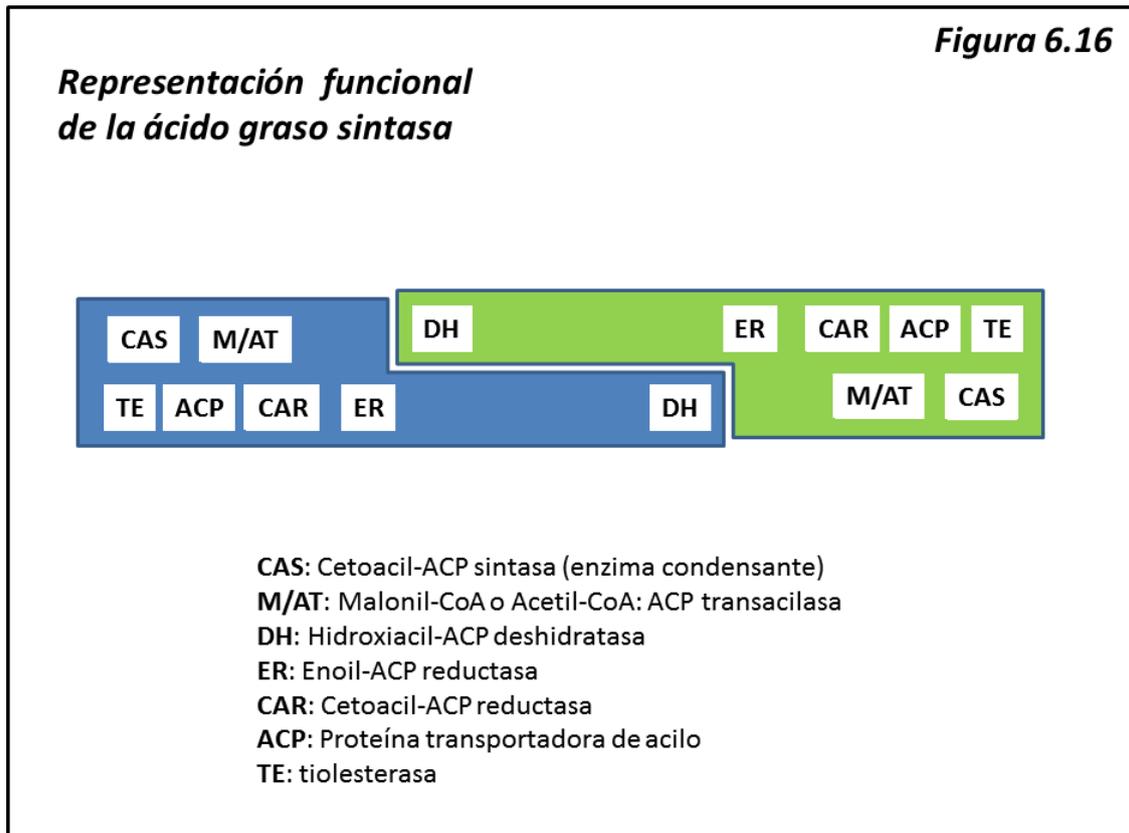
De esta manera el ciclo de Krebs pierde una molécula de citrato (6C) que es repuesta por la reducción (citoplásmica) de oxalacetato a **malato** (4C) mediada por la **malato deshidrogenasa citoplásmica (EC 1.1.1.37)**. El malato puede atravesar la membrana mitocondrial interna gracias a su transportador específico (que también funciona en el caso de la lanzadera malato-aspartato, ver cap. 5) con lo que reponen cuatro carbonos al ciclo de Krebs. Los dos restantes pueden proceder de un acetil-CoA mitocondrial producto de la descarboxilación oxidativa de piruvato, a su vez producto de la glucólisis citoplásmica. Igualmente, la concentración de intermediarios del ciclo puede mantenerse constante gracias a las reacciones anapleróticas (cap. 5).

Vemos, por lo tanto, que para mantener una activa biosíntesis de ácidos grasos es necesario un suministro de piruvato procedente de glucólisis. Si al mismo tiempo consideramos que la biosíntesis de ácidos grasos requiere un aporte de poder reductor en forma de NADPH, y que éste procede de la degradación de glucosa vía pentosa-fosfatos, nos daremos cuenta de hasta qué punto la biosíntesis de ácidos grasos depende en último término de un aporte de glucosa,

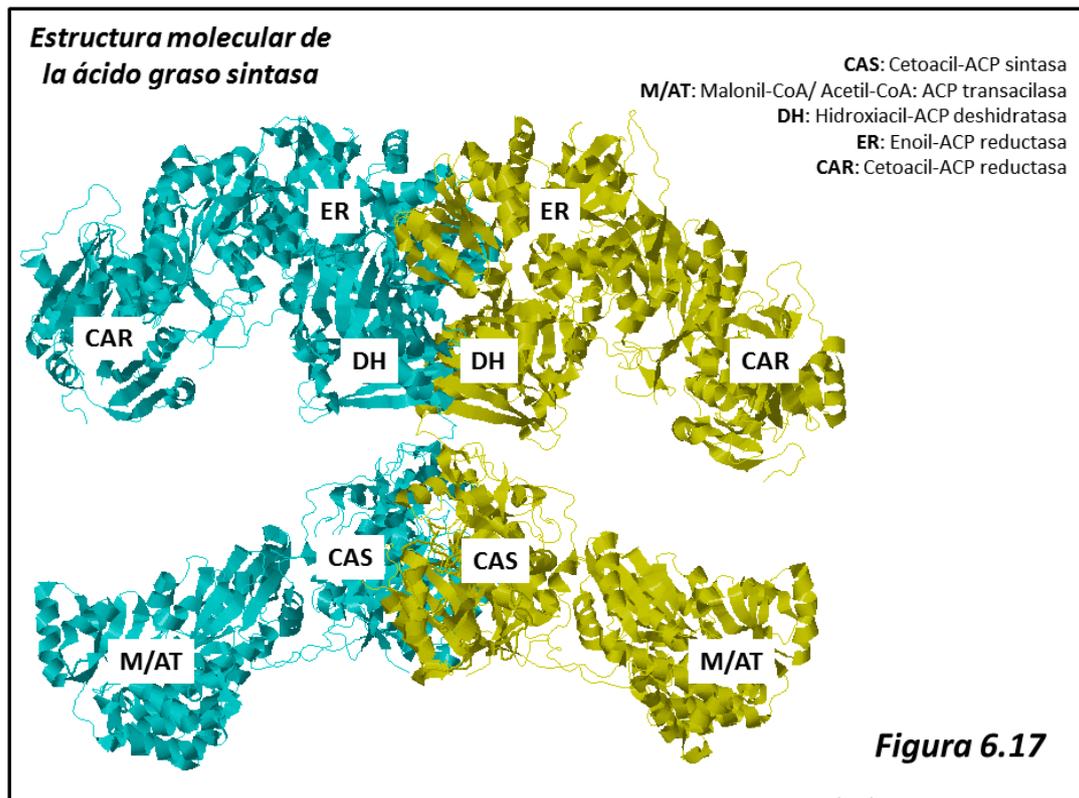
y de cómo cualquier exceso de hidratos de carbono en la dieta se almacena no sólo como glucógeno hepático, sino también, y principalmente, como ácidos grasos.

6.4.3 La ácido graso sintasa (EC 2.3.1.85)

En eucariotas, el conjunto de actividades enzimáticas que dan lugar a la biosíntesis de ácidos grasos (ácido graso sintasa) forman un dímero de muy alto peso molecular en levaduras (2 MDa) y no tanto en mamíferos (480 kDa, es decir, 240 kDa cada protómero). Cada subunidad o protómero es una única cadena polipeptídica de más de 2500 aminoácidos. Se trata, pues de una **enzima multifuncional** (figura 6.16). La estructura del complejo ha sido determinada a baja resolución (figura 6.17).

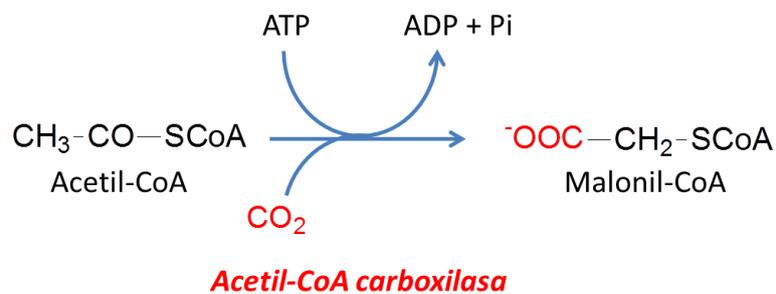


En la misma se puede apreciar que cada protómero está estructurado en varios dominios que representan seis de las diferentes actividades enzimáticas. No aparecen en la estructura ni la ACP ni la tiolesterasa, probablemente debido a que son estructuras demasiado flexibles como para dar una imagen a la difracción de rayos X. No obstante, su presencia en el complejo está corroborada por los datos de estructura primaria. En torno a todos estos dominios, la ACP representa un brazo móvil que se desplaza sobre cada uno de ellos dando lugar a las diferentes reacciones del proceso.



6.4.4 Iniciación (cebado) de la biosíntesis

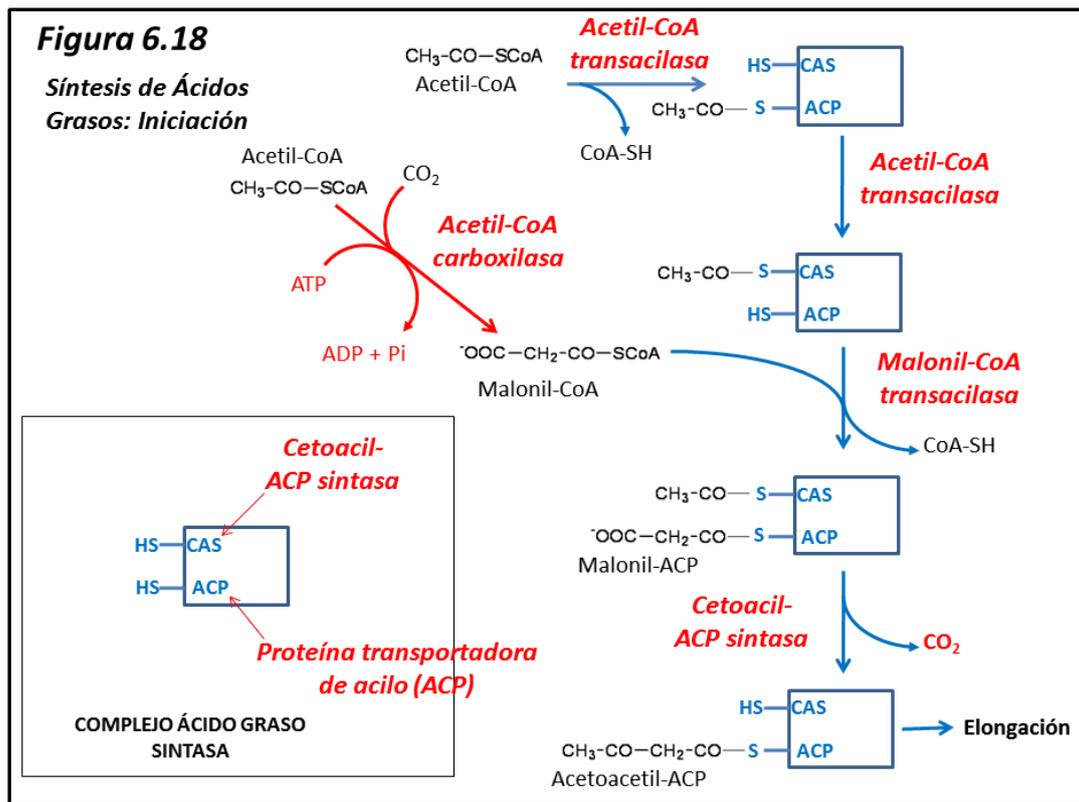
El sustrato fundamental de la biosíntesis de ácidos grasos es **malonil-CoA**, formado por carboxilación de acetil-CoA a expensas de CO_2 (o su forma metabólicamente activa, el ion bicarbonato HCO_3^-) por la enzima **acetil-CoA carboxilasa**:



Se trata de una carboxilación dependiente de **biotina**, fuertemente exergónica, y metabólicamente irreversible. Es una enzima alostérica y representa el principal punto de regulación de la biosíntesis de ácidos grasos. La enzima eucariótica, en presencia de citrato, polimeriza dando lugar a formas filamentosas activas. La presencia de Acil-CoA de cadena media o larga induce la depolimerización e inactivación de la enzima. Por otra parte, la acetil-CoA carboxilasa es susceptible de regulación covalente por fosforilación, de manera que la forma fosforilada (inducida por protein kinasa A) es inactiva mientras que la defosforilada es la forma activa.

A continuación, el residuo malonil de malonil-CoA es transferido al grupo $-\text{SH}$ de la fosfopanteteína de la ACP, en una reacción catalizada por la **malonil-CoA:ACP transacilasa** (M/AT en la [figura 6.16](#))

La formación del complejo iniciador se ilustra en la [figura 6.18](#).

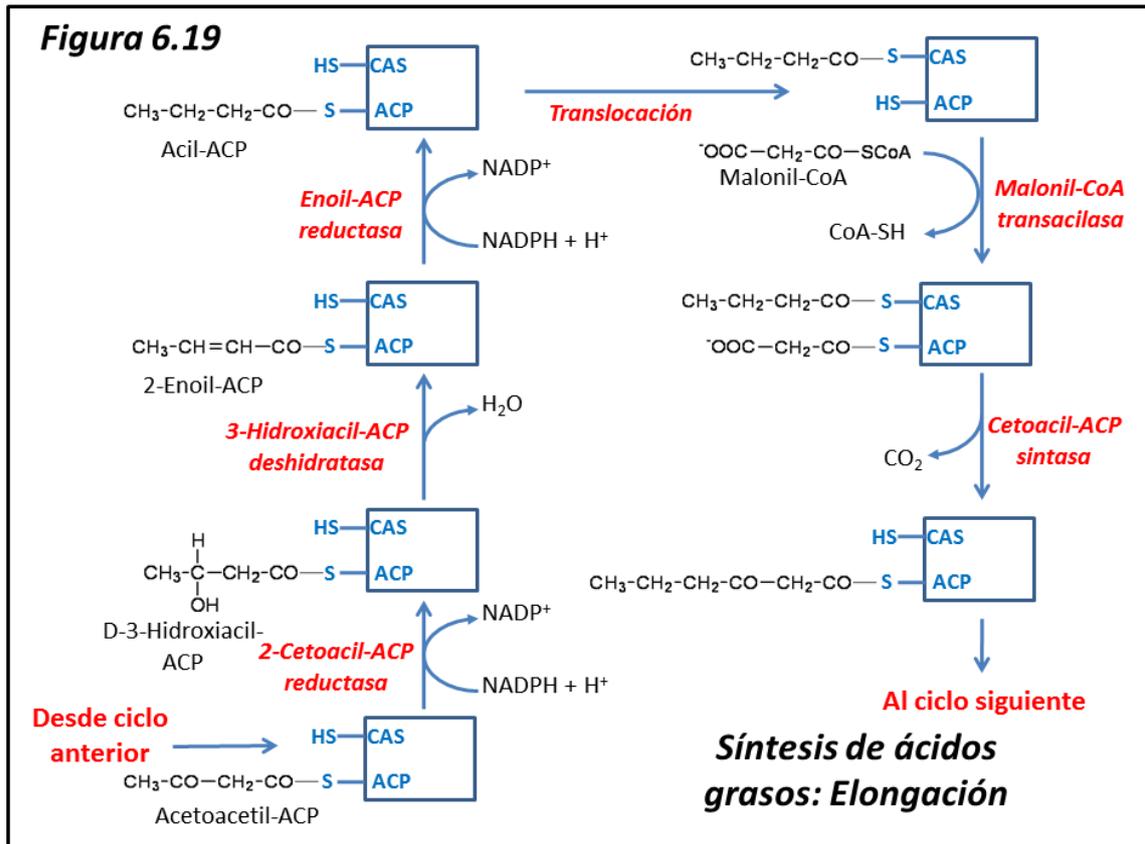


En el complejo de la ácido graso sintetasa existen dos grupos -SH activos: uno es el de la fosfopanteteína de la ACP y otro de una cisteína de la **cetoacil-ACP sintasa** (CAS en las [figuras 6.16 y 6.18](#), también llamada **enzima condensante**). Para iniciar un ciclo de elongación, este último tiene que estar ocupado por un residuo acil de número par de átomos de carbono. Por lo tanto, para que la iniciación tenga lugar, este sitio se ocupa con un residuo acetil. La reacción tiene lugar en dos fases: en primer lugar, un residuo acetil es transferido desde acetil-CoA a la ACP mediante la **acetil-CoA:ACP transacilasa** (M/AT en la [figura 6.16](#)).

El acetil-ACP formado transfiere el grupo acetilo al -SH de la cetoacil-ACP sintasa (CAS); en ese momento, la acción de la enzima provocará la condensación de malonil y acetil para dar un cetoacil de 4 átomos de carbono (**acetoacil-ACP**), con pérdida del CO_2 procedente del malonil ([figura 6.18](#)), de manera que queda formado el complejo iniciador: la ACP unida a un resto acetoacetilo, y el grupo -SH de la CAS vacío.

6.4.5 Elongación

Una vez formado el complejo iniciador, tiene lugar una serie cíclica de reacciones que normalmente termina cuando la cadena hidrocarbonada llega a una longitud de 16 átomos de carbono (ácido palmítico). En la [figura 6.19](#) se presenta un ciclo de elongación a partir del complejo iniciador que hemos visto en la sección anterior.



Las sucesivas reacciones son las siguientes:

1. Cetoacil-ACP reductasa

El grupo cetoacil-ACP es reducido a expensas de NADPH al intermediario **D-3-hidroxiacil-ACP**.

2. 3-Hidroxiacil-ACP deshidratasa

Esta actividad elimina una molécula de agua del hidroxiacil para dar **2-enoil-ACP**.

3. 2-Enoil-ACP reductasa

Una segunda reacción de reducción, también a expensas de NADPH, reduce el intermediario enoil a **acil-ACP**.

4. Translocación

El residuo acil de acil-ACP es transferido al -SH de la Cetoadil-ACP sintasa. Esta reacción es análoga a la transferencia de acetil-ACP al -SH de la enzima que vimos en la iniciación.

5. Malonil-CoA:ACP transacilasa

Esta reacción incorpora a ACP un nuevo residuo de **malonil** (también análoga a la que vimos en la formación del complejo iniciador) que ha sido producido por la acetil-CoA carboxilasa.

6. Cetoacil-ACP sintasa

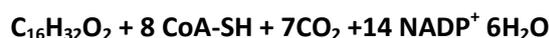
Mediante esta reacción, el acil-enzima transfiere el resto acilo al malonil-ACP con pérdida de CO_2 y con la consiguiente elongación de la cadena. El resultado es un cetoacil-ACP de dos

átomos más de carbono que aquél con que empezó el ciclo. El complejo queda así listo para un nuevo ciclo de elongación.

Cuando ha tenido lugar la fase de iniciación y siete ciclos de elongación, se desprende palmitato (C16) mediante la acción hidrolítica de la **tiolesterasa**.

6.4.6 Estequiometría y balance energético de la biosíntesis de ácidos grasos

De acuerdo con el esquema de síntesis presentado, la estequiometría del proceso es la siguiente (para síntesis de ácido palmítico):



Si consideramos la síntesis a partir de acetil-CoA, el proceso se puede representar así:



Téngase en cuenta que en esta última no aparece CO₂ porque primero se incorpora (acetil-CoA carboxilasa) y después se desprende (cetoacil-ACP sintasa). Igualmente, en lo que se refiere al agua, en la primera ecuación tendríamos 1 como reactivo y 7 como producto (lo cual da un balance de 6); mientras que en la segunda habría 8 como reactivo (de los cuales 7 para la hidrólisis de ATP) y 7 como producto (dando un balance de -1).

La segunda ecuación nos vale para calcular una aproximación al coste energético de la síntesis de una molécula de ácido palmítico. Acetil-CoA, al ser degradado por el ciclo de Krebs, supone la síntesis por fosforilación oxidativa de 10 ATP; NADPH, por su parte, supone la utilización de 1/12 de molécula de glucosa degradada por la vía pentosa-fosfato; suponiendo degradación aeróbica de la glucosa, esto supondría 32/12 = 2,67 equivalentes de ATP por cada NADPH. A esto hay que sumar los 7 ATP necesarios para la carboxilación de acetil-CoA. No se tiene en cuenta el enlace tioéster de alta energía de acetil-CoA ya que la producción de este último por descarboxilación oxidativa de piruvato no requiere ATP. En resumen,

Valor energético de Acetil-CoA	8 x 10 ATP	80 ATP
Valor energético de NADPH	14 x 2.67 ATP	37.33 ATP
ATP requerido en acetil-CoA carboxilasa	7 x 1 ATP	7 ATP
	Total	124.33 ATP

Por tanto, la síntesis de una molécula de ácido palmítico supone un coste energético equivalente a 124,33 ATP. Si comparamos esta cifra con los 107 ATP producidos por la degradación de ácido palmítico (ver sección 6.2.3) resulta que el almacenamiento de energía en forma de ácido palmítico se hace con una eficiencia de $100 \times 107/124,33 = 86 \%$, es decir, bastante alta.

6.4.7 Elongación ulterior de ácido palmítico

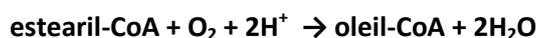
El proceso catalizado por la ácido graso sintasa normalmente se detiene al llegar a C16 (ác. palmítico) o a lo sumo a C18 (ác. esteárico). Sin embargo, encontramos ácidos grasos naturales de 20, 22 o 24 átomos de carbono (suelen ser excepcionales los de mayor longitud).

La elongación ulterior de ácido palmítico es un proceso que tiene lugar en el lado citosólico del retículo endoplásmico. El ácido palmítico necesita ser activado (ver sección 6.1.5) mediante un ácido graso: CoA ligasa a palmitil-CoA. La elongación se hace mediante un sistema enzimático mediante adición de residuos sucesivos de malonil-CoA catalizada por una serie de enzimas (**Ácido graso elongasas**) que catalizan las mismas reacciones que hemos visto en la biosíntesis, pero con la particularidad de que son enzimas aisladas, sin formar un complejo multienzimático. Operan sobre ácidos palmítico y esteárico y también sobre los poliinsaturados de la dieta.

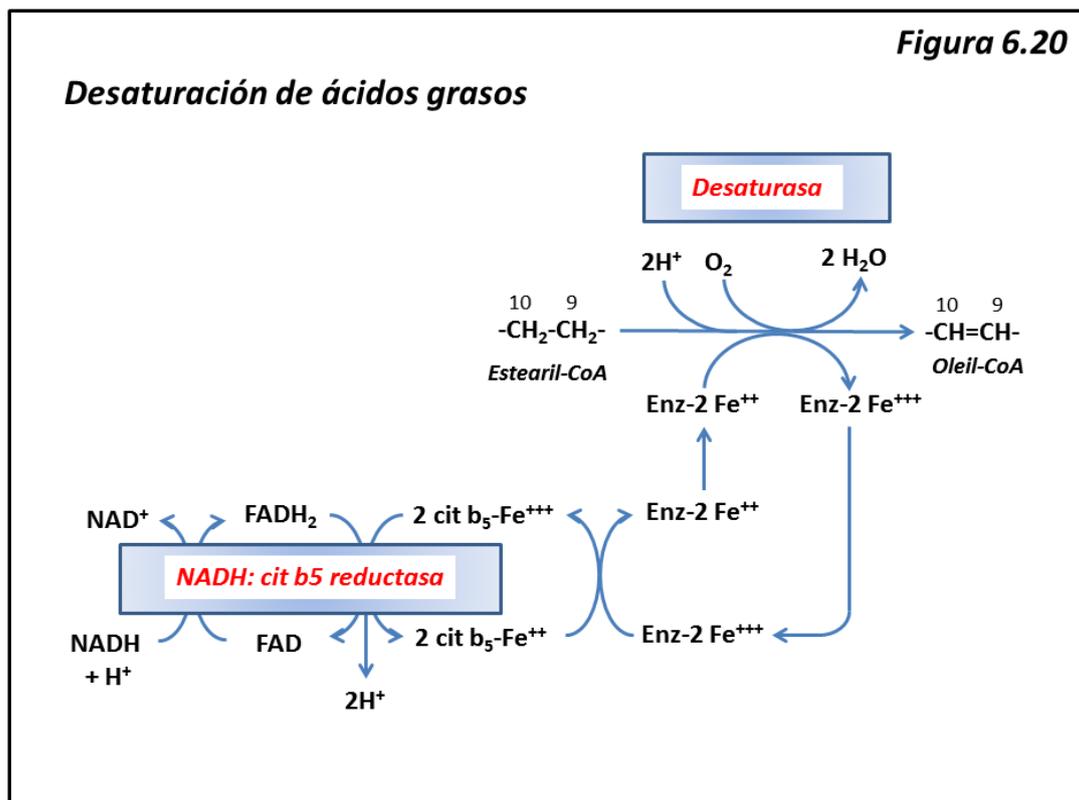
6.4.8 Biosíntesis de ácidos grasos insaturados

En eucariotas, los ácidos grasos insaturados se forman mediante un proceso de **desaturación aeróbica**, a expensas de oxígeno molecular O₂. En procariotas existen sistemas de desaturación anaeróbica. En mamíferos no es posible la desaturación de carbonos situados más allá de la posición 9; de esta manera, los principales insaturados producidos en mamíferos son palmitoleico (C16:1) y oleico (C18:1). Los poliinsaturados linoleico (9,12 todo-cis octadecadienoico, linolénico (9,12,15 todo-cis octadecatrienoico) y araquidónico (5,8,11,14 todo-cis eicosatetraenoico), requeridos en muchos procesos metabólicos, no pueden ser sintetizados. Por esa razón deben ingresar en la dieta como tales (ácidos grasos esenciales). En el caso del ácido araquidónico, puede formarse por elongación de los ácidos linoleico y linolénico.

La desaturación aeróbica del ácido esteárico en la posición 9-cis (para dar ácido oleico) cursa según la siguiente reacción global:



Esta reacción está catalizada por una **desaturasa (EC 1.14.19.1)** que contiene dos iones de hierro no hemínico (coordinados a residuos de histidina) y que introduce la insaturación en el ácido graso a expensas de oxígeno molecular: la forma reducida de la desaturasa (**figura 6.20**, Enz-2 Fe⁺⁺), previamente reducida es oxidada por el oxígeno. A su vez, la forma oxidada de la desaturasa (**figura 6.20**, Enz-2 Fe⁺⁺⁺) es reducida por un sistema enzimático constituido por (a) **NADH:citocromo b₅ reductasa (EC 1.6.2.2)** (un flavoproteína con **FAD** y (b) **citocromo b₅** (que puede estar aislado o formando parte de la desaturasa) (**figura 6.20**). Este transporte electrónico no está acoplado a la síntesis de ATP.



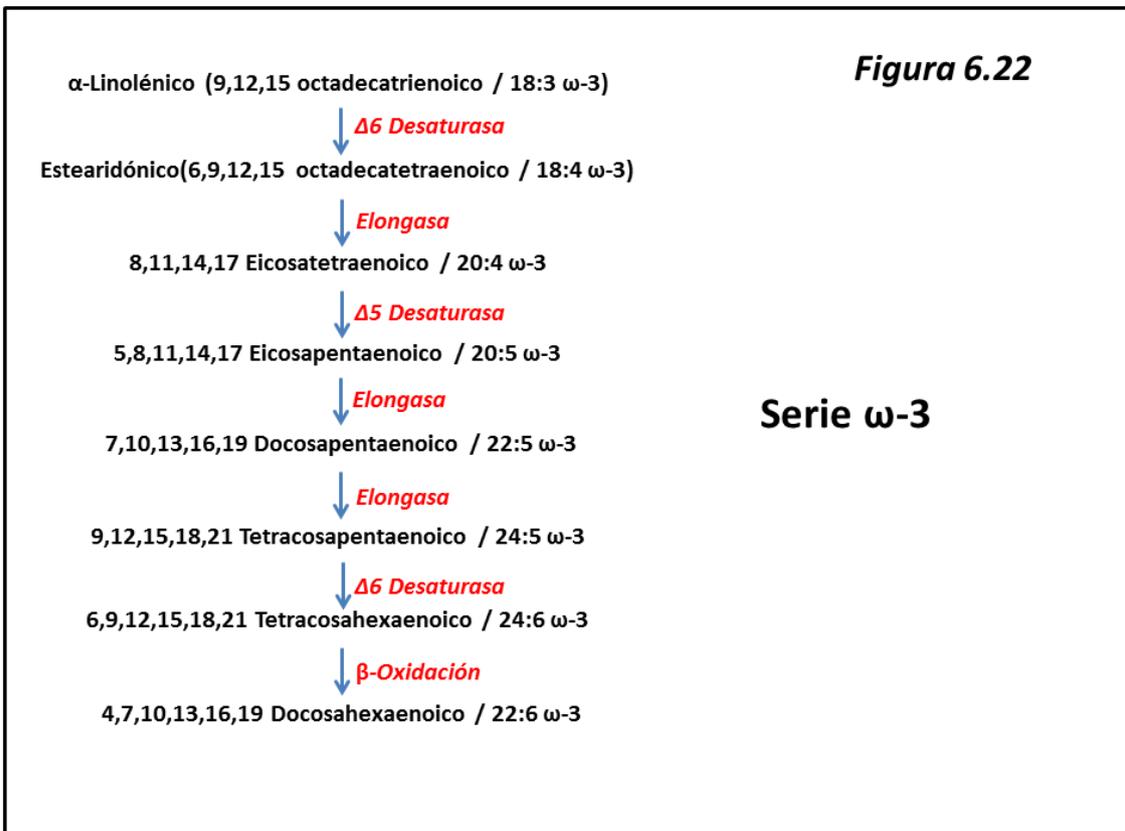
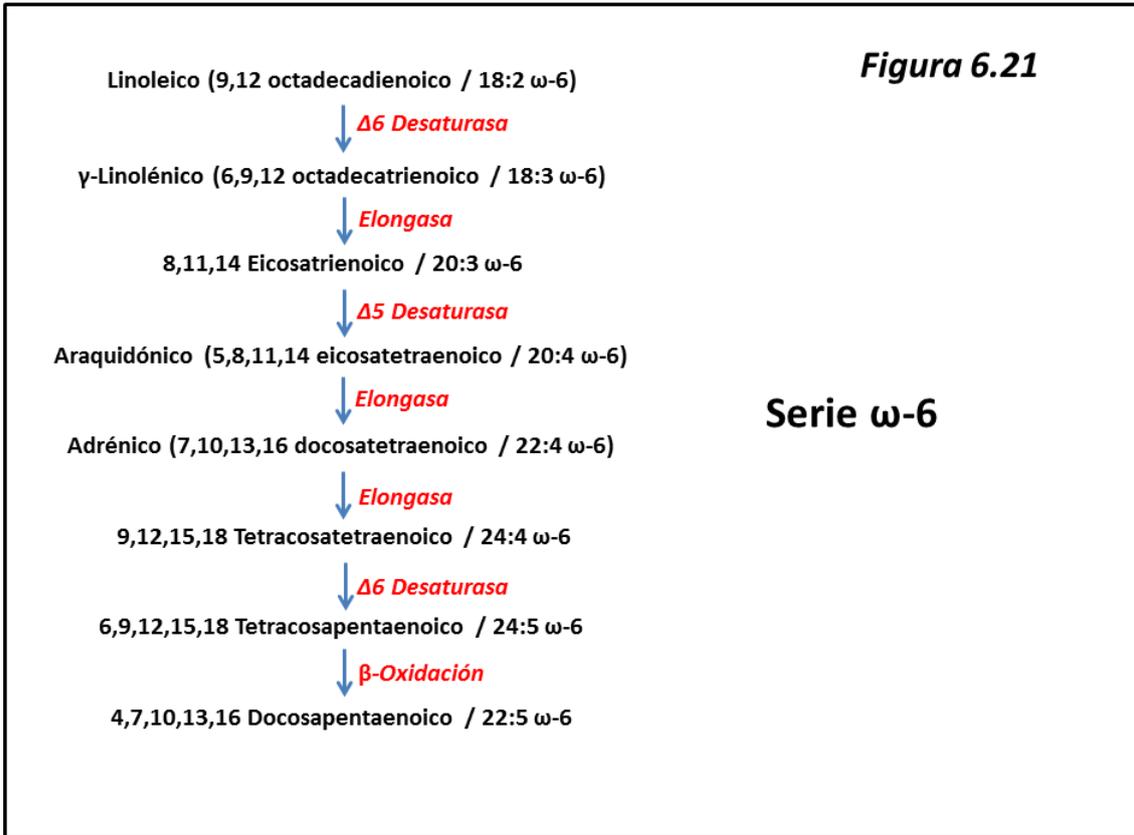
En los organismos animales no hay enzimas capaces de efectuar insaturaciones más allá de la posición ω -9 (también llamada n -9). Sin embargo, el metabolismo requiere la presencia de insaturaciones ω -6 y ω -3. Estos últimos deben necesariamente estar presentes en la dieta, por lo que reciben el nombre de **ácidos grasos esenciales**. En el organismo se producen a partir de los ácidos **linoleico** y **α -linolénico**, respectivamente. El resto de los ácidos ω -6 y ω -3 se producen por elongación de estos dos ácidos y la actuación de Δ^5 - y Δ^6 -desaturasas.

El ácido graso que da origen a la serie ω -6 es el **ácido linoleico** (cis-9,cis-12 octadecadienoico). Otros AGPI de la serie ω -6 son: γ -linolénico (6,9,12 todo-cis octadecatienoico), araquidónico (5,8,11,14 todo-cis eicosatetraenoico), adrénico (7,10,13,16 todo-cis docosatetraenoico) y docosapentaenoico (4,7,10,13,16 todo-cis docosapentaenoico). El ácido linoleico es abundante en todo tipo de aceites vegetales; los demás aparecen como componentes minoritarios de grasas y aceites animales, particularmente de origen marino. Su síntesis se resume en la **figura 6.21**.

La serie ω -3 se origina a partir del **ácido α -linolénico** (9,12,15 octadecatienoico) y se presenta en la **figura 6.22**. Otros AGPI ω -3 son: estearidónico (6,9,12,15 todo-cis octadecatetraenoico), eicosapentaenoico (5,8,11,14,17 todo-cis eicosapentaenoico), docosapentaenoico (7,10,13,16,19 docosapentaenoico) y docosahexaenoico (4,7,10,13,16,19 docosahexaenoico).

El ácido α -linolénico es un componente importante de aceites vegetales (en especial de soja), aunque siempre en menores proporciones que el ácido linoleico. Los demás aparecen como componentes de aceites animales, en particular marinos. Eicosapentaenoico y docosahexaenoico son muy importantes en la nutrición humana.

El ácido araquidónico, considerado antiguamente como esencial, no lo es, ya que aun perteneciendo a la serie ω -6, puede sintetizarse a partir del ácido linoleico.

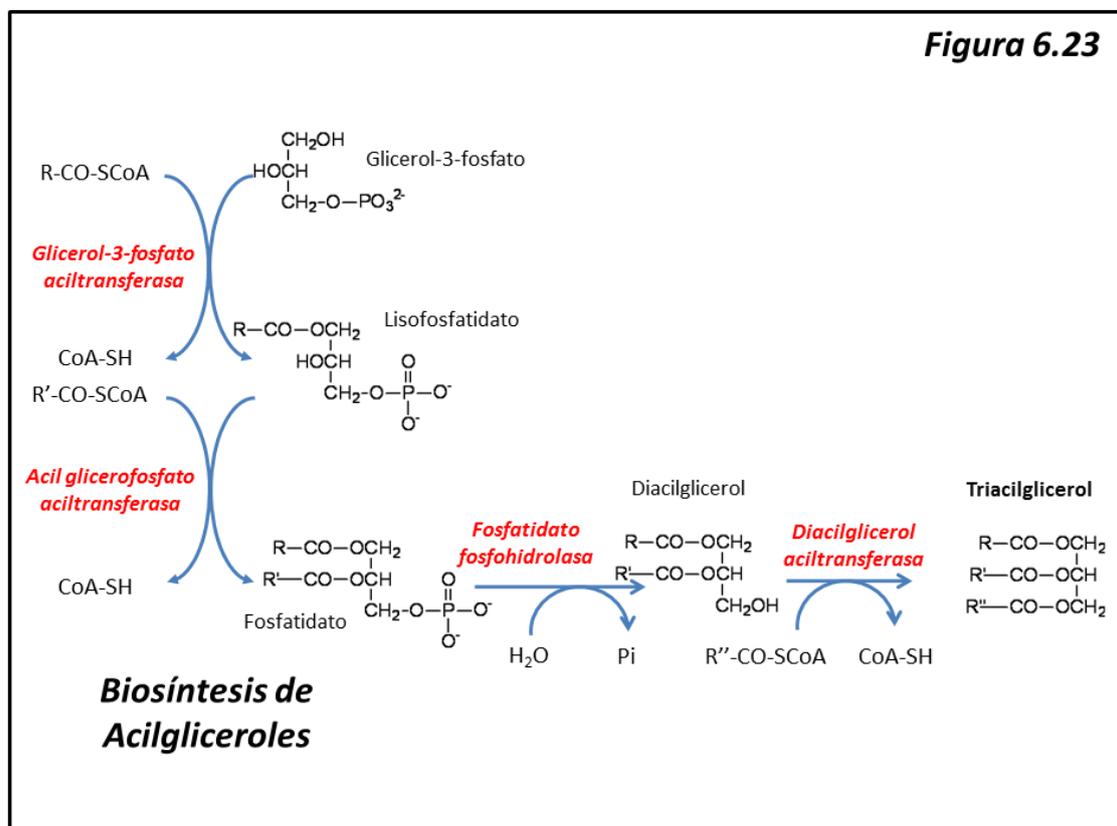


6.5 Biosíntesis de acilgliceroles, fosfolípidos y esfingolípidos

6.5.1 Biosíntesis de acilgliceroles

Los acilgliceroles son sintetizados sobre todo en el retículo endoplásmico. Hay al menos tres rutas de síntesis para los mismos; aquí nos centraremos únicamente en dos: Una, la que tiene lugar fundamentalmente en el hígado, glándula mamaria y tejido adiposo y otra, que es la predominante en las células de la mucosa intestinal que mencionamos en el proceso de absorción digestiva de lípidos (sección 6.1.3.1).

La ruta hepática parte de **sn-3-glicerolfosfato** (figura 6.23) que es acilado en la posición sn-1 por una **glicerofosfato aciltransferasa** (EC 2.3.1.15) con acil-CoA como donador de acilo, resultando un lisofosfolípido, **lisofosfatidato**.



A continuación una **acilglicerofosfato aciltransferasa** (EC 2.3.1.51) introduce otro acilo en la posición sn-2 de éste con un nuevo acil-CoA como donador, dando lugar a **fosfatidato** (anión del ácido fosfatídico). La hidrólisis del éster fosfórico en sn-3 por la **fosfatidato fosfohidrolasa** (EC 3.1.3.4) produce un **diacilglicerol** que por la acción de la **diacilglicerol aciltransferasa** (EC 2.3.1.20) queda acilado en la posición sn-3 dando lugar a un **triacilglicerol** o triglicérido.

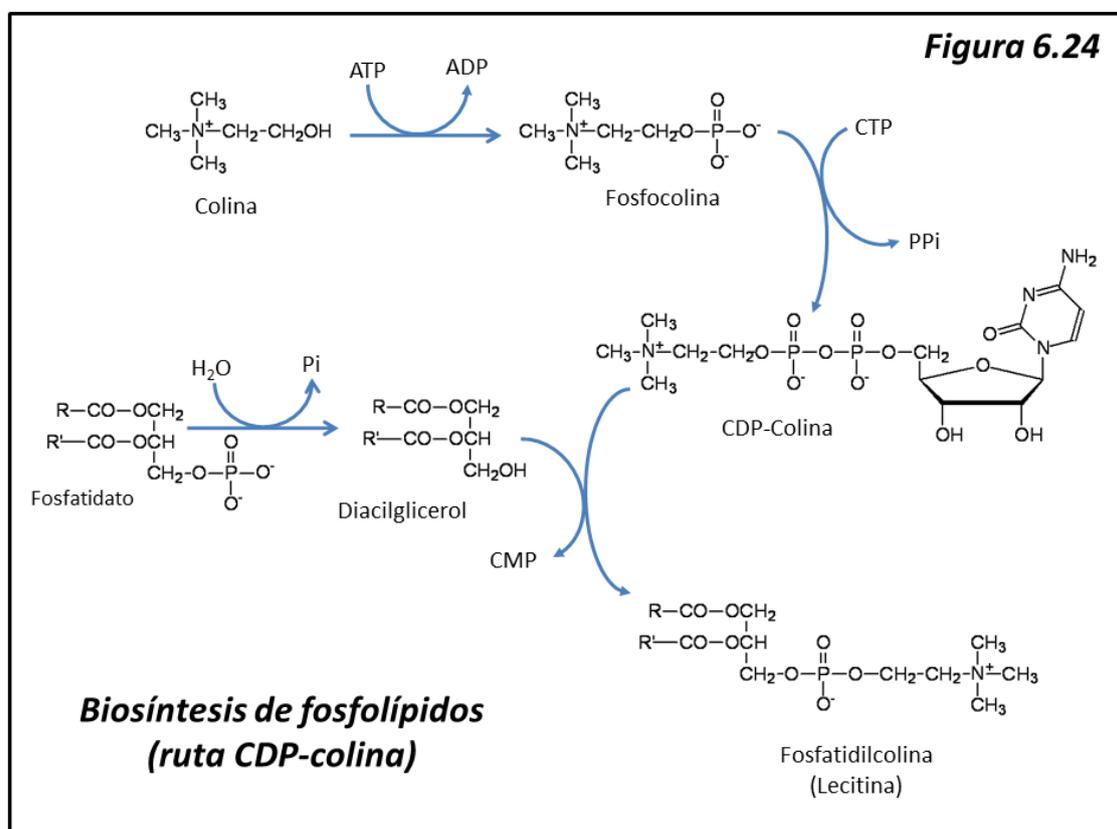
La ruta entérica comienza con ácidos grasos libres y sn-2 monoacilglicerol, que son los productos de la acción de la lipasa pancreática sobre los triacilgliceroles de la dieta y como tales son absorbidos. Los ácidos grasos son activados para formar acil-CoA's y el monoacilglicerol es esterificado en la posición sn-1 por una **Acil-CoA: monoacilglicerol aciltransferasa** dando un **sn-1,2 diacilglicerol** (y sn-2,3 diacilglicerol de forma minoritaria) que será nuevamente acilado en la posición sn-3 por la **acil-CoA: diacilglicerol aciltransferasa** (EC 2.3.1.20) dando un **triacilglicerol**.

6.5.2 Biosíntesis de fosfolípidos: Destinos del ácido fosfatídico

El ácido fosfatídico (fosfatidato en el medio intracelular) cumple un papel central en la síntesis de todo tipo de glicerolípidos. Podemos considerar dos rutas básicas en esta síntesis que parten del ácido fosfatídico. Por una parte, la **ruta CDP-colina** (o -etanolamina o -serina) llamada también **ruta Kennedy** (por su descubridor) en la que el ácido fosfatídico es previamente hidrolizado a diacilglicerol que se combinan con CDP-colina. La otra vía de biosíntesis es la llamada **ruta CDP-DAG** (citidin difosfato – diacilglicerol), en la que el ácido fosfatídico transfiere el diacilglicerol a CTP para formar CDP.diacilglicerol, y a partir de la cual se forman fosfatidil serina, fosfatidil etanolamina, fosfatidil colina, fosfatidil inositoles, fosfatidil glicerol y difosfatidil glicerol (cardiolipinas)

6.5.2.1 La ruta CDP-colina

La síntesis de fosfolípidos por la **ruta CDP-colina** (o ruta Kennedy) se presenta en la **figura 6.24**.

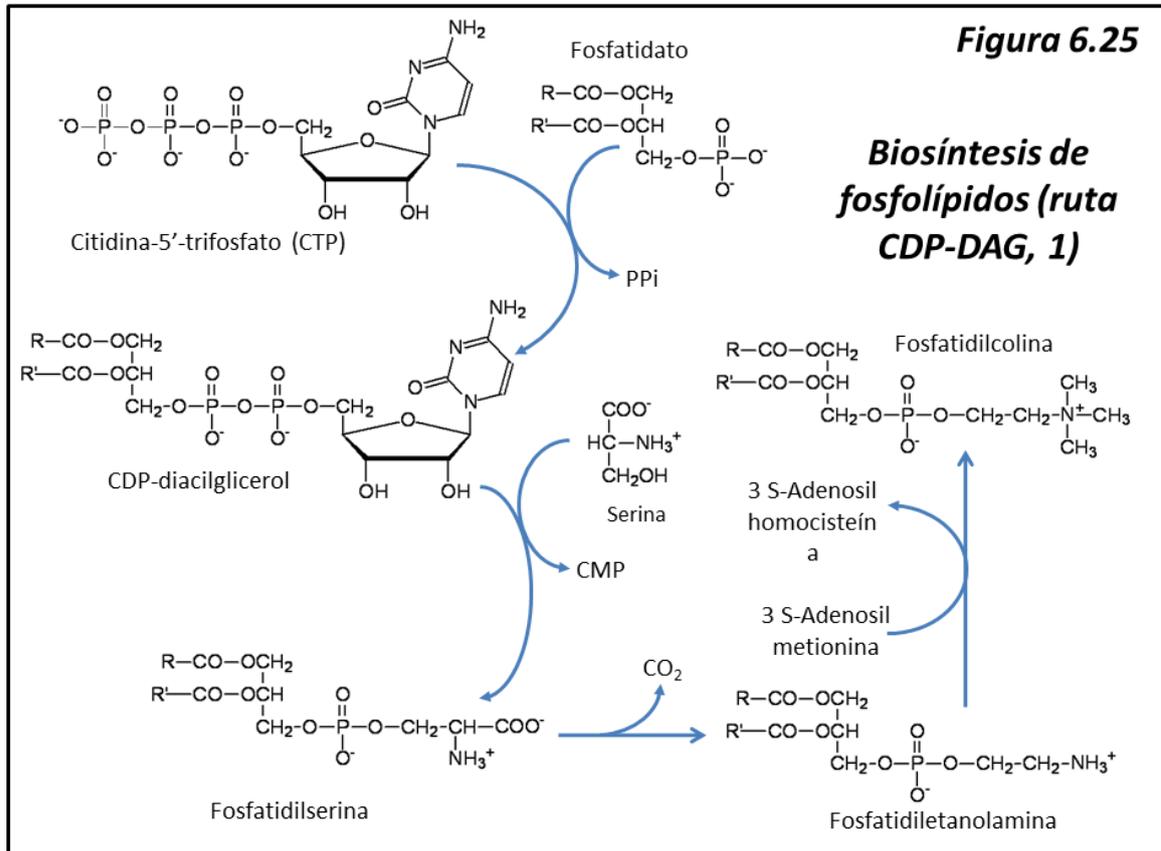


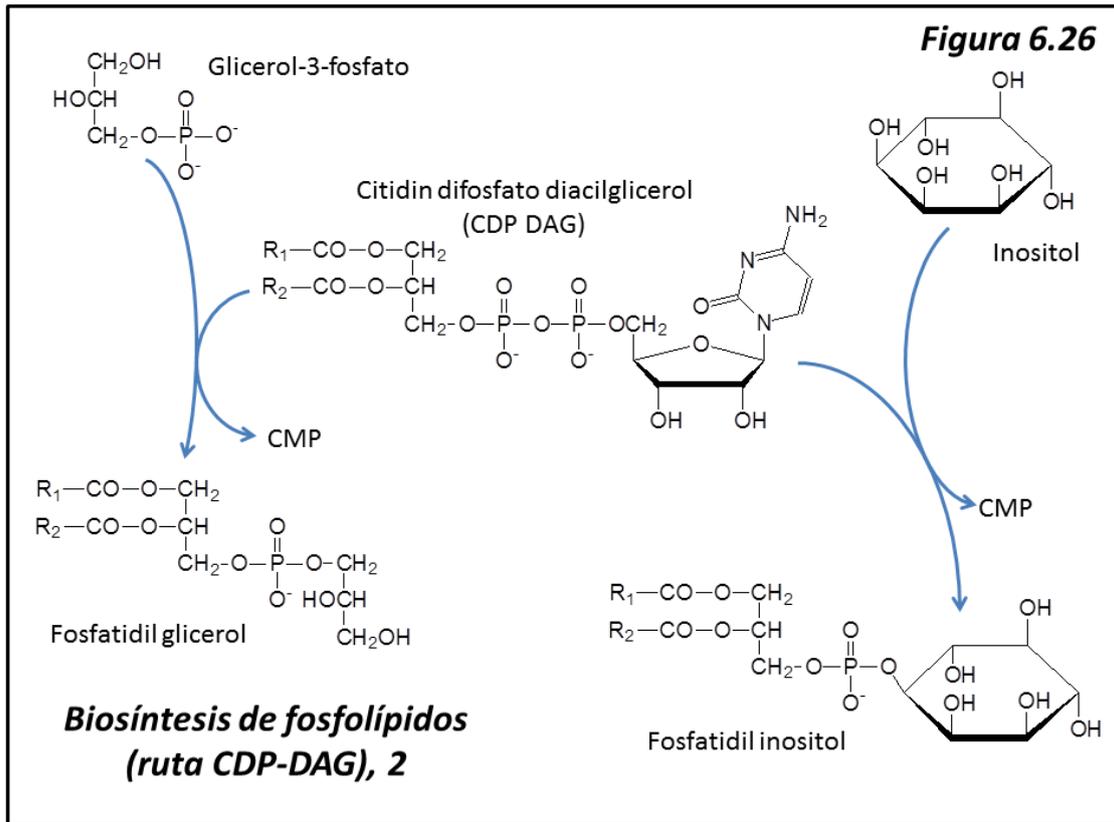
La **colina** (que no puede ser sintetizada por nuestro organismo) procedente de la dieta o del recambio metabólico de lípidos es fosforilada por una colina kinasasa dando lugar a **fosfocolina**. Esta fosfocolina reacciona con **CTP (citidin trifosfato)** dando el intermediario **CDP-colina (citidin difosfato colina)** y liberando pirofosfato inorgánico.

Por su parte, el **ácido fosfatídico** es atacado por la **fosfatidato fosfohidrolasa (EC 3.1.3.4)** que vimos en la síntesis de acilglicerol, dando un **diacilglicerol**. La reacción del diacilglicerol con **CDP-colina** da lugar a **fosfatidil colina (lecitina)** y CMP (citidin monofosfato). Un mecanismo parecido lleva a la síntesis de **fosfatidil etanolamina**, con intermediarios **etanolamina-fosfato** y **CDP-etanolamina**.

6.5.2.2 La ruta CDP-DAG (citidin difosfato diacilglicerol)

La ruta CDP-DAG se ilustra en la **figura 6.25**. La reacción de **ácido fosfatídico** con **CTP (citidina trifosfato)** produce un **CDP-diacilglicerol (CDP-DAG)**. Al reaccionar éste con el aminoácido **serina** da lugar a **fosfatidil serina** con liberación de **CMP**. La fosfatidil serina da lugar a **fosfatidil etanolamina** por descarboxilación con pérdida de CO_2 ; y ésta, después de tres metilaciones sucesivas con **S-adenosil metionina** como donador de metilos, da lugar a **fosfatidil colina**.



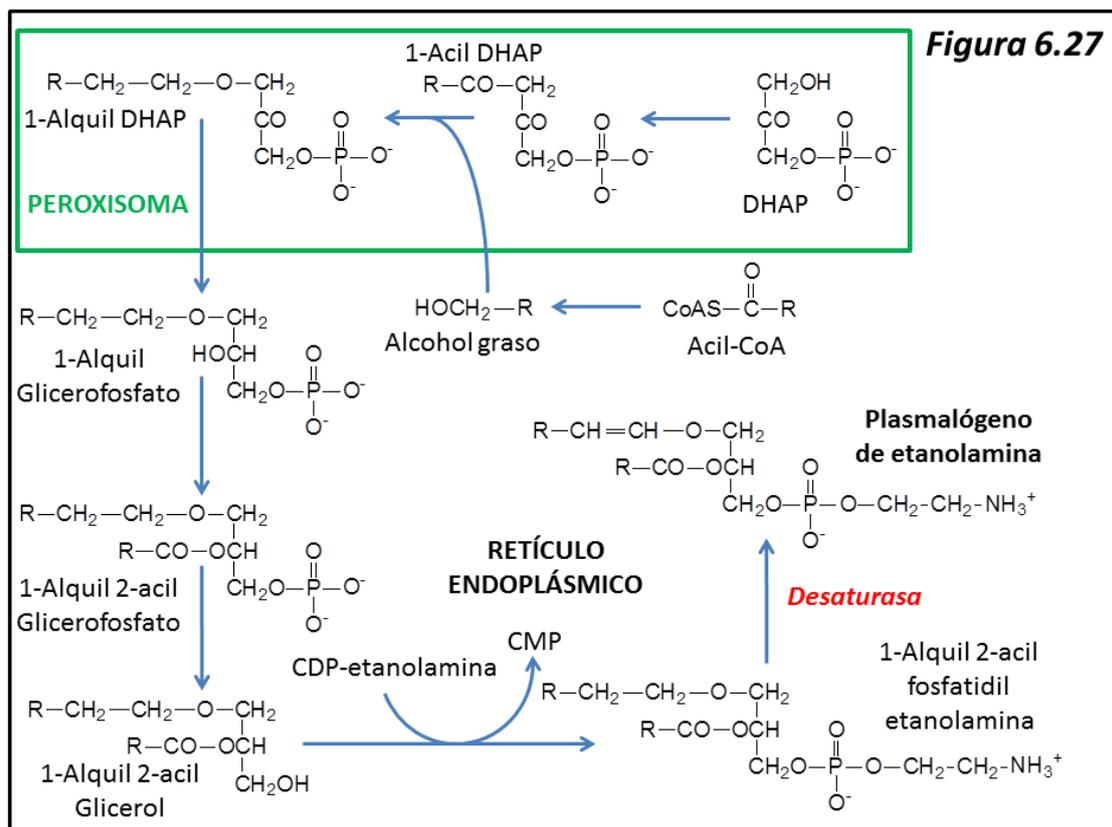


A través de esta ruta se sintetizan, además, muchos otros fosfolípidos. Así, los **fosfatidil gliceroles**, por reacción de **glicerol-3-fosfato** con **CDP-DAG**. La reacción de un fosfatidil glicerol con una nueva molécula de **CDP-DAG**, da lugar a los **difosfatidil gliceroles** o **cardiolipinas**. Igualmente, los **fosfatidil inositoles** se forman por reacción del **CDP-DAG** directamente con **inositol** (figura 6.26)

6.5.2.3 Biosíntesis de plasmalógenos

Los plasmalógenos son fosfolípidos en los que podemos encontrar enlaces éter en lugar de éster uniendo cadenas hidrocarbonadas al glicerol. Los más frecuentes son derivados de colina o etanolamina con una unión alquenil-éter en la posición sn-1 del glicerol. Son relativamente abundantes en las membranas del músculo cardíaco de mamíferos.

La formación de plasmalógenos tiene lugar en los peroxisomas y en el retículo endoplásmico, según los mecanismos de reacción que se muestran en la figura 6.27.



Las primeras reacciones de formación de plasmalógenos tienen lugar en el **peroxisoma**, a partir de **glicerona fosfato** (dihidroxiacetona fosfato, **DHAP**). Tras la acilación del grupo alcoholico, dando **1-acil-DHAP**, ésta intercambia el radical acil por un radical alquil éter procedente de una alcohol graso procedente del citoplasma, resultando un **1-alquil-DHAP**, que seguidamente pasa al citoplasma, teniendo lugar todas las reacciones ulteriores en el retículo endoplásmico.

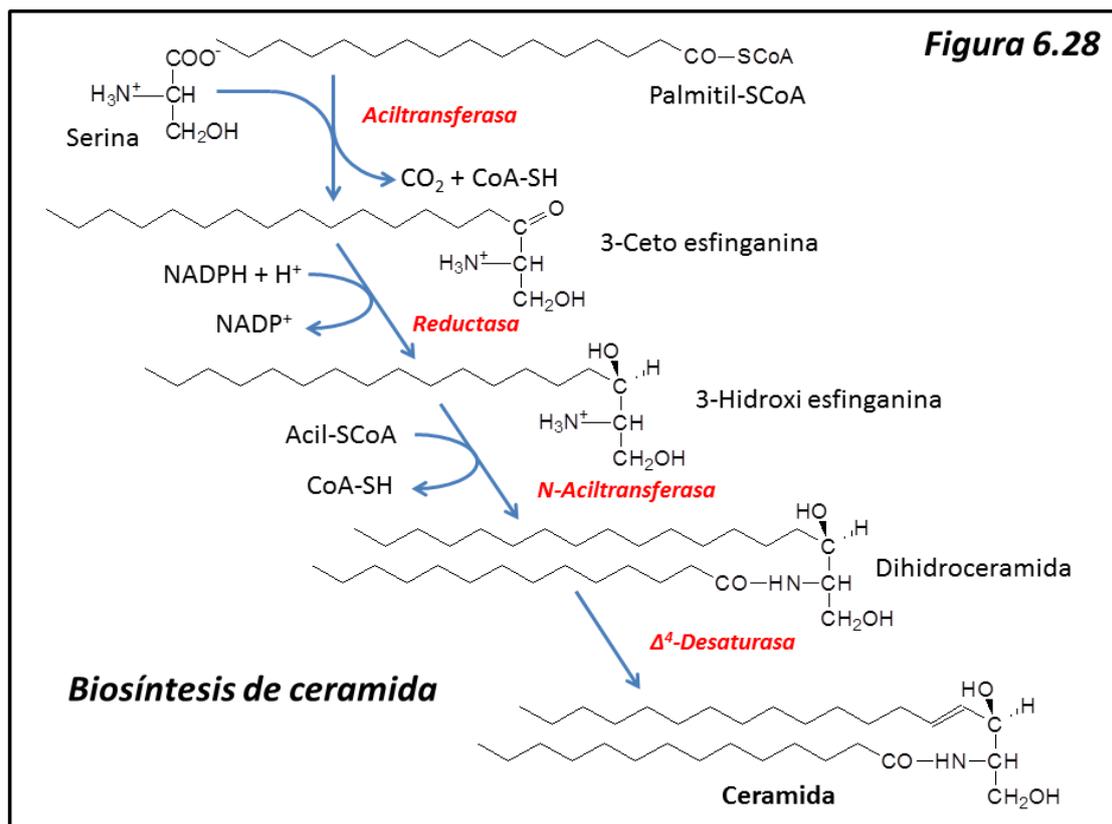
Alquil-DHAP a continuación es reducido en el carbono 2 a **sn-1 alquil glicerofosfato**, el cual es acilado en la posición sn-2 para dar **1-alquil 2-acil glicerofosfato**. Éste pierde el grupo fosfato por la acción de una **fosfohidrolasa** resultando **1-alquil 2-acil glicerol**. A continuación, el intermediario **CDP-etanolamina** (ver sección 6.5.2.1) dona el grupo fosfoetanolamina para formar **1-alquil 2-acil fosfatidil etanolamina**. La acción de una **1-desaturasa** produce el **plasmalógeno de etanolamina** (grupo 1-trans-alquenoil). Un mecanismo parecido lleva a los plasmalógenos de colina y de serina.

6.5.3 Biosíntesis de esfingolípidos

Los esfingolípidos se sintetizan a partir de una base esfingoide que generalmente es la esfingosina, la cual es N-acilada para formar una ceramida. El grupo hidroxilo de ésta se puede unir a grupos fosforados o a carbohidratos, resultando estructuras a veces altamente complejas.

6.5.3.1 Biosíntesis de ceramidas

La **figura 6.28** muestra la principal ruta de biosíntesis de ceramidas (aunque en estos compuestos es muy importante el nivel de reciclado que se obtiene por la degradación previa de estos lípidos).

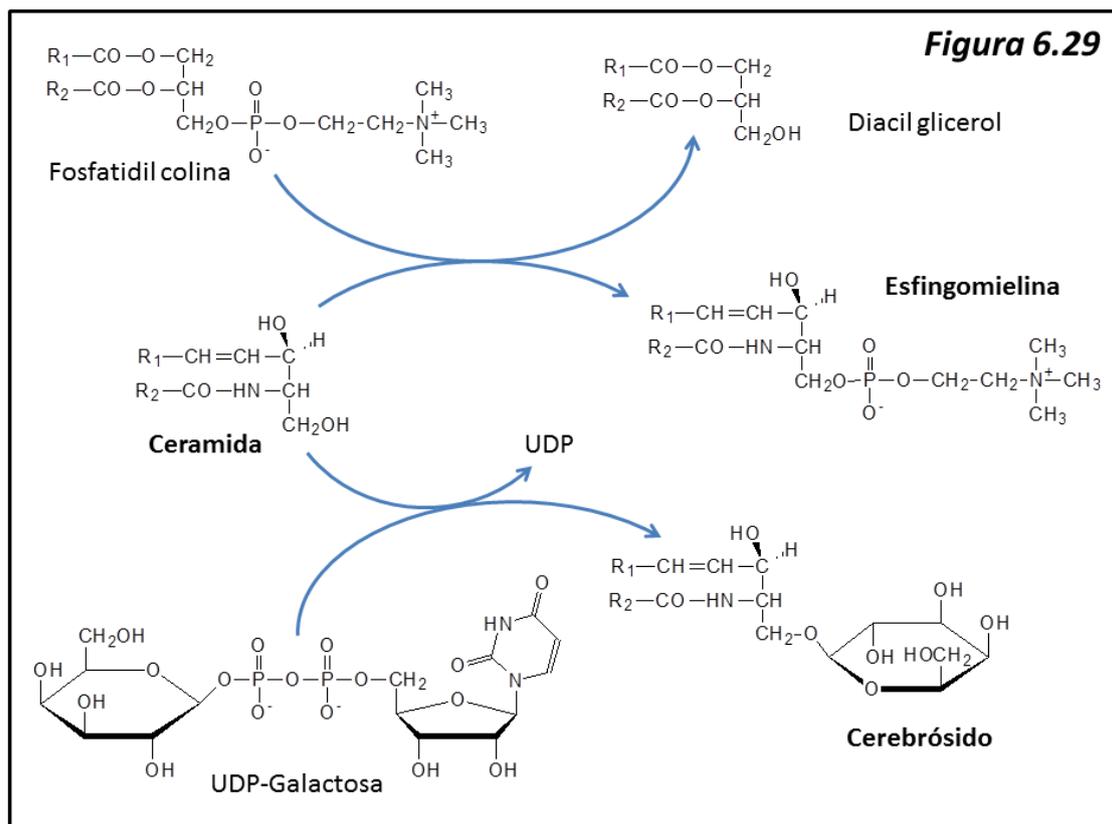


La reacción inicial es la transferencia de un residuo acilo (**palmitil-CoA**) al aminoácido **serina**, con pérdida de CO_2 , para dar **3-ceto esfinganina**. La reducción a expensas de NADPH de ésta rinde **3-hidroxi esfinganina**, la cual sufre una N-acilación por un acil-CoA para dar **dihidroceramida**. La acción de una Δ^4 -desaturasa produce la **ceramida**, que será el punto de partida para la síntesis ulterior de esfingolípidos.

6.5.3.2 Biosíntesis de esfingomielina y glicolípidos

La ceramida puede seguir dos rutas metabólicas que se ilustran en la **figura 6.29**. Por una parte, la ceramida puede intercambiar el grupo fosfocolina de una **fosfatidil colina** para dar **esfingomielina** y un **diacil glicerol**. De esta manera se sintetiza **esfingomielina**, uno de los principales componentes cuantitativos de las membranas eucarióticas.

Por otra parte, el grupo hidroxilo libre de la ceramida puede glicosilarse a partir de derivados uridindifosfato. En el caso de la UDP-galactosa, resulta la estructura de **cerebrósido (β -galactosil ceramida)**, uno de los lípidos más abundantes en el tejido nervioso. La adición sucesiva de residuos glicosil por parte de UDP-derivados da lugar a las diferentes series de glicolípidos (**lactósidos, globósidos, gangliósidos, etc.**).



6.6 Biosíntesis de eicosanoides

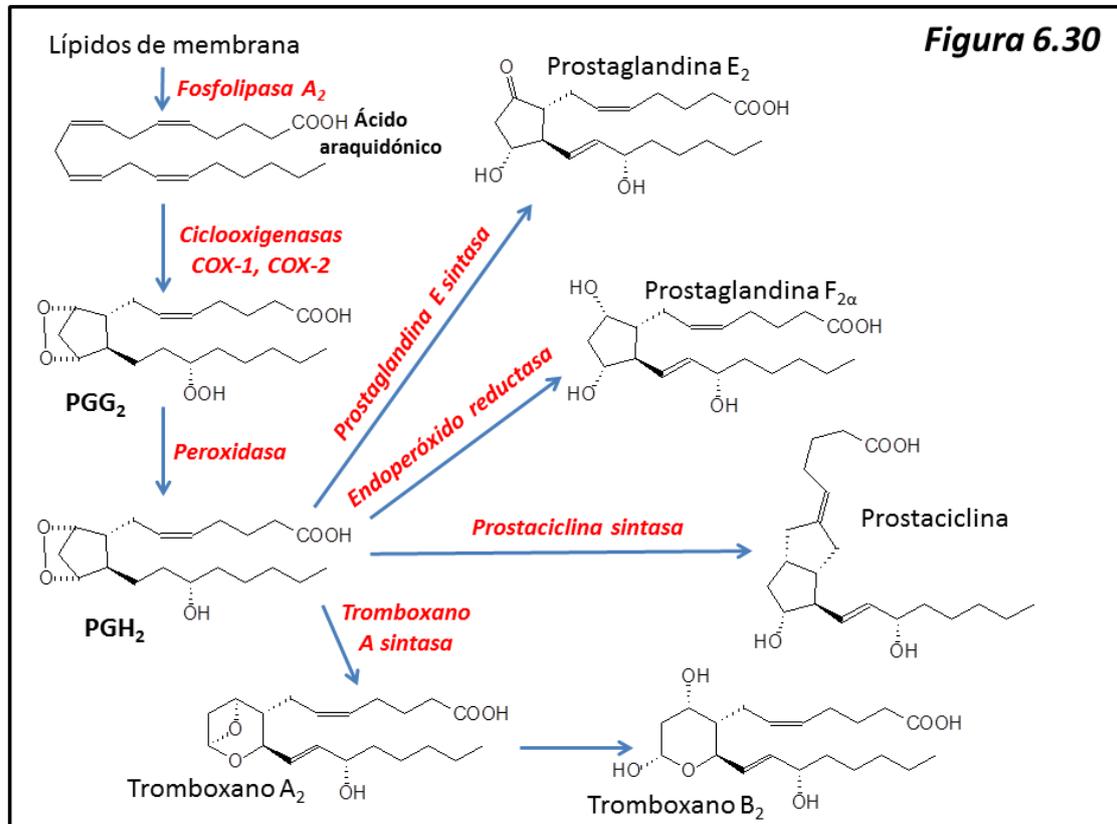
Los eicosanoides son derivados de **ácido araquidónico** (5,8,11,14 todo cis eicosatetraenoico) que tienen una enorme importancia como mediadores locales de multitud de respuestas, entre las que destacan las reacciones alérgicas e inflamatorias. Son de tres tipos generales: **prostaglandinas**, **tromboxanos** y **leucotrienos**; pero hoy día se reconocen muchos otros derivados eicosanoides, como los isoprostanos, lipoxinas, resolvinas, protectinas y oxilipinas vegetales, cuya discusión quedaría fuera de contexto en esta obra.

Siendo el ácido araquidónico el principal precursor de los eicosanoides, éstos pueden también derivar del **8,11,14 todo-cis eicosatrienoico** (dihomo- γ -linolénico) y **5,8,11,14,17 todo-cis eicosapentaenoico**. También podemos mencionar que un derivado importante del ácido araquidónico es la N-araquidonoil etanolamina o **anandamida**, el principal cannabinoide endógeno (es decir, moléculas que ejercen la misma acción que el tetrahidrocannabinol y otras drogas cannabinoides).

El ácido araquidónico se libera a partir de lípidos de membrana por acción de la **fosfolipasa A₂**. Son dos las actividades enzimáticas que operan sobre el ácido araquidónico: las **ciclooxigenasas** y las **lipooxigenasas**.

6.6.1 Ciclooxigenasas (EC 1.14.99.1)

La acción de estas enzimas sobre el ácido araquidónico (figura 6.30) produce, en primer lugar, el endoperóxido PGG_2 que por acción de una peroxidasa da lugar al endoperóxido PGH_2 . Las transformaciones posteriores de éste dan lugar a las prostaglandinas, prostacilinas y tromboxanos.



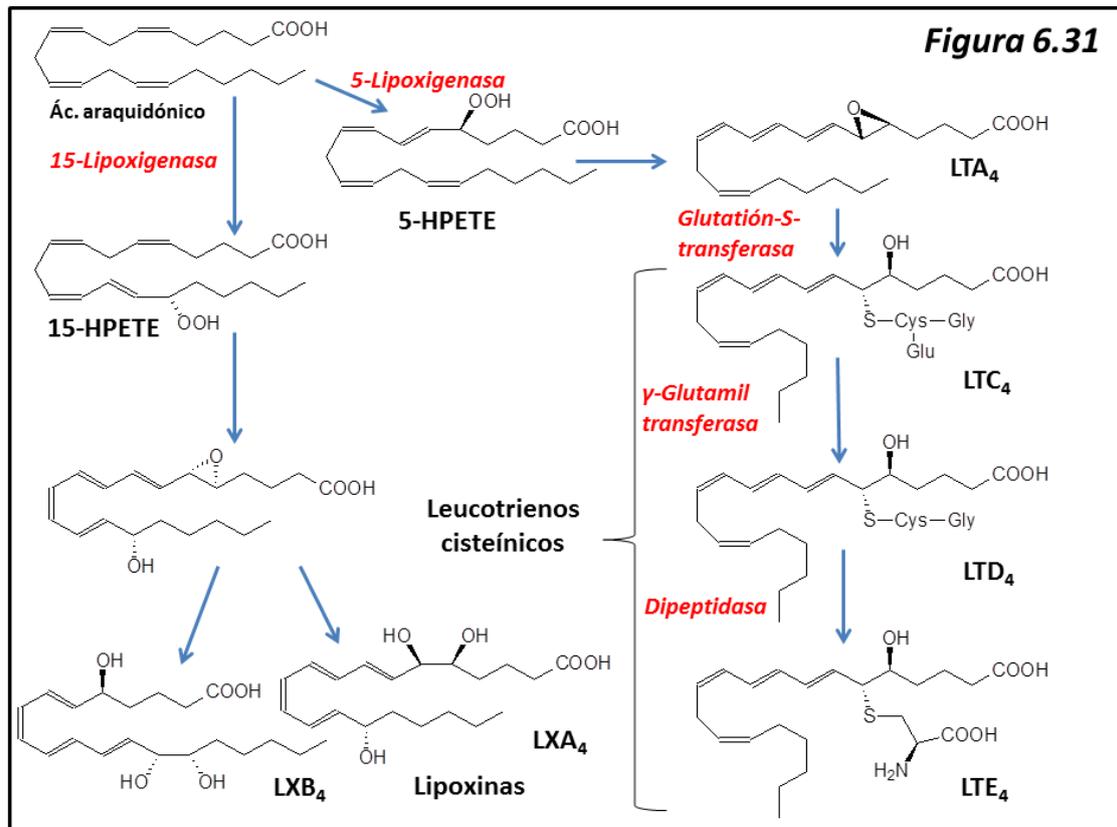
Se conocen dos tipos de ciclooxigenasa, llamadas COX-1 y COX-2. La primera está presente en todos los tejidos a un nivel constante, mientras que la segunda es una enzima inducible, cuya concentración aumenta ante circunstancias productoras de reacciones inflamatorias. Se expresa principalmente en células mediadoras de estas reacciones, como macrófagos y leucocitos polimorfonucleares. Ambas ciclooxigenasas pueden ser inhibidas por antiinflamatorios no esteroideos, como los salicilatos (aspirina) y el ibuprofeno.

La vida media de los endoperóxidos (PGG_2 y PGH_2) es muy corta y rápidamente, a través de reacciones a veces muy complejas, dan lugar a formas más estables de eicosanoides. Mencionaremos únicamente la prostaglandina E_2 , la prostaglandina $\text{F}_{2\alpha}$, prostaciclina (o prostaglandina I_2) y los tromboxanos A_2 y B_2 . Las acciones fisiológicas de todos estos compuestos son muy complejas y tienen que ver normalmente con la reacción inflamatoria y sobre la musculatura lisa. Una acción característica de los tromboxanos es la inhibición de la agregación plaquetaria.

6.6.2 Lipooxigenasas (EC 1.13.11.x)

La otra ruta biosintética de eicosanoides, peor conocida que la anterior, es la catalizada por las lipooxigenasas. La acción de estas enzimas produce derivados del tipo **hidroperoxi eicosatetraenoico (HPETE)** e hidroxieicosatetraenoico (HETE) de los que derivan multitud de compuestos eicosanoides, particularmente los **leucotrienos** y las **lipoxinas** (figura 6.31). Se

conocen varias lipooxigenasas, con los nombres de LOX-5, LOX-8, LOX-12 y LOX-15 (entre otras).



Así, la acción de la 5-lipooxigenasa produce el 5-HPETE, del cual deriva el leucotrieno LTA₄ de vida extraordinariamente corta (unos pocos segundos) que a su vez da lugar a los **leucotrienos cisteínicos** (LTC₄, LTD₄ y LTE₄) mediante conjugación al tripéptido glutatión reducido (GSH), el leucotrieno LTB₄ y las **lipoxinas** LXA₄ y LXB₄ (estas dos últimas vías no se muestran en la figura). La 15-lipooxigenasa, a su vez, da lugar al 15-HPETE, precursor de las lipoxinas LXA₄ y LXB₄.

Los leucotrienos son también mediadores del proceso inflamatorio, favoreciendo la migración de macrófagos y polimorfonucleares hacia el foco inflamatorio, así como mediadores de procesos alérgicos (como el asma) y anafilácticos. Su síntesis se desencadena a través de muchas señales químicas, como por ejemplo las citoquinas.

Las lipoxinas, por su parte, son eicosanoides que al parecer contrarrestan las acciones de las prostaglandinas y los leucotrienos. La acción de los salicilatos (como la aspirina, por ejemplo) no sólo consiste en inhibición de las ciclooxigenasas, como hemos visto, sino también, al parecer, en la activación de la vía de biosíntesis de lipoxinas.

6.7 Biosíntesis de colesterol y lípidos poliprenoides

6.7.1 Generalidades

La biosíntesis de colesterol cursa a través de una vía que es común a otros compuestos poliprenoides (vitaminas liposolubles, carotenoides, sustituyentes de grupo hemo, multitud de productos naturales, etc.). Nosotros nos centraremos en la biosíntesis de colesterol, vía propia de los organismos animales, y en las transformaciones posteriores que experimenta el colesterol para producir hormonas esteroideas, calciferoles, sales biliares y otras biomoléculas de interés en dichos organismos.

La biosíntesis de colesterol se lleva cabo mediante la condensación de unidades prenoideas, de cinco átomos de carbono. Desde los comienzos del marcaje radioactivo se sabe que en último término el colesterol deriva de acetil-CoA a través de una vía biosintética citoplásmica. Esta vía puede resumirse así:

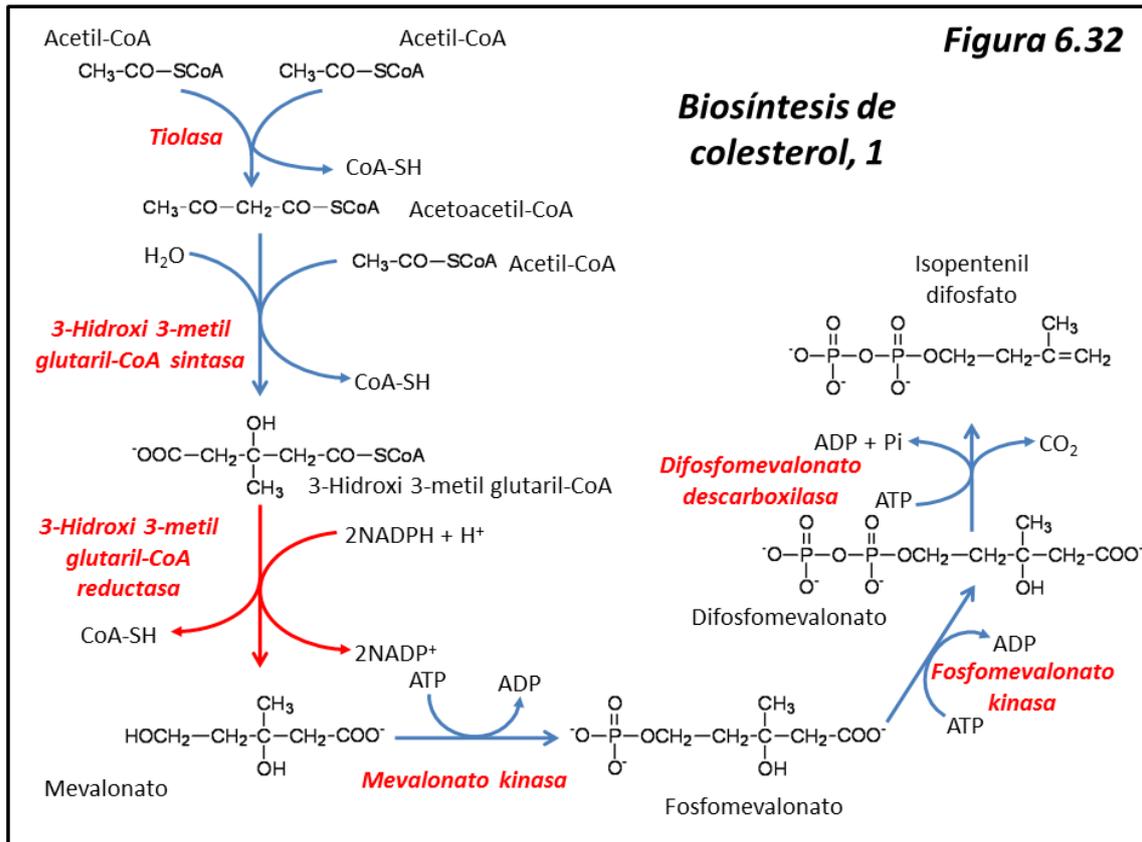
Acetil-CoA (C2) → Unidades isoprenoides (C5) → Escualeno (C30) → Colesterol (C27)

Como veremos, las primeras reacciones de la síntesis son análogas a las de la cetogénesis, con la importante salvedad de que mientras ésta es una vía mitocondrial, la biosíntesis de colesterol es citoplásmica. Es una vía que consume poder reductor (en forma de NADPH) y energía libre química en forma de ATP. El patrón de regulación de la misma, como veremos, guarda similitudes (aunque también diferencias) con el de la síntesis de ácidos grasos. Por otra parte, dada la importancia del colesterol en las enfermedades cardiovasculares, veremos que se trata de una vía muy estudiada desde el punto de vista farmacológico, pues la síntesis endógena de colesterol contribuye en gran medida, casi más que la dieta, a los niveles en sangre de este compuesto, que son un factor de riesgo en el desarrollo de dichas enfermedades.

A efectos de su estudio, dividiremos la síntesis de colesterol en tres fases: (1) Formación de unidades prenoideas; (2) Condensación de unidades prenoideas; (3) Ciclización.

6.7.2 Formación de unidades prenoideas

La **figura 6.32** muestra la formación de unidades prenoideas a través de 3 moléculas de acetil-CoA. Como ya hemos visto, son reacciones análogas a las de formación de cuerpos cetónicos, con la salvedad de su localización citoplásmica.

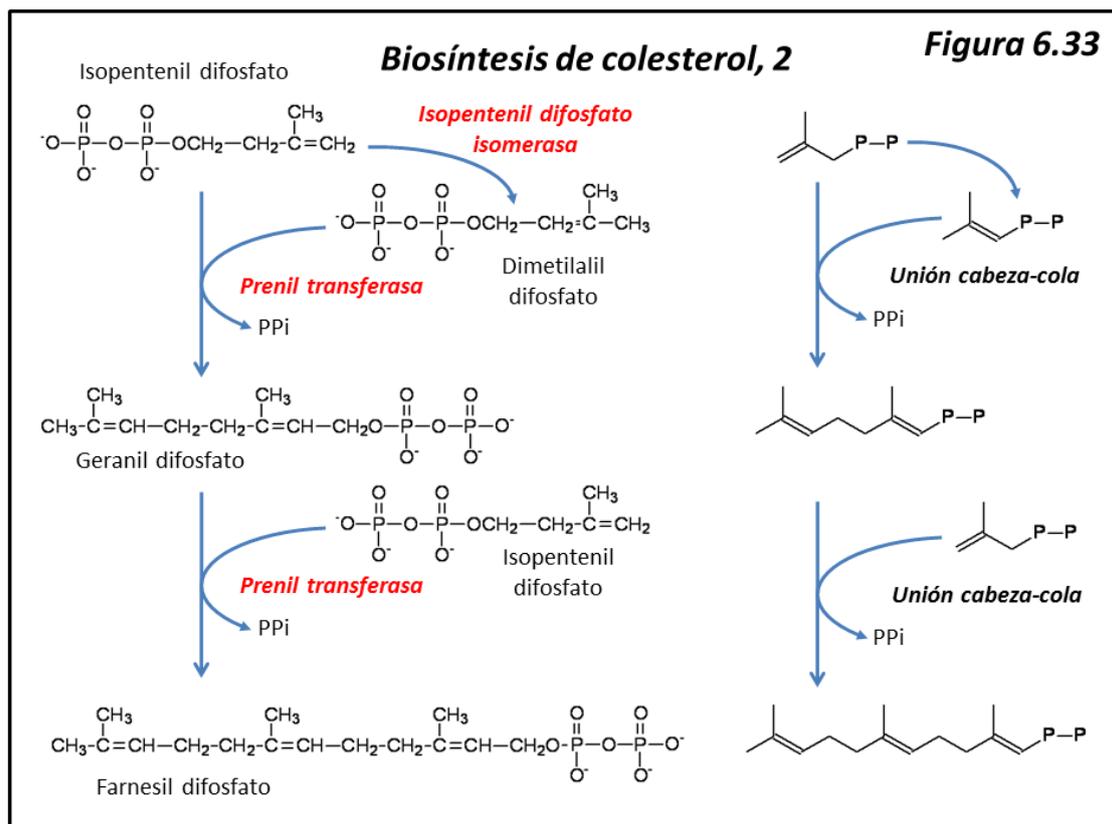


La acción de la enzima **tiolasa (EC 2.3.1.9)** produce la unión de dos moléculas de acetil-CoA para dar **acetoacetil-CoA** liberándose CoA. A éste intermediario se une una nueva molécula de acetil-CoA con incorporación de una molécula de agua y liberación de CoA para dar **3-hidroxi 3-metilglutaril-CoA (HMGCoA)**, en un proceso catalizado por la **3-hidroxi 3-metilglutaril-CoA sintasa (EC 2.3.3.10)**.

La siguiente reacción es ya el primer paso comprometido (específico) de la biosíntesis de colesterol. Consiste en la reducción a expensas de NADPH del 3-hidroxi 3-metilglutaril-CoA para dar **mevalonato**, en una reacción catalizada por la **3-hidroxi 3-metilglutaril CoA reductasa (HMGCoA reductasa, EC 1.1.1.88)**. Ésta es la enzima limitante de la vía biosintética, y está fuertemente regulada, como veremos, por modificaciones covalentes (fosforilación) y mecanismos transcripcionales.

El **mevalonato** forma sucesivamente derivados fosforilados a expensas de ATP; en primer lugar, **fosfomevalonato (mevalonato kinasa, EC 2.7.1.36)** y a continuación, **difosfomevalonato (fosfomevalonato kinasa, EC 2.7.4.2)**. Éste es a continuación descarboxilado en una reacción dependiente de ATP, con pérdida de CO_2 , dando lugar a **isopentenil difosfato**, siendo esta reacción catalizada por la **difosfomevalonato descarboxilasa (EC 4.1.1.33)**. Tenemos así formada la primera unidad prenoide del proceso de biosíntesis.

La segunda unidad prenoide se forma por isomerización de isopentenil difosfato dando **dimetilalil difosfato (figura 6.33)** mediante la **isopentenil difosfato isomerasa (EC 5.3.3.2)**.

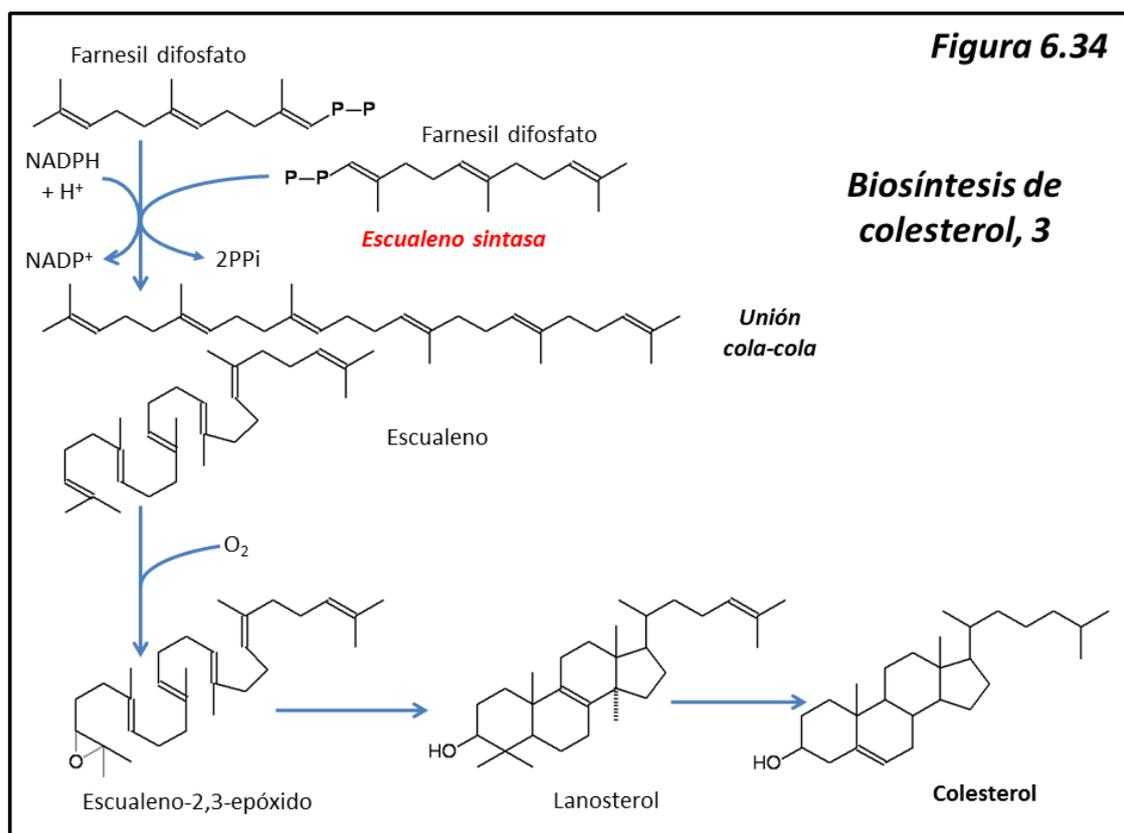


6.7.3 Condensación de unidades prenoides

El proceso de condensación se ilustra en la **figura 6.33**. Una primera condensación tiene lugar entre isopentenil difosfato y dimetilalil difosfato (unión cabeza-cola, ver figura) para dar **geranil difosfato** (diprenoide, C10) con liberación de **pirofosfato inorgánico (PPi)** catalizada por la **prenil transferasa (EC 2.5.1.1)**. En ésta y en las sucesivas condensaciones en las que se produce pirofosfato, la hidrólisis ulterior de éste por pirofosfatasas inorgánicas favorece la reacción de condensación.

Geranil difosfato se condensa con una nueva unidad de isopentenil difosfato, en unión cabeza-cola, dando lugar a un triprenoide (C15), **farnesil difosfato**, en una reacción también catalizada por la **prenil transferasa**.

En la siguiente reacción, catalizada por la **escualeno sintasa (EC 2.5.1.21)** (**figura 6.34**), dos moléculas de farnesil difosfato se condensan (en unión cola-cola) con NADPH como agente reductor, para dar lugar a **escualeno**, un hexaprenoide (C30). Al igual que en las condensaciones anteriores, la hidrólisis de pirofosfato favorece la reacción en el sentido en el que se ha descrito.



6.7.4 Ciclización

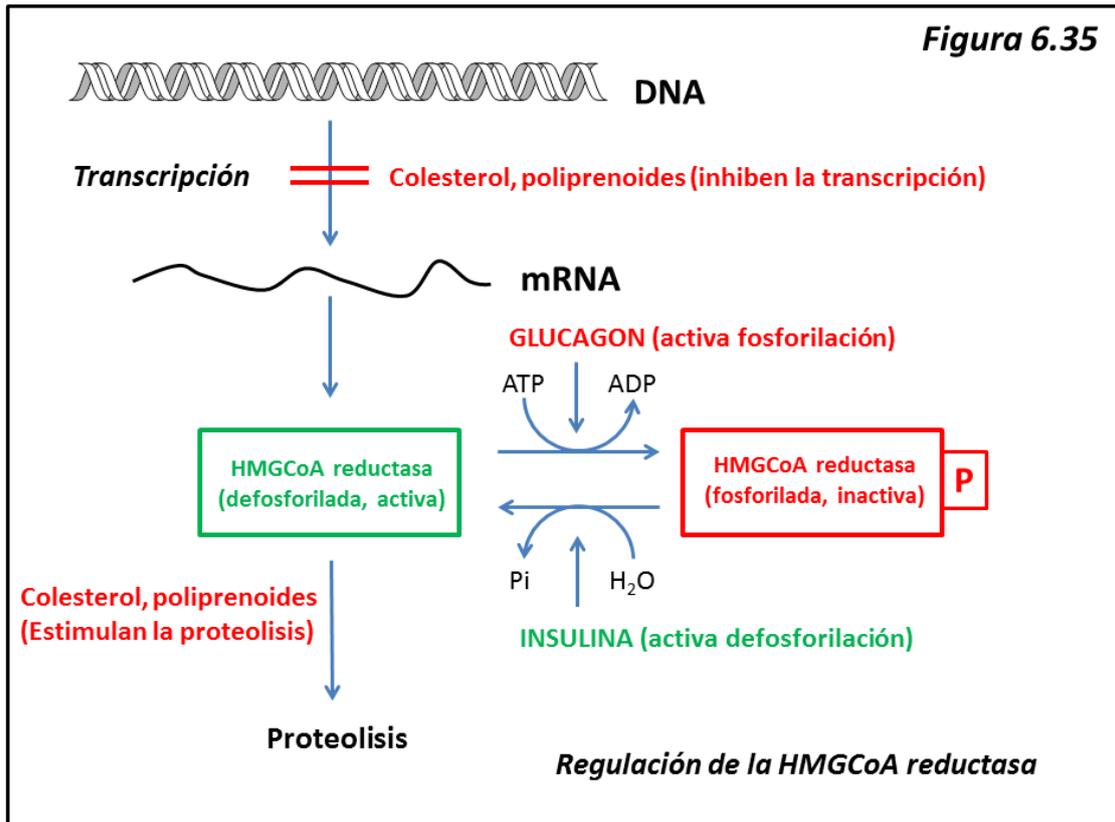
El proceso de ciclización del escualeno para dar colesterol (figura 6.34) es una ruta compleja que cursa con adición de oxígeno (el que será grupo 3-hidroxi del colesterol) y con lanosterol (C30) como intermediario. De éste al colesterol (C27) hay pérdida de tres grupos metilo y la reducción de dos dobles enlaces.

6.7.5 Regulación de la biosíntesis de colesterol

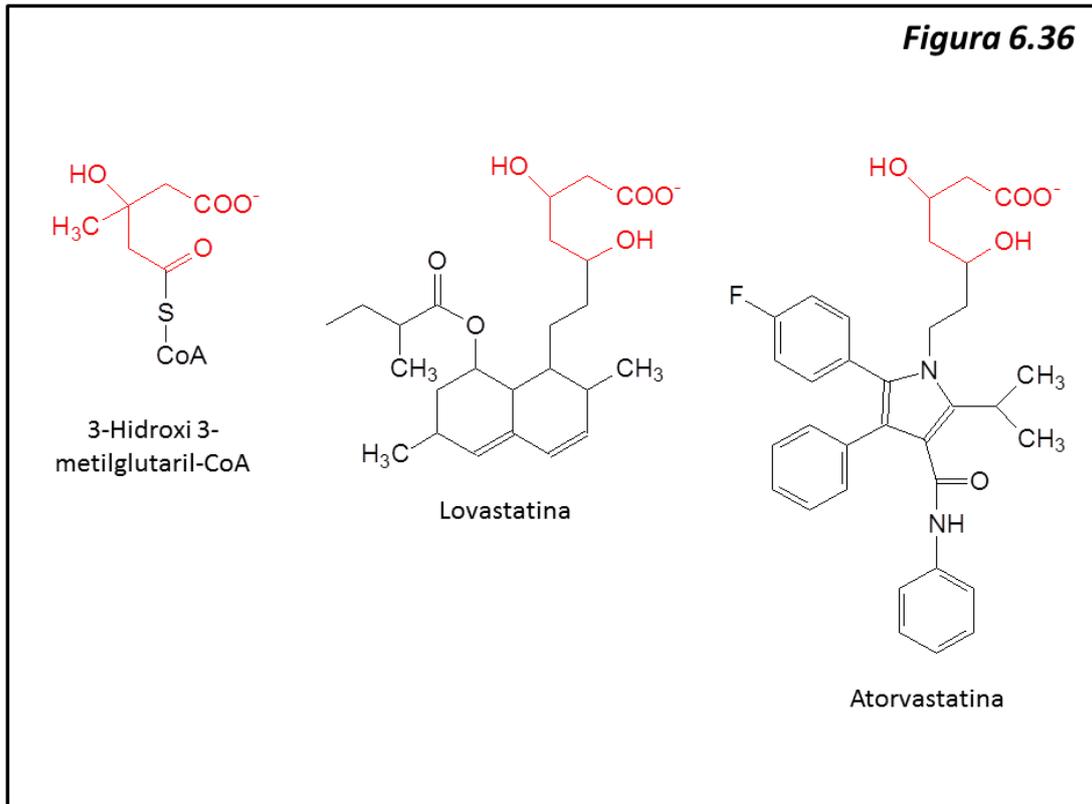
El principal punto de regulación de la biosíntesis de colesterol es la **3-hidroxi 3-metilglutaril-CoA reductasa (HMGCoA reductasa)**, que es el primer paso comprometido en la biosíntesis de colesterol (figura 6.35).

La enzima está sometida a una regulación covalente por fosforilación, de manera que la enzima fosforilada es inactiva mientras que la defosforilada es activa. Hormonas como el glucagon activan a una protein quinasa anómala, dependiente de AMP, e inactivan por tanto la enzima; así, la elevación intracelular de AMP, que indica carencia de ATP, es una señal para la fosforilación (y por tanto, inactivación) de la misma. La insulina, por el contrario, al activar a las protein fosfatasas, es una influencia activadora.

La síntesis y degradación de la HMGCoA reductasa están asimismo sometidas a regulación. El colesterol y otros isoprenoides no esteroideos, actuando sobre los **elementos de respuesta a esteroideos (SRE)** presentes en el promotor del gen, inhiben la transcripción del mRNA de la HMGCoA reductasa y estimulan la proteólisis de la misma.



Hoy día se emplean ampliamente los fármacos conocidos como **estatinas** (lovastatina, simvastatina, prevastatina) en la prevención de niveles altos de colesterol (con el consiguiente riesgo cardiovascular). Las estatinas actúan mediante un mecanismo competitivo sobre la HMGCoA reductasa dado su parecido estructural con el mevalonato. Una de ellas, la atorvastatina, es un análogo de estado de transición (figura 6.36).



6.7.6 Catabolismo del colesterol: ácidos biliares

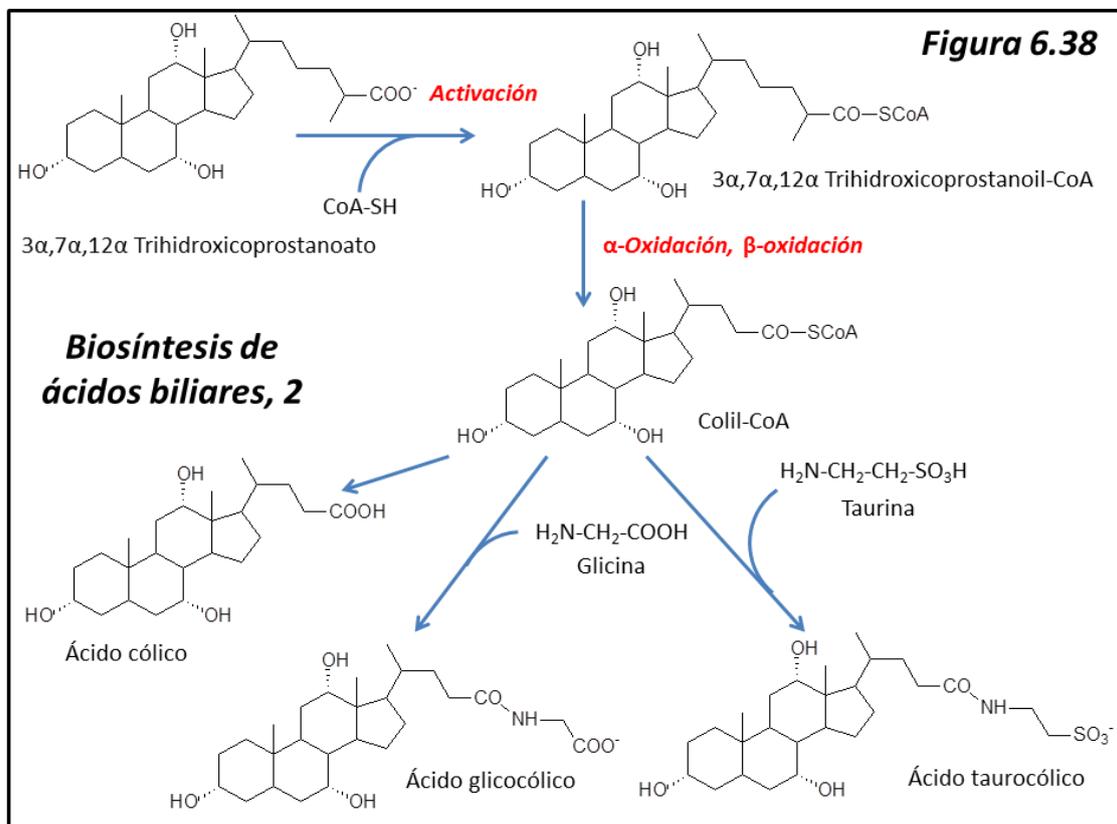
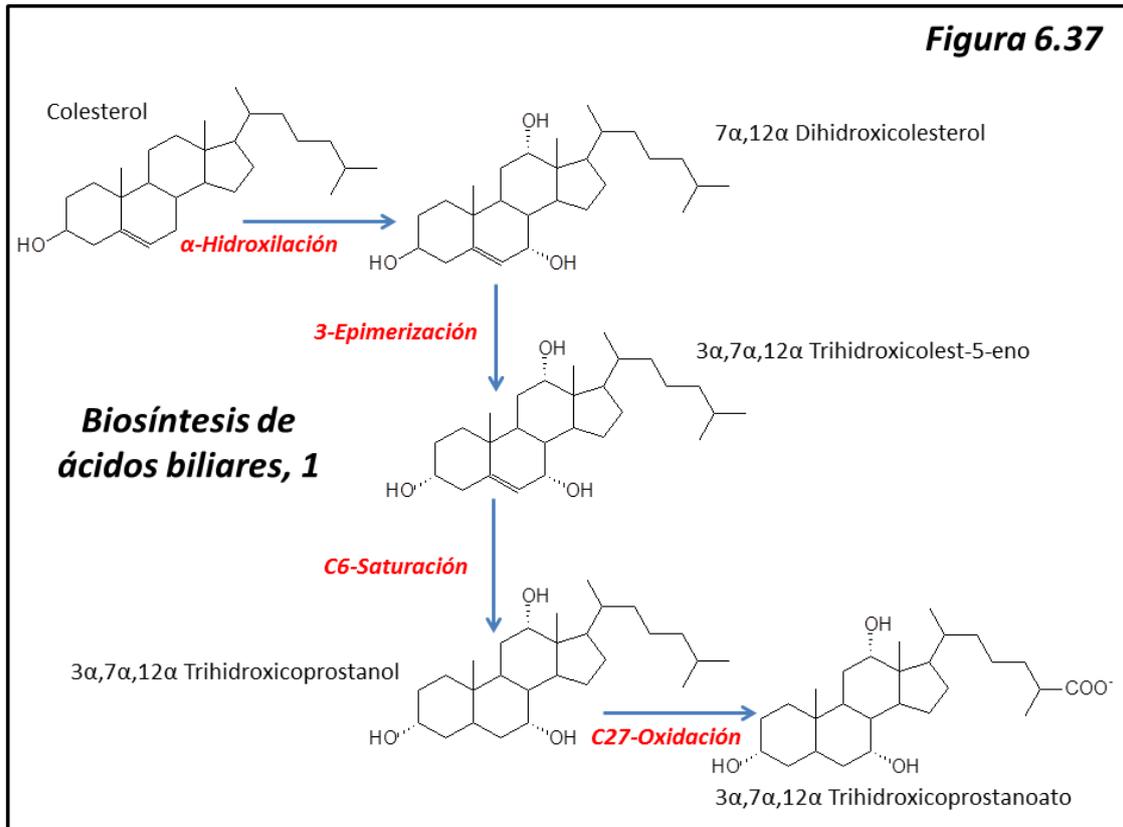
El sistema tetracíclico del colesterol no puede ser degradado por nuestro organismo. Los productos de degradación del colesterol son esencialmente derivados por oxidación (enzimática y no enzimática) del mismo (**oxiesteroles**), que son transportados por las lipoproteínas desde los tejidos periféricos hacia el hígado en donde son convertidos en su mayor parte en **ácidos biliares** (90 %). Éstos son segregados a la luz intestinal en donde cumplen una función básica: son los elementos detergentes que permiten la absorción digestiva normal de lípidos; y además, parecen ser importantes en la activación del conjunto lipasa-colipasa (ver sección 6.1.3.1) al provocar un cambio conformacional que pone al descubierto el centro activo de la enzima.

Los ácidos biliares presentes en la bilis son mayoritariamente esteroides C₂₄ (24 átomos de carbono) hidroxilados (en posición α): los ácidos **quenodesoxicólico** (3 α ,7 α -dihidroxi), **desoxicólico** (3 α ,12 α dihidroxi) y **cólico** (3 α ,7 α ,12 α trihidroxi).

La biosíntesis de ácidos biliares se presenta en las **figuras 6.37 y 6.38**. Aunque se trata de un proceso muy complejo, que puede implicar hasta 17 pasos desde el colesterol, que es el precursor, hasta el ácido cólico, podemos resumirlo en cinco:

1. Reacciones de hidroxilación en las posiciones 7 y/o 12
2. Epimerización del grupo 3 β -hidroxi a 3 α
3. Saturación del doble enlace en C₆
4. Degradación de la cadena lateral desde C₂₇ hasta C₂₄
5. Conjugación a glicina y taurina para dar ácidos **glicocólico** y **taurocólico**, respectivamente, que son componentes mayoritarios de la secreción biliar.

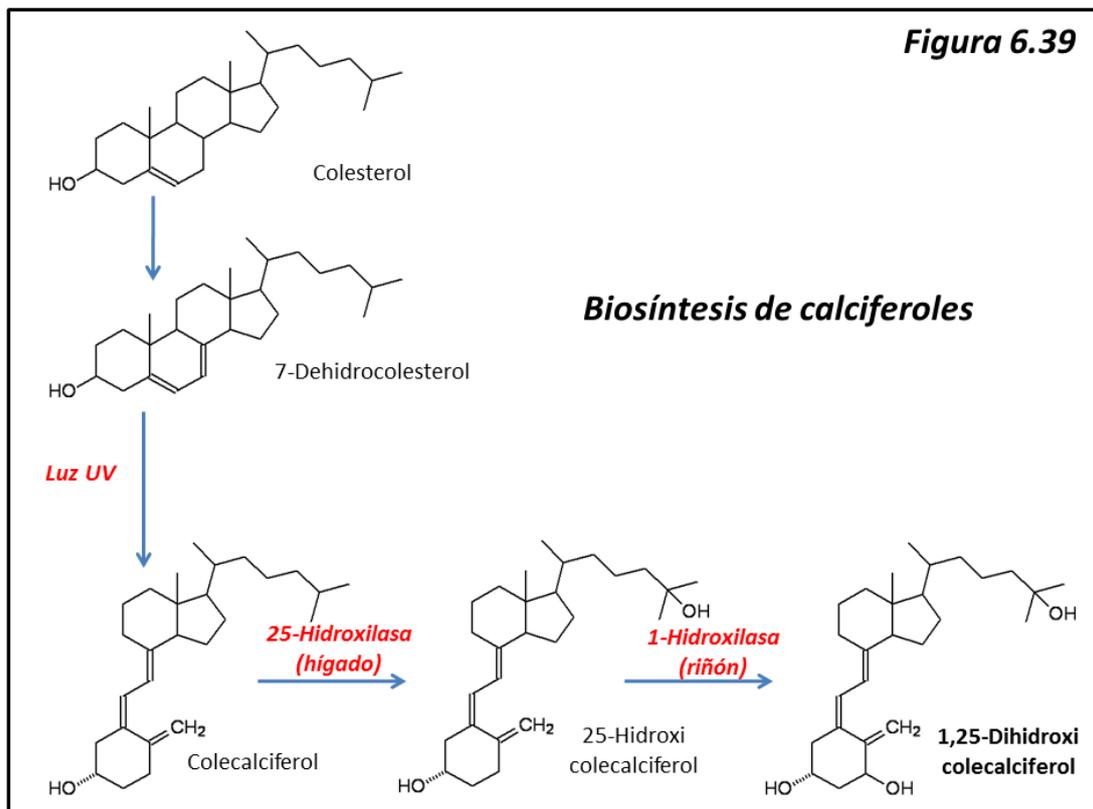
Las figuras se refieren a la síntesis de ácido cólico; no obstante, hemos de recordar que el componente mayoritario de la bilis es el ácido quenodesoxicólico.



6.7.7 Biosíntesis de calciferoles

Los calciferoles o vitaminas D son derivados de alcoholes esteroideos como el ergosterol o el colesterol. En este último caso reciben el nombre de **colecalfiferoles** o **vitamina D₃**. El nombre de "vitamina" no está justificado en este caso dado que su síntesis es perfectamente posible en el organismo humano siempre y cuando pueda recibir una cantidad suficiente de radiación ultravioleta (UV) solar. La función de los calciferoles es activar la transcripción de genes relativos a la síntesis del transportador intestinal de calcio. Su déficit en la dieta (o más comúnmente, una carencia de exposición a la radiación solar) da lugar a la enfermedad conocida como **raquitismo**.

La síntesis de calciferoles se presenta en la [figura 6.39](#).



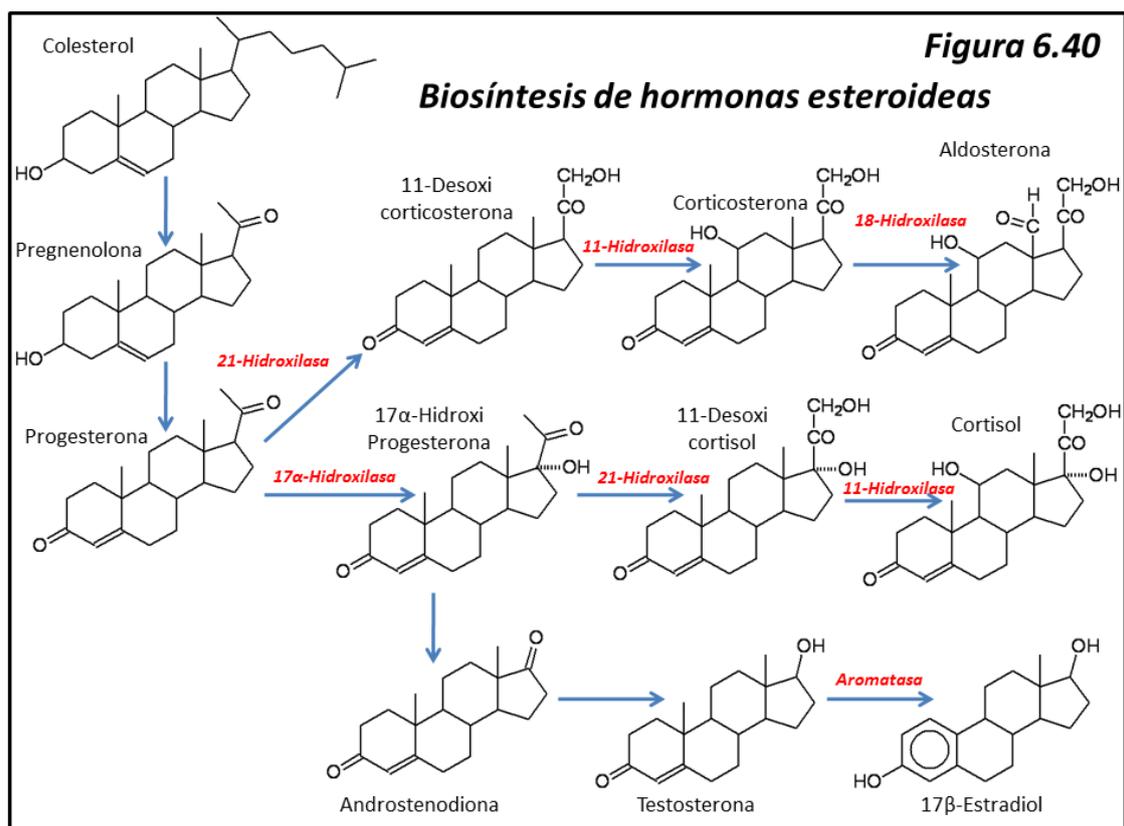
El colesterol se oxida a **7-dehidrocolesterol** (paso que puede ser espontáneo), el cual, por acción de la radiación UV rompe el anillo tetracíclico para dar **colecalfiferol**, compuesto que por sí solo puede prevenir el raquitismo. El calciferol es transformado en sus metabolitos activos mediante dos hidroxilaciones: una a nivel de C25, por una enzima presente en el hígado, dando **25-hidroxi colecalciferol**, y otra en el riñón, a nivel de C1, dando **1,25 dihidroxicolecalciferol** o **calcitriol**, que es el metabolito activo de los calciferoles. Precisamente fue el estudio de los llamados raquitismos resistentes a vitamina D lo que dio la clave para el descubrimiento de estos procesos de hidroxilación.

6.7.8 Biosíntesis de hormonas esteroideas

Una de las más importantes funciones del colesterol en el organismo es la producción de hormonas esteroideas. Éstas pertenecen a los siguiente grupos: **gestágenos** como la **progesterona**, hormonas de la segunda mitad del ciclo sexual femenino y del embarazo;

estrógenos como el **17β-estradiol**, hormonas de la primera mitad del ciclo femenino y responsables de los caracteres sexuales secundarios femeninos; **andrógenos** como la **testosterona**, hormonas responsables de los caracteres sexuales secundarios masculinos; **glucocorticoides** como el **cortisol**, hormonas propias de situaciones de stress, activas en el metabolismo hidrocarbonado y potentes antiinflamatorios; y **mineralocorticoides** como la **aldosterona**, hormona que promueve la reabsorción de sodio en el túbulo renal y por tanto, con efectos importantes sobre el metabolismo hidromineral y la regulación de la presión arterial.

La descripción detallada de la biosíntesis de estos compuestos se sale del contexto de este tratado. Señalaremos únicamente algunos puntos de interés (ver **figura 6.40**).



Todas estas hormonas derivan en último término de la **progesterona**, a su vez producida por oxidación de la **pregnenolona**. Ésta es sintetizada a partir del **colesterol** mediante una reacción que implica oxidación y degradación de la cadena lateral, siendo al parecer el paso limitante de la síntesis de esteroides en todos los tejidos que los producen (corteza adrenal, ovario, testículos y placenta). En muchas de las reacciones que dan lugar a los esteroides hormonales son importantes las **hidroxilasas** (u oxidasas de función mixta), que suelen utilizar el **ácido ascórbico** o vitamina C como corredutor. Una enzima importante en este esquema es la **aromatasa**, productora de 17β-estradiol a partir de testosterona. Esta enzima constituye una importante diana para la investigación farmacológica, dado el papel de los estrógenos en el desarrollo de neoplasias mamarias (la inhibición de la aromatasa inhibe la biosíntesis de estrógenos).

6.8 Lipoproteínas

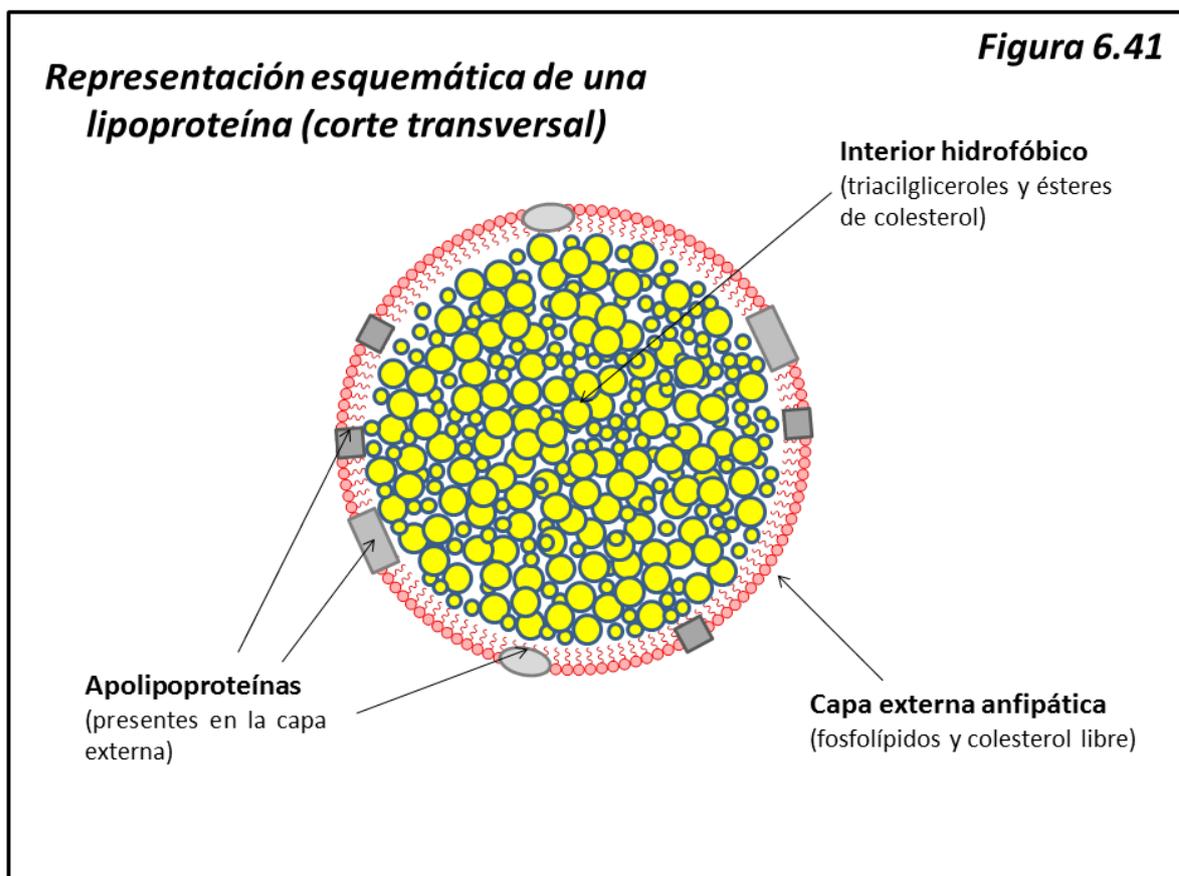
6.8.1 Generalidades

Los lípidos no pueden ser transportados a través de medios acuosos dada su insolubilidad. Ahora bien, sus funciones y su significación biológica obligan a que deban ser libremente distribuidos por todas las células y tejidos. Esto se consigue gracias a que los lípidos circulan en sangre formando complejos supramoleculares con proteínas, dando lugar a las estructuras que conocemos como **lipoproteínas**. La formación, distribución y destino metabólico de las lipoproteínas es uno de los campos de investigación más activos en lo que a lípidos se refiere, dada la importancia de los mismos en la patogenia de las enfermedades cardiovasculares.

Todas las lipoproteínas corresponden a un patrón común de organización, aunque difieren en el tamaño y en la proporción relativa de los lípidos que transportan. Desde el punto de vista cuantitativo, los lípidos que más contribuyen a la masa total de las lipoproteínas son los triacilgliceroles, los ésteres de colesterol (ambos hidrofóbicos al 100 %), el colesterol no esterificado y los fosfolípidos (ambos anfipáticos). Las lipoproteínas son agregados esféricos, de tipo micelar, cuya superficie está constituida por los elementos anfipáticos (fosfolípidos y colesterol libre) y el núcleo central por los lípidos hidrofóbicos (triacilgliceroles y ésteres de colesterol), tal como se presenta esquemáticamente en la **figura 6.41**.

Las proteínas de las lipoproteínas están localizadas en la superficie anfipática, y reciben el nombre de **apolipoproteínas**. Existen distintos tipos de apolipoproteínas y están distribuidas según las distintas clases de lipoproteínas.

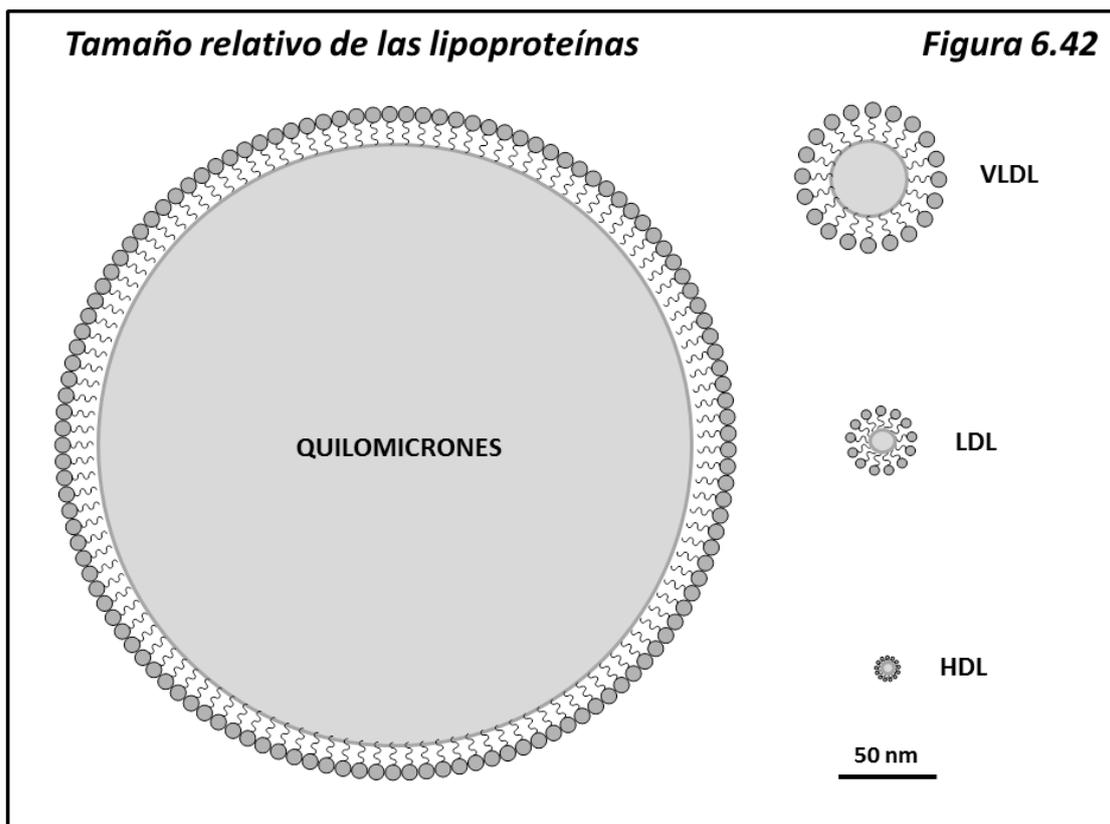
Mención aparte merece el transporte de ácidos grasos libres, que no circulan mediante su asociación a lipoproteínas, sino mediante la fijación a la albúmina sérica, cuya estructura tridimensional muestra que tiene hasta ocho sitios de fijación para ácidos grasos.



6.8.2 Clases de lipoproteínas

Las lipoproteínas se clasifican conforme a su densidad. Esto tiene sus orígenes en el hecho de que al estar constituidas por lípidos, las lipoproteínas flotan cuando se somete el suero sanguíneo a ultracentrifugación. Ajustando la densidad del suero se pueden obtener cuatro fracciones diferentes de lipoproteínas, que de menor a mayor densidad, reciben el nombre de **quilomicrones**, **VLDL** (del ingl. *Very Low Density Lipoproteins*), **LDL** (del ingl. *Low Density Lipoproteins*) y **HDL** (del ingl. *High Density Lipoproteins*). Aun cuando esta forma de clasificación pueda parecer arbitraria, corresponde a tipologías y funciones diferentes de las distintas lipoproteínas. A veces se añade una quinta clase, **IDL** (*Intermediate Density Lipoproteins*) que en realidad se trata de estados intermedios entre los quilomicrones y VLDL, por una parte, y LDL, por otra. Preferimos para esta clase el nombre de **restos de quilomicrones y restos de VLDL**.

Las distintas lipoproteínas se diferencian en su composición. Así, a medida que aumenta la densidad aumenta el contenido en fosfolípidos y en proteínas, y al tiempo disminuye el contenido en triacilglicéridos. Asimismo, la densidad guarda una relación inversa con el tamaño; las lipoproteínas menos densas (los quilomicrones) son las de mayor tamaño y las HDL las menores ([figura 6.42](#))



La tabla siguiente nos muestra las principales diferencias entre los distintos tipos de lipoproteínas:

Tabla I

	Quilomicrones	VLDL	LDL	HDL
Densidad	< 0.95	0.95 – 1.006	1.006 – 1.063	1.063 – 1.210
Proteína	2	10	23	55
Fosfolípidos	8	20	29	46
Colesterol libre	2	7	11	7
Ésteres de colesterol	3	18	50	40
Triacilgliceroles	85	55	10	6

(Cantidades expresadas en % del peso lipídico)

A estas diferencias corresponden asimismo diferentes funciones. Muy esquemáticamente, éstas son:

Quilomicrones: Transportan los lípidos (fundamentalmente triacilgliceroles) absorbidos en el tubo digestivo. Se forman en la mucosa intestinal y son los responsables del aspecto lechoso del suero en los períodos postprandiales.

VLDL: son la forma de transporte de los triacilgliceroles y otros lípidos sintetizados endógenamente en el hígado. Se forman en el hígado.

LDL: son formas evolutivas de los quilomicrones y de las VLDL. Tienen un alto contenido en colesterol, y su función es la distribución de éste hacia los tejidos periféricos. Su concentración está correlacionada con el riesgo de enfermedades cardiovasculares (el llamado popularmente “colesterol malo”).

HDL: Se forman en el hígado y tienen como función colaborar en el metabolismo de las otras lipoproteínas y en el transporte de colesterol desde los tejidos periféricos hacia el hígado. Popularmente conocidas como “colesterol bueno”.

6.8.3 Apolipoproteínas

Son el componente proteico de las lipoproteínas, y están distribuidas entre las distintas clases de una forma selectiva. Las apolipoproteínas cumplen diferentes funciones relacionadas con la estructura y el metabolismo de las lipoproteínas. La tabla II presenta las distintas apolipoproteínas y su distribución.

Tabla II

Apolipoproteína	Peso molecular	Asociada a	Función
Apo A-I	28k	HDL	Activa LCAT
Apo A-II	17k	HDL	Aumenta actividad lipasa hepática
Apo A-IV	44k	QM, HDL	
Apo B-48	240k	QM	Deriva de B-100
Apo B-100	513k	VLDL, LDL	Se fija al receptor de LDL
Apo C-I	7k	VLDL, LDL	Activa LCAT
Apo C-II	8k	QM, VLDL, LDL	Activa LPL
Apo C-III	8k	QM, VLDL, LDL	Inhibe LPL
Apo D	32k	HDL	
Apo E	34k	QM, VLDL, LDL	Aclaramiento de QM y VLDL

QM: Quilomicrones

LCAT: Lecitina:colesterol aciltransferasa

LPL: Lipoprotein lipasa

Aparte de las mencionadas, se han descrito asimismo las apolipoproteínas A-V, H, J, L y M, con funciones y distribución aún mal definidas.

Las apolipoproteínas consisten generalmente en un único polipéptido relativamente poco estructurado. Apo B-48 y Apo B-100 son proteínas grandes (Apo B-100, con más de 4500 aminoácidos, es una de las proteínas monoméricas más grandes que se conocen). La Apo B-48 representa aproximadamente el 50 % N-terminal de la B-100. Esta última es la proteína que reconoce el receptor celular de LDL, y está presente en la superficie de LDL con una única copia.

6.8.4 Metabolismo de las lipoproteínas

6.8.4.1 Triacilgliceroles

Los triacilgliceroles son absorbidos en el intestino, en forma de ácidos grasos y libres y monoacilgliceroles producto de la lipasa pancreática. En los enterocitos son resintetizados y empaquetados en quilomicrones, a cuya superficie de fosfolípidos se fija una copia de B-48 (diagnóstica para lipoproteínas de origen intestinal). Los quilomicrones pasan a la circulación linfática y posteriormente a la sanguínea a nivel de la vena subclavia izquierda.

Los triacilgliceroles endógenos sintetizados en el hígado pasan a formar las VLDL, a las que se fija una copia de B-100.

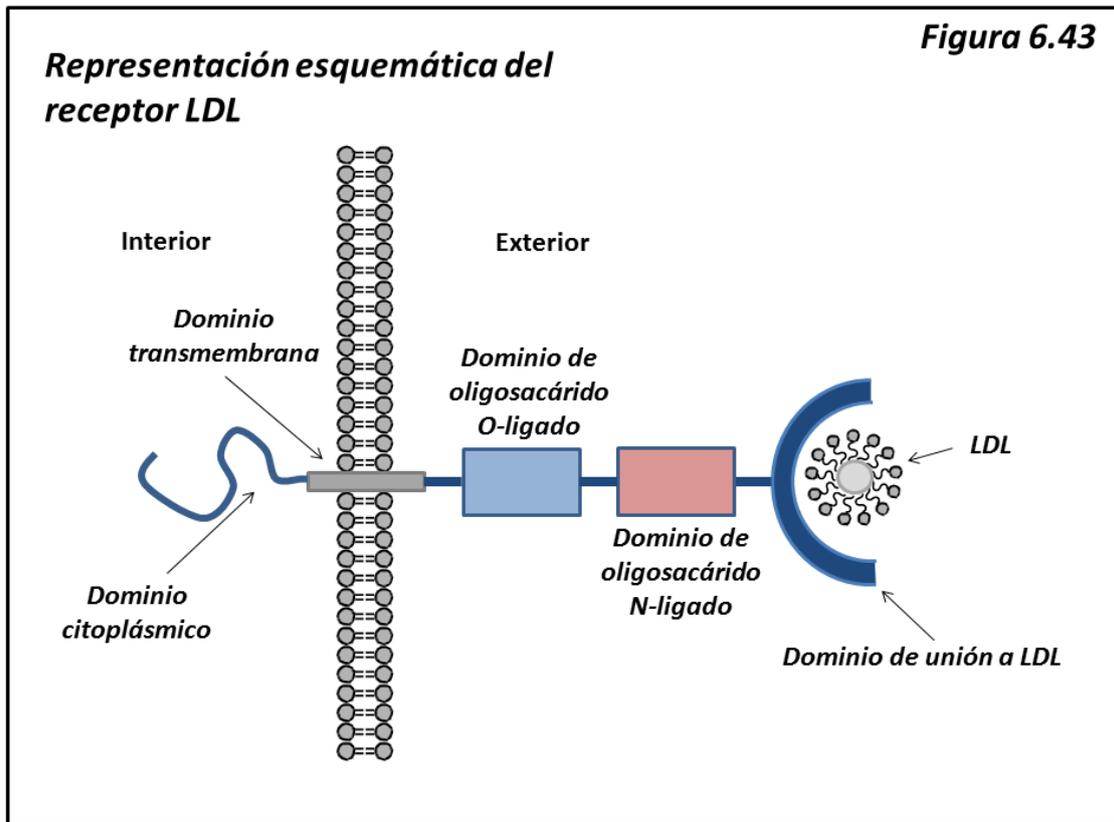
Al paso por los capilares de quilomicrones y VLDL, la lipoprotein lipasa endotelial libera ácidos grasos que son captados por los tejidos periféricos, fundamentalmente músculo y tejido adiposo, para su utilización o almacenamiento. La Apo C-I es un requerimiento obligatorio para el funcionamiento de la lipasa entotelial. La apo A-I, que es de origen intestinal y que está presente en pequeñas cantidades en los quilomicrones, pasa a las HDL circulantes, al tiempo que Apo E y Apo C circulan en sentido contrario (desde HDL son incorporados a quilomicrones, VLDL o sus restos). De esta manera los quilomicrones van reduciendo progresivamente su tamaño, dando lugar a restos que son captados por el hígado en donde parte de los triacilgliceroles restantes son incorporados a VLDL.

Las VLDL van liberando triacilgliceroles de la misma manera que los quilomicrones, dando lugar a restos que se identifican con lo que otros autores llaman IDL o lipoproteínas de densidad intermedia. Éstos, conteniendo Apo B-100 y Apo E, se transforman progresivamente en LDL, sin pérdida ulterior de triacilgliceroles y con un progresivo enriquecimiento en colesterol.

6.8.4.2 Colesterol

Las LDL son lipoproteínas ricas en colesterol, tanto en forma libre como esterificada. Su función es la de llevar colesterol a los tejidos periféricos o al hígado en donde interaccionan con un receptor específico situado en la superficie celular. La interacción con el receptor requiere la presencia de Apo B-100.

El receptor hepático de LDL ([figura 6.43](#)) es un polipéptido transmembrana de 839 aminoácidos con un dominio extracelular responsable de la fijación de Apo B-100 y de la partícula LDL. Los receptores ocupados se agrupan en regiones *coated pits* e internalizados por endocitosis. En el interior de la célula, una bomba protónica hace descender el pH del interior del endosoma, lo que provoca su disociación y el reciclado de receptores hacia la membrana. El endosoma se funde con lisosomas y los lípidos del mismo son liberados y utilizados por la célula.



6.8.4.3 Función de las HDL

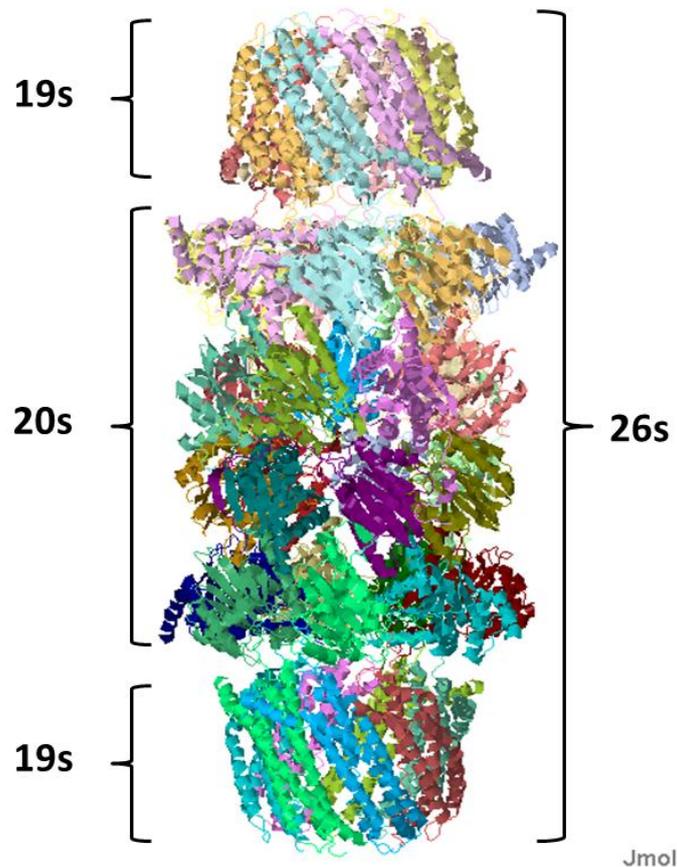
Las funciones de las HDL son muy diversas. Quizá la mejor conocida es el llamado transporte inverso de colesterol, es decir, el proceso mediante el cual el exceso de colesterol en las células es devuelto al hígado para su posterior eliminación, principalmente en forma de ácidos biliares. Pero las HDL también participan en el intercambio de triacilglicérols entre las otras clases de lipoproteínas, facilitando la actividad de la lipoprotein lipasa endotelial y en la eliminación de restos de quilomicrones y VLDL. Asimismo, se ha asociado a las HDL con determinadas actividades antioxidantes que impiden la formación de oxisteroles (los cuales, al parecer, tienen un importante papel en el desarrollo de placas ateromatosas).

En el momento de su síntesis, las HDL incorporan Apo A-I, y reciben esta misma proteína procedente de los quilomicrones, como hemos visto antes. Igualmente, Apo A-II, Apo C-I, Apo C-II y Apo E se añaden a las HDL.

La actividad enzimática principal asociada a las HDL es la LCAT (lecitina: colesterol aciltransferasa), que requiere Apo A-I para su activación. Esta enzima transfiere un resto acil desde la posición sn-2 de un fosfolípido al grupo hidroxilo del colesterol libre, liberando un lisofosfolípido y produciendo un éster de colesterol altamente hidrofóbico que pasa al interior de la lipoproteína. El lisofosfolípido es transportado a través de su fijación a la albúmina sérica. De esta manera las HDL van captando colesterol libre de las LDL y de los restos VLDL y quilomicrones. Igualmente, las HDL captan colesterol de la superficie celular en los tejidos periféricos. Parte del colesterol esterificado por las HDL puede volver hacia LDL y restos de VLDL.

La partícula madura y cargada de colesterol entra en los hepatocitos a través de un receptor específico para Apo A-I. Allí descarga en parte su colesterol y vuelve a la circulación. Estas HDL secundarias no son tan eficientes en el transporte inverso de colesterol.

CAPÍTULO 7: Metabolismo de proteínas y aminoácidos



7.1 Introducción

El metabolismo de proteínas y aminoácidos constituye el “capítulo” que el organismo humano escribe dentro del ciclo global del nitrógeno. Es decir, un papel, por así decirlo, limitado. La forma más primitiva de entrada de nitrógeno en el organismo es como ion amonio NH_4^+ . Por lo tanto, una parte importante de dicho capítulo es el metabolismo de dicho ion, que por cierto tiene bastante importancia en Patología Humana, dado que es el principal responsable del coma hepático en la insuficiencia hepática. Estudiaremos también la forma de excreción, a través del ciclo de la urea, característico de mamíferos. Asimismo se prestará atención al catabolismo de aminoácidos (importante como fuente energética, pero sobre todo como fuente neoglucogénica) y a su biosíntesis. En este último caso, haremos una breve referencia a la síntesis de aminoácidos esenciales, a pesar de que se trata de rutas no presentes en el metabolismo humano.

Antes de entrar en el metabolismo de aminoácidos veremos sucintamente los principales mecanismos de degradación de proteínas. Se trata de procesos a los que se otorga una

importancia creciente no sólo como proceso catabólico, sino también como un importante punto de regulación de la biología y funcionalidad celular.

7.2 Degradación de proteínas

Dependiendo de diversos factores que veremos más adelante, las proteínas se degradan a sus aminoácidos constituyentes, bien sean las procedentes de la dieta o las proteínas intracelulares. Se constituye así un reservorio de aminoácidos que veremos en un equilibrio extraordinariamente dinámico, tanto en lo que se refiere a su contenido en nitrógeno como en el destino metabólico de sus esqueletos carbonados, o como punto de partida para la síntesis de las proteínas propias. Consideraremos aquí cuatro mecanismos de degradación proteica: (1) La degradación **digestiva** de proteínas; (2) La degradación **lisosómica**; (3) la degradación mediada por **ubiquitina/proteasoma** y (4) La degradación **apoptótica**. Las dos primeras tienen por objeto únicamente alimentar el reservorio de aminoácidos, a nivel orgánico o a nivel celular, respectivamente; la tercera tiene un significado altamente funcional, pues la degradación selectiva de proteínas es un mecanismo de control de las distintas actividades de la célula; la cuarta corresponde al proceso de apoptosis o muerte celular programada, y está también relacionada con la actividad ubiquitina/proteasoma.

7.2.1 Degradación y absorción digestiva de las proteínas

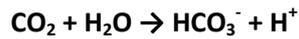
El ser humano, al iniciar su evolución desde los primeros homínidos como *Australopithecus*, no era en principio un animal carnívoro, lo cual puede fácilmente apreciarse en su dentición, muy alejada morfológicamente de la de los mamíferos depredadores. Con el tiempo, los humanos comenzaron sin embargo a incorporar la carne a su dieta. Se piensa por parte de algunos paleoantropólogos que esta tendencia comenzó como carroñero, pero poco a poco, y simultáneamente a la evolución cultural, los seres humanos incorporaron la caza como medio indispensable para su alimentación. Ello fue posible gracias al desarrollo de pautas culturales como la actividad coordinada en grupo y sobre todo la comunicación verbal.

Ahora bien: no sólo es la dentición lo que separa en principio al hombre de una dieta cárnica (y por tanto, rica en proteína) sino también la potencia proteolítica de su aparato digestivo. Por esa razón, la incorporación de la carne a la dieta humana (y por tanto, la adquisición del carácter omnívoro por la especie) fue posible en gran parte gracias al dominio del fuego, que al desnaturalizar la proteína de la dieta facilita enormemente su digestión. Aun así, todavía nos resultan “pesadas” las dietas ricas en proteína, a lo que se añade la llamada **Acción Dinámico-Específica**, consistente en un incremento del consumo calórico (y por tanto, de oxígeno) que se observa en el momento de la digestión de las proteínas.

En la degradación digestiva de las proteínas, consideraremos dos fases: (1) la digestión gástrica y (2) la digestión intestinal.

7.2.1.1 Digestión gástrica

El contenido gástrico se caracteriza por ser muy ácido (pH 1-2) debido a la secreción, por parte de las células oxínticas de la mucosa, de ácido clorhídrico. Existe en estas células una bomba protónica que transporta hacia la luz gástrica contra gradiente iones H^+ procedentes de la reacción de hidratación del CO_2



catalizada por la anhidrasa carbónica. De esta manera, por cada protón bombeado, ingresa un anión bicarbonato HCO_3^- en el medio orgánico, que es responsable de la llamada alcalosis postprandial.

Por su parte, las células principales de la mucosa gástrica son productoras del zimógeno **pepsinógeno** (pepsinógeno A) que es activado precisamente por el pH ácido del interior gástrico. Esta activación tiene lugar gracias a que la proteína se despliega en parte ante el pH ácido, dejando expuesto el centro activo que entonces elimina de su propia molécula unos 40 aminoácidos N-terminales, dando lugar a la enzima **pepsina** (EC 3.4.23.1).

La pepsina tiene un pH óptimo de 2, y deja de actuar por encima de pH 6.5. Tiene preferencia por enlaces peptídicos constituidos entre aminoácidos hidrofóbicos, preferentemente aromáticos. Su centro activo consiste en dos residuos de ácido aspártico, por lo que pertenece a las llamadas aspartil-proteasas.

Las células principales de la mucosa gástrica producen asimismo otras enzimas proteolíticas. Una de ellas es la **gastricsina** (pepsinógeno C, EC 3.4.23.3), de gran similitud secuencial y enzimática con la pepsina, de la que se diferencia por tener una mayor especificidad hacia enlaces peptídicos que impliquen aminoácidos aromáticos. Es asimismo una aspartil-proteasa.

En el cuarto estómago de los rumiantes (lactantes) se produce otra aspartil-proteasa, la **quimosina** (EC 3.4.23.4) que es el componente activo del cuajo. En el hombre existe el gen, pero no se expresa. Esta enzima hidroliza de una forma altamente específica el enlace entre Phe 105 y Met 106 de la κ -caseína de la leche. De esta manera se separan la porción hidrofóbica (para-caseína) del glicopéptido ácido hidrofílico de la misma, permitiendo la precipitación de la primera y dando lugar a la leche cuajada, que es la materia prima en la elaboración de quesos.

7.2.1.2 Digestión intestinal

Los oligopéptidos y proteínas parcialmente digeridas en el estómago pasan a la luz intestinal siguiendo el tránsito digestivo. Aquí el pH se acerca a la neutralidad y las proteínas van a ser degradadas por una serie de enzimas que en su mayor parte proceden del páncreas exocrino y que, al igual que la pepsina, son segregadas en forma de zimógenos.

La **tripsina** (EC 3.4.21.4) es producida como **tripsinógeno** por las células acinares del páncreas desde donde es segregado a la luz intestinal a nivel del duodeno. Atacado por la enzima **enteropeptidasa** (EC 3.4.21.9) produce la enzima activa. La tripsina es una serin-proteinasas que específicamente ataca los enlaces peptídicos establecidos entre Arg o Lys y cualquier otro aminoácido (excepto Pro). La enteropeptidasa es producida por las glándulas duodenales.

La **quimotripsina** (EC 3.4.21.1) es también una enzima pancreática del grupo de las serin-proteinasas. El zimógeno (quimotripsinógeno) es activado por la tripsina, dando lugar a la enzima activa, en un proceso que termina con la molécula primitiva dividida en tres cadenas polipeptídicas unidas por disulfuros (γ -quimotripsina). Esta enzima ataca preferentemente los enlaces peptídicos constituidos por un aminoácido aromático (Phe, Tyr, Trp), Leu o Met y cualquier otro aminoácido.

Otras enzimas proteolíticas producidas por el páncreas como zimógenos son la **elastasa pancreática** (EC 3.4.21.36, producida como proelastasa) y la **carboxipeptidasa pancreática** (EC 3.4.17.3), producida como procarboxipeptidasa). La primera hidroliza preferentemente enlaces Ala-X, y tiene relativamente poca actividad elastolítica; es una serin-proteinasas. La segunda

elimina aminoácidos del extremo carboxiterminal de las proteínas, particularmente cuando se trata de aminoácidos dibásicos como Lys o Arg; es una metaloproteinasa que contiene Zn.

7.2.1.3 Absorción digestiva de aminoácidos y péptidos

Por regla general las proteínas no son nunca absorbidas como tales por el aparato digestivo; deben en primer lugar ser degradadas por las enzimas digestivas mencionadas en el apartado anterior.

La absorción de aminoácidos por parte del intestino delgado sigue un patrón similar a la absorción de glucosa (transporte sodio-dependiente). El gradiente electroquímico creado por la bomba de sodio de la membrana luminal del enterocito permite la absorción de aminoácidos por la membrana apical al menos por cuatro sistemas distintos selectivos para las diferentes clases de aminoácidos (ácidos, básicos, aromáticos, neutros). Por el contrario, en la membrana basolateral del enterocito se encuentran sistemas que transportan aminoácidos hacia el medio interno sin necesidad de gradiente de sodio.

El enterocito es asimismo capaz de absorber oligopéptidos de menos de cuatro aminoácidos, gracias a un cotransporte con protones H^+ .

Las proteínas solamente pueden ser absorbidas como tales en el neonato (y solamente durante unos pocos días). Sin embargo, esta actividad tiene gran importancia dado que es la manera que tienen los anticuerpos del calostro o de la leche (inmunoglobulina A en su mayor parte) de entrar en el organismo del recién nacido, confiriendo así una inmunidad pasiva al mismo.

7.2.2 Degradación lisosomal

Los lisosomas son organelas celulares rodeadas de membrana en bicapa, que hasta cierto punto pueden ser consideradas como el aparato digestivo de la célula. El interior del lisosoma es ácido (pH 4 – 5) gracias a una bomba protónica dependiente de ATP que transporta iones H^+ hacia el interior de la partícula. En el interior del mismo se han descrito más de 50 enzimas hidrolíticas que afectan a todo tipo de biomoléculas: carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. Las mutaciones que afectan a estas enzimas pueden dar lugar a enfermedades de almacenamiento o **tesaurismosis**, en las que se acumula una molécula que no ha podido ser degradada; un ejemplo es la enfermedad de **Gaucher**, en la que se acumula un cerebrósido por falta de una glicosidasa específica.

Los lisosomas ejercen su función a través de fusión con partículas ingresadas por fagocitosis (fagosomas), endocitosis (endosomas) o bien autofagia, proceso mediante el cual la célula elimina sus propias organelas.

Las enzimas proteolíticas de los lisosomas pertenecen en su mayor parte a las conocidas como **catepsinas**, que actúan a pH ácido y de las que se han descrito al menos quince tipos distintos, aunque algunas de ellas (como la catepsina K) ejercen su acción fuera del lisosoma (en este caso particular, actúan en la reabsorción del hueso). Se distinguen catepsinas A, B, C, D, etc.

La mayor parte de las catepsinas son tiol-proteinasas de muy poca especificidad, actuando principalmente como endopeptidasas; aunque también pueden actuar como carboxipeptidasas (la catepsina B es una carboxipeptidasa que elimina los dos últimos aminoácidos de las proteínas). Hay asimismo serin-proteinasas y aspartil-proteinasas, pero todas ellas se caracterizan por actuar a pH ácido y con poca especificidad. Se sintetizan en

forma de zimógenos que son exportados al lisosoma donde el pH induce un cambio conformacional que favorece la autocatálisis.

El citoplasma celular está protegido de las enzimas lisosómicas gracias a mantener un pH en torno a 7.2, al cual dejan de ser activas.

Algunas catepsinas lisosómicas parecen estar implicadas en la patogenia de enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer. La catepsina B previene, al parecer, la formación de la placa amiloide característica de esta enfermedad.

7.2.3 Sistema ubiquitina/proteasoma

El sistema ubiquitina/proteasoma de degradación proteica constituye quizá la vía más importante para la degradación intracelular de proteínas; no tanto en términos cuantitativos, sino sobre todo por el papel regulador que cumple en multitud de procesos como el ciclo celular, la señalización intracelular, la regulación de factores transcripcionales y la eliminación de proteínas defectuosas o dañadas. Esquemáticamente, consiste en que la proteína que va a ser degradada es previamente etiquetada covalentemente con una pequeña proteína, la ubiquitina, y posteriormente degradada a péptidos cortos (7-8 aminoácidos) por una partícula supramolecular compleja, el proteasoma. En el contexto de este tratado nos limitaremos a describir los principales aspectos de este mecanismo.

El recambio metabólico (*turnover*) de las proteínas intracelulares depende de varios factores. En primer lugar, se ha demostrado que las proteínas intracelulares tienen una vida media que en gran parte depende del aminoácido que ocupa el N-término. En la tabla I aparecen estos valores para los distintos aminoácidos, en tres sistemas; células de mamífero, levadura y E.coli.

Tabla I

Vida media de proteínas en función del aminoácido N-terminal

Aminoácido	Mamífero	Levadura	E.coli
Ala	4.4 h	>20 h	10 h
Arg	1 h	2 min	2 min
Asn	1.4 h	3 min	>10 h
Asp	1.1 h	3 min	>10 h
Cys	1.2 h	>20 h	>10 h
Gln	0.8 h	10 min	>10 h
Glu	1 h	30 min	>10 h
Gly	30 h	>20 h	>10 h
His	3.5 h	10 min	>10 h
Ile	20 h	30 min	>10 h
Leu	5.5 h	3 min	2 min
Lys	1.3 h	3 min	2 min
Met	30 h	>20 h	>10 h
Phe	1.1 h	3 min	2 min
Pro	>20 h	>20 h	?
Ser	1.9 h	>20 h	>10 h
Thr	7.2 h	>20 h	>10 h

Trp	2.8 h	3 min	2 min
Tyr	2.8 h	10 min	2 min
Val	100 h	>20 h	>10 h

Fuente: ExPASy

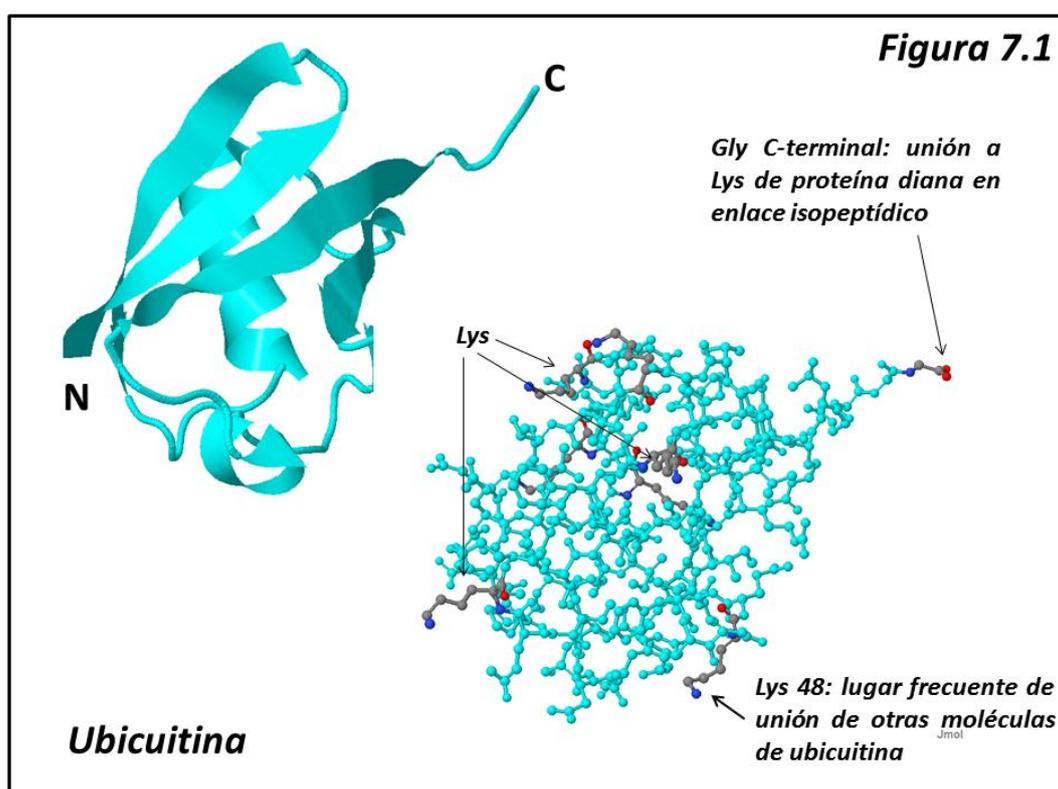
Otras proteínas presentan secuencias específicas que aceleran su destrucción. Tal es el caso de las ciclinas que regulan el ciclo celular. Otras secuencias desestabilizantes son las llamadas secuencias PEST (prolina, glutamato, serina y treonina), caracterizadas por su abundancia en los aminoácidos citados.

Asimismo, las proteínas dañadas, o plegadas incorrectamente, o alteradas por el stress oxidativo, o cuya función debe desaparecer por otras influencias regulatorias (por ejemplo, las ya citadas proteínas del ciclo celular) son rápidamente retiradas gracias al marcaje con **ubiquitina**.

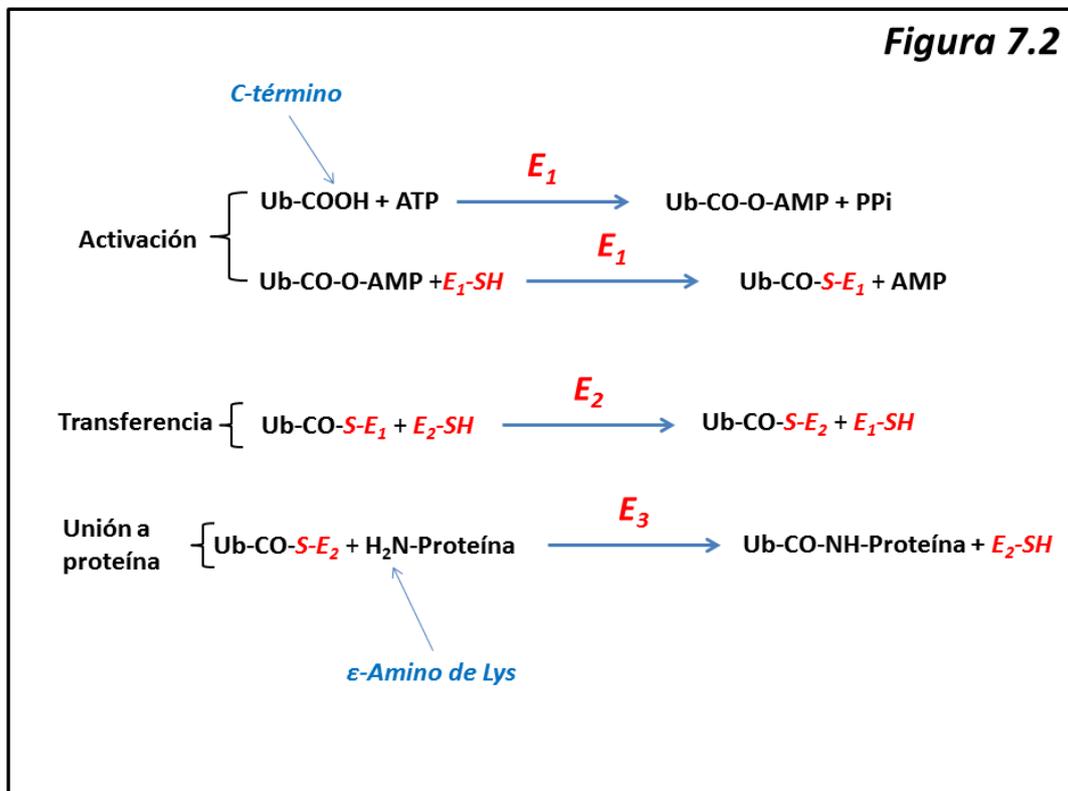
Todos estos factores incrementan la afinidad hacia la actividad enzimática E3 (unión a ubiquitina) que veremos a continuación.

7.2.3.1 Ubiquitina

La ubiquitina es una proteína pequeña, de 76 aminoácidos, presente en todas las especies eucariotas y de secuencia muy altamente conservada. En su estructura tridimensional ([figura 7.1](#)) se aprecia una protuberancia que corresponde al C-término, en el cual se encuentra un residuo de glicina (Gly), a través del cual esta proteína se une a las proteínas que han de ser degradadas, de manera que la ubiquitinación es un marcaje selectivo a las proteínas para su degradación.



El marcaje consiste en la unión covalente, en enlace isopeptídico, entre el grupo carboxilo terminal de la ubiquitina y el grupo ϵ -amino lateral de residuos de lisina de la proteína diana. Se trata de un proceso dependiente de ATP y que requiere tres enzimas conocidas como E1, E2, y E3 (figura 7.2).

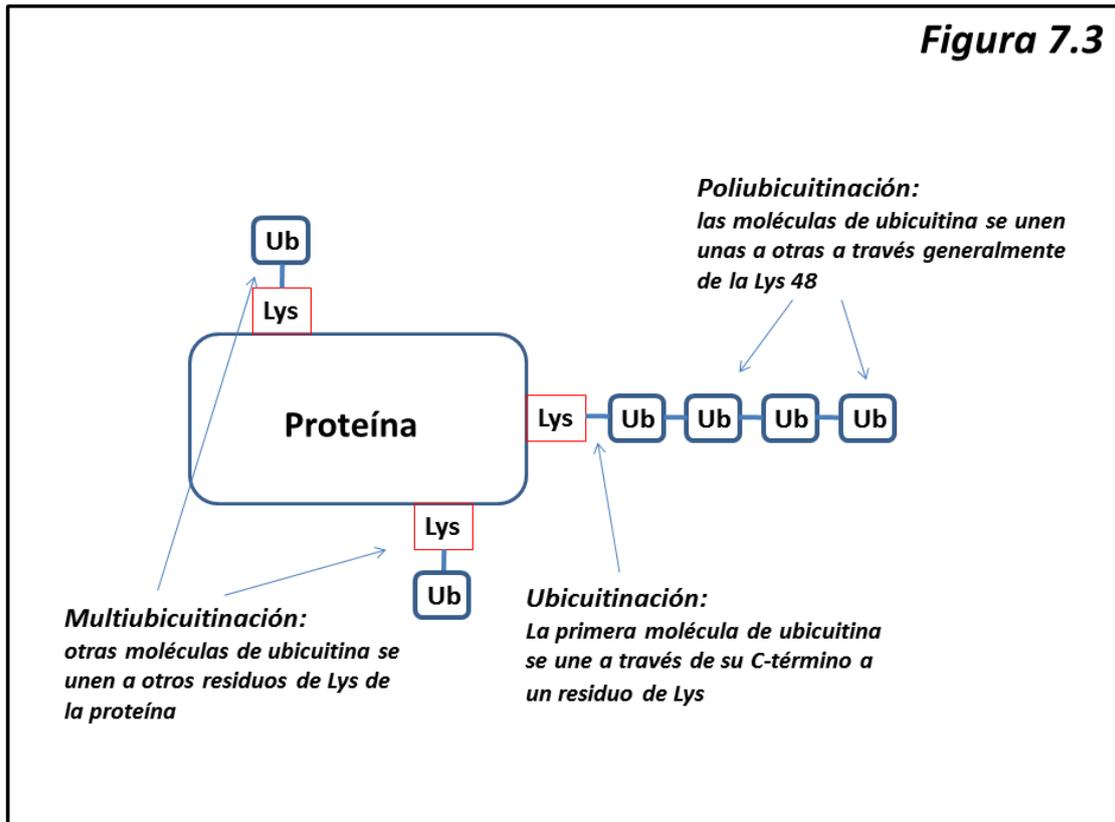


El proceso consiste en:

1. Activación de ubiquitina. En una primera reacción, catalizada por E1 (enzima activadora de ubiquitina), la ubiquitina es activada por ATP para dar un ubiquitina-adenilato (Ub-AMP) con liberación de pirofosfato. En una segunda etapa, la ubiquitina es transferida a un residuo de cisteína presente en la molécula de E1 con liberación de AMP.
2. Transferencia de ubiquitina. La ubiquitina unida a una cisteína de E1 es transferida a un residuo de cisteína presente en E2 (enzima conjugante de ubiquitina)
3. Unión a ubiquitina. La enzima E3 (ubiquitina:proteína ligasa) produce una unión isopeptídica entre el carboxilo terminal de la ubiquitina y un residuo de lisina en la proteína diana.

El proceso puede repetirse varias veces; en la mayoría de las ocasiones, es la propia ubiquitina del complejo proteína-ubiquitina, la que se une a una nueva molécula de ubiquitina (a través normalmente del residuo Lys 48), en un proceso llamado de **poliubiquitinación** (es posible incluso encontrar cadenas ramificadas de poliubiquitina). Asimismo, otras moléculas de ubiquitina pueden unirse a otros residuos de lisina presentes en la proteína ubiquitinada (**multiubiquitinación**) (figura 7.3).

Figura 7.3

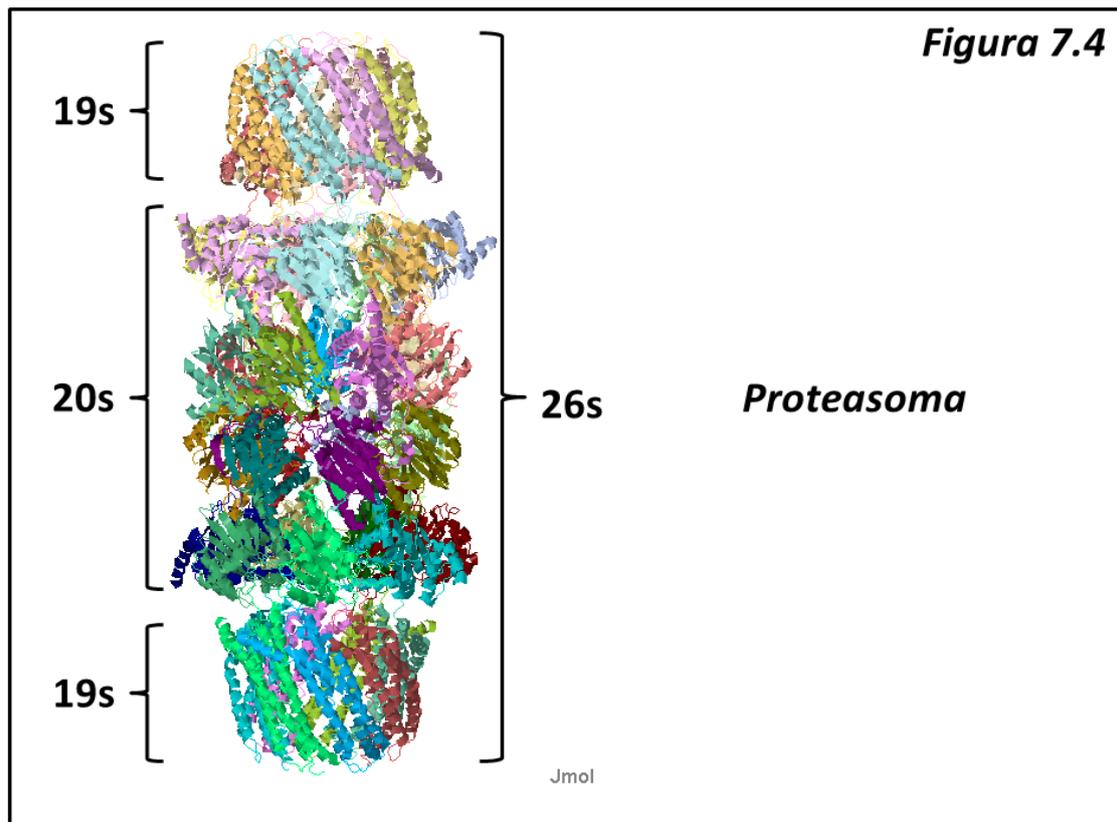


La proteína así modificada puede interactuar con el proteasoma (ver sección siguiente) para su degradación. Se requiere la presencia de al menos cuatro residuos de ubiquitina para que la proteína pueda ingresar en el proteasoma.

7.2.3.2 El proteasoma

Los proteasomas son complejos supramoleculares proteínicos muy grandes (15 x 11 nm), visibles incluso al microscopio electrónico, encargados de la degradación de proteínas previamente ubiquitinadas. Están presentes tanto en el núcleo como en el citoplasma de eucariotas. Asimismo aparecen en el citoplasma de Arqueas y de algunas Bacterias.

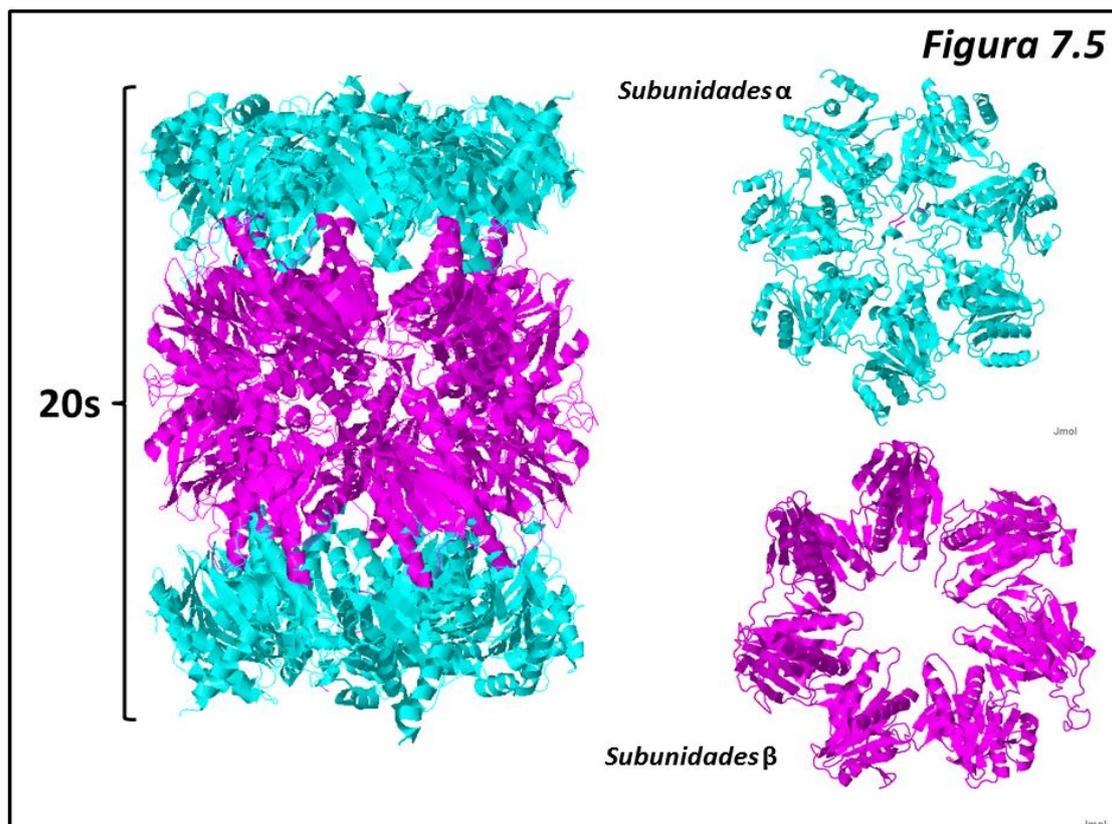
La partícula básica proteasómica (figura 7.4) recibe el nombre de **26s** (26 unidades Svedberg, P.M 4000 kDa) y consta de un núcleo (**20s**) y dos partículas regulatorias (**19s** cada una; recuérdese que las unidades Svedberg no son aditivas).



El núcleo 20s ([figura 7.5](#)) está constituido por cuatro anillos de siete subunidades cada uno, apilados a lo largo de un eje de manera que dejan un espacio central al que accederá la proteína que va a degradarse, cuyo diámetro puede llegar hasta 5.3 nm. De estos cuatro anillos apilados, los dos de los extremos están constituidos por siete subunidades α y los dos centrales por siete subunidades β . Las subunidades α sirven como anclaje de las subunidades regulatorias (que se sitúan en ambos extremos del núcleo) mientras que las subunidades β tienen esencialmente una función catalítica.

Cada una de las partículas regulatorias 19s consta de 19 subunidades, 10 de las cuales están implicadas en la unión al anillo α del núcleo 20s y las 9 restantes sirven de anclaje a las proteínas poliubiquitinadas que van a ser procesadas en el proteasoma. De las 10 subunidades, 6 de ellas tienen actividad ATPasa. En el proceso de degradación proteasómica, se requiere hidrólisis de ATP para el desplegamiento de la proteína ubiquitinada; la mera presencia de ATP (sin hidrólisis) es necesaria para el ensamblamiento del conjunto y la apertura del canal central. Los extremos del núcleo 20s pueden interactuar también con otras partículas, conocidas como partículas 11s, cuya actividad no requiere ATP y que parecen estar implicadas en la degradación de péptidos pequeños.

Las subunidades β de los dos anillos centrales del núcleo 20s cumplen la función catalítica de degradación de la proteína, con muy poca especificidad de sustrato y degradando la proteína a péptidos de 7-9 residuos. La función catalítica está relacionada con residuos de treonina, que cumple una función parecida a la de la serina en las serinoproteinasas.



Como hemos visto anteriormente, la función del sistema ubiquitina/proteasoma no es simplemente la provisión de aminoácidos al reservorio general de los mismos, y su explicación detallada está fuera de contexto en esta obra. Baste decir que la degradación proteasómica está implicada en procesos como la regulación del ciclo celular, la activación o destrucción de factores de transcripción, la respuesta inflamatoria, la supresión o activación de tumores, la presentación de antígeno a células inmunocompetentes y los ritmos circadianos intracelulares.

7.2.4 Degradación apoptótica

La **apoptosis**, o muerte celular programada, es un proceso natural (a diferencia de la **necrosis**) que se desencadena en las células ante multitud de influencias inductoras. Puede tratarse de un proceso normal de morfogénesis (por ejemplo, la reabsorción de la cola del renacuajo), de eliminación de clones prohibidos durante el desarrollo embrionario, una infección viral de la célula, una degeneración tumoral, stress, etc. De la misma manera, las señales que inducen apoptosis pueden ser muy variadas: hormonas, citocinas, factores de crecimiento, toxinas, etc. En ocasiones estas señales actúan induciendo la apoptosis y otras veces inhiben la misma.

El proceso de apoptosis es, en último término, llevado a cabo por enzimas. En el contexto de esta discusión, las enzimas implicadas en la proteólisis apoptótica son las llamadas **caspasas**, enzimas proteolíticas muy potentes, que pertenecen al grupo de tiol proteinasas o cistein-proteinasas.

La descripción detallada del proceso de apoptosis se sale del ámbito de este manual; no obstante, veremos algunas de sus características principales. El proceso se desencadena al parecer mediante la activación de receptores al TNF (*Tumor Necrosis Factor*). El TNF es una citokina producida principalmente por macrófagos, y para el que existen receptores en la

mayoría de las células. El receptor activado inicia la cascada de señalización para la activación de las caspasas y de determinados factores de transcripción.

Los fenómenos asociados a la apoptosis son (a) destrucción generalizada del citoesqueleto mediada por caspasas, con importantes cambios morfológicos en la célula; (b) alteraciones y destrucción de las mitocondrias, con eliminación de su funcionalidad; (c) condensación de la cromatina dando lugar a un núcleo picnótico; (d) fragmentación del núcleo (cariorraxis); (e) alteraciones morfológicas de la membrana plasmática; (f) rotura final de la célula dando lugar a los llamados cuerpos apoptóticos. En el transcurso del proceso la activación de endonucleasas da lugar a fragmentos cortos de DNA, que en electroforesis aparecen con un típico patrón en “escalera”.

Las caspasas reciben su nombre por cisteína (por ser cistein proteinasas) y **aspártico** (por ser la diana principal de su actividad proteolítica). En el organismo humano se han identificado hasta 12 caspasas, que se diferencian en su función: Activadoras (caspasas 2, 8, 9, y 10), dedicadas a la activación de otras caspasas, y Ejecutoras (caspasas 3, 6 y 7). Existen asimismo caspasas que no están relacionadas con el proceso de apoptosis (por ejemplo, caspasas 4 y 5, relacionadas con el proceso inflamatorio y las enfermedades autoinmunes).

El mecanismo de acción es el de todas las cistein-proteinasas, es decir, dependiente de un tiol que en el curso de la acción catalítica se transforma en un nucleófilo tiolato muy potente gracias a una sustracción protónica de un residuo de histidina (ver Enzimología, cap. 7). Las caspasas muestran una selectividad extrema hacia enlaces en los que el carboxilo pertenece a un residuo de ácido aspártico. Por lo general reconocen una secuencia tetrapeptídica Asp-X-X-Asp.

Los sustratos sobre los que actúan las caspasas ejecutoras son la práctica totalidad de las proteínas celulares, muy especialmente las del citoesqueleto.

7.3 Reacciones generales de aminoácidos

Al tratar del metabolismo de aminoácidos, distinguimos por lo general (a) Metabolismo del nitrógeno, de lo que trataremos en este apartado y el siguiente y (b) Metabolismo del esqueleto carbonado de los mismos. En cuanto a lo primero, veremos que está íntimamente relacionado con el metabolismo de dos aminoácidos concretos, glutamato y glutamina, y con el metabolismo del ion amonio NH_4^+ ; en cuanto a este último, veremos la importancia que tienen las reacciones que proceden a su asimilación o a su eliminación. En el contexto del metabolismo general de aminoácidos hay que tener en cuenta asimismo el papel que desempeñan en el organismo los diferentes órganos y sistemas.

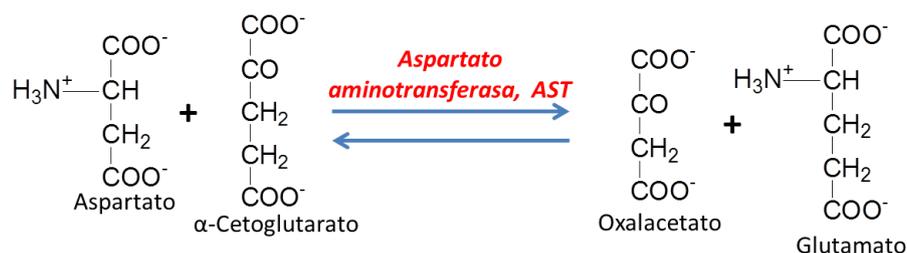
En los apartados que siguen, utilizaremos indistintamente las denominaciones amoniaco NH_3 e ion amonio NH_4^+ para referirnos a la misma molécula. Al pH de los medios corporales, 7.4, la mayor parte de la molécula ($\text{pK}_a = 9.26$) está en forma de ion amonio.

7.3.1 Reacciones de transaminación: aminotransferasas (o transaminasas)

Las aminotransferasas o transaminasas constituyen un grupo muy amplio de enzimas (EC 2.6.x.x) que catalizan el intercambio de un grupo amino entre un aminoácido y un cetoácido en reacciones totalmente reversibles que dependen del cofactor **piridoxal-fosfato**, que en el curso de la reacción pasa por los estados de piridoxal-fosfato y piridoxamina-fosfato. La pareja aminoácido/cetoácido más frecuente que vamos a encontrar en las reacciones de transaminación es glutamato/ α -cetoglutarato; en menor medida, aspartato/oxalacetato y alanina/piruvato. Precisamente las reacciones que implican a estas moléculas citadas nos van a ilustrar sobre el significado de las mismas en el contexto del metabolismo general de aminoácidos.

7.3.1.1 Aspartato aminotransferasa (EC 2.6.1.1)

Esta enzima cataliza la reacción fácilmente reversible



En la que vemos la interconversión aminoácido/cetoácido de forma que el grupo amino es transferido al α -cetoglutarato para formar glutamato en una dirección o bien (son reacciones reversibles) el grupo amino del glutamato es transferido a oxalacetato para formar aspartato en la dirección contraria. Se trata de una enzima ampliamente distribuida, particularmente abundante en hígado y tejido muscular esquelético y miocárdico, tanto en el citosol como en la matriz mitocondrial. En Bioquímica Clínica se utiliza el nivel sérico de esta enzima como marcador de lesión hepática o miocárdica (Sinónimos: AST, ASAT, GOT).

En esta reacción se aprecia el papel general de las aminotransferasas. En un sentido catabólico, el nitrógeno amínico de los aminoácidos se cede a glutamato para su posterior eliminación; en un sentido biosintético o anabólico, el glutamato opera como donador de nitrógeno amínico para la síntesis de los distintos aminoácidos.

En este ejemplo la pareja dadora/receptora de nitrógeno es aspartato/oxalacetato; pero existen aminotransferasas para casi todos los aminoácidos proteicos (se conocen más de 80), y que dado su carácter catabólico/anabólico veremos actuar en el metabolismo de todos los aminoácidos de una u otra manera. Un ejemplo importante es la siguiente:

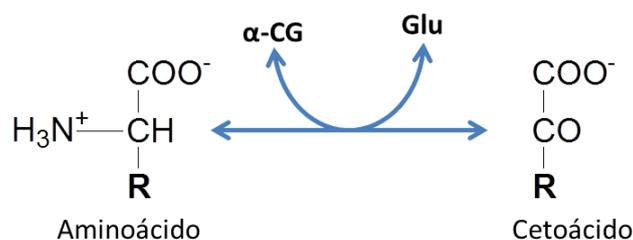
7.3.1.2 Alanina aminotransferasa (EC 2.6.1.2)

Cataliza la reacción, también reversible



Como veremos, esta enzima tiene un papel destacado en el ciclo alanina/piruvato o ciclo de **Cori** que se establece como ruta de nitrógeno entre el músculo esquelético y el hígado. El piruvato formado en el músculo mediante glucólisis es transaminado a alanina que pasa a la circulación, llegando al hígado, donde vuelve a rendir piruvato (un buen ejemplo del funcionamiento reversible de estas enzimas). Se trata de una enzima particularmente abundante en el hígado, de manera que en Bioquímica Clínica, su nivel sérico se toma como marcador fiable de lesión hepática (Sinónimos: ALT, ALAT, GPT).

Dado que en la mayor parte de las transaminaciones metabólicas una de las parejas participantes es glutamato/ α -cetoglutarato, estas reacciones se suelen representar como



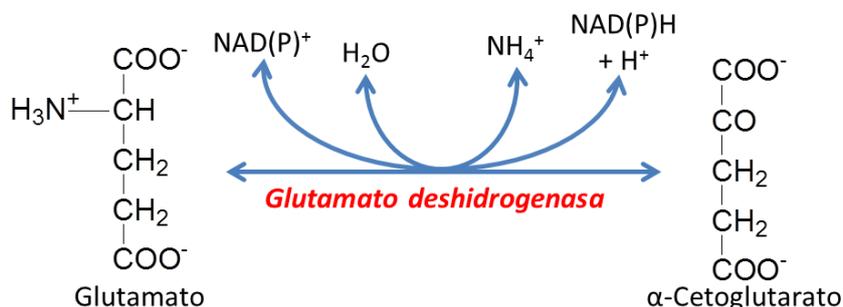
En donde **R** representa la cadena lateral del aminoácido, **α -CG** es α -cetoglutarato y **Glu** glutamato. Obsérvese el doble sentido de las flechas, indicando la reversibilidad de la reacción.

7.3.2 Desaminaciones oxidativas

Estas reacciones producen cetoácidos a partir de aminoácidos mediante un proceso oxidativo. En un caso se trata de una deshidrogenasa, la glutamato deshidrogenasa, reacción fácilmente reversible; en otros, son reacciones oxidásicas (como la D-aminoácido oxidasa y L-aminoácido oxidasa), que son irreversibles.

7.3.2.1 Glutamato deshidrogenasa (EC 1.4.1.3)

Se trata de una reacción de la mayor importancia en el metabolismo nitrogenado. Cataliza la oxidación de glutamato a α -cetoglutarato con producción de amoníaco o bien la reacción inversa, puesto que al igual que las aminotransferasas, es ésta una reacción fácilmente reversible. La reacción es la siguiente:

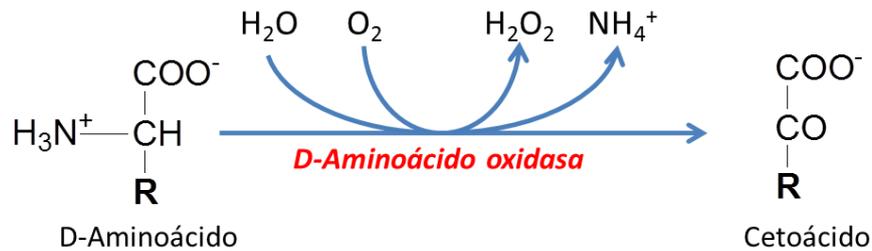


La enzima puede utilizar indistintamente NAD^+ o NADP^+ . De la misma manera que vimos en las aminotransferasas, el papel de esta enzima es central en el metabolismo de aminoácidos. En sentido catabólico o degradativo, el nitrógeno captado por glutamato mediante las reacciones de transaminación de otros aminoácidos, es liberado como ion amonio NH_4^+ cuyo destino examinaremos más adelante. En sentido anabólico o biosintético, la enzima es capaz de

organificar amonio libre hacia glutamato para transferirlo después en la síntesis de otros aminoácidos.

7.3.2.2 D-Aminoácido oxidasa (EC 1.4.3.3)

La D-aminoácido oxidasa es una flavoenzima ampliamente distribuida de localización peroxisomal. Está encargada de la oxidación a cetoácidos de D-aminoácidos, que están presentes en la pared celular bacteriana y por tanto tiene importancia en células fagocíticas como macrófagos. Elimina también D-aminoácidos producidos en proteínas dañadas o envejecidas. Cataliza la reacción (irreversible)



7.3.2.3 L-Aminoácido oxidasa (EC 1.4.3.2)

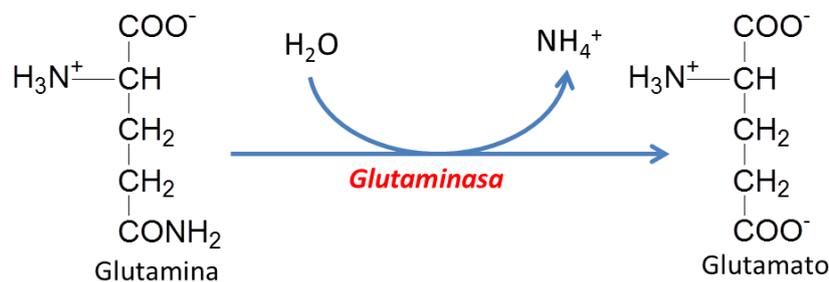
Al igual que la anterior, se trata de una flavoproteína pero con especificidad hacia L-aminoácidos. Es una enzima de localización lisosómica. La reacción catalizada es la misma que la presentada para la D-aminoácido oxidasa, con la salvedad de utilizar L-aminoácidos.

7.3.3 Desaminaciones hidrolíticas

La producción de amoníaco (o ion amonio) por estas enzimas no tiene lugar gracias a una reacción oxidativa, como en los casos anteriores, sino a la hidrólisis, por lo general de un enlace amida, como los presentes en glutamina o asparragina.

7.3.3.1 Glutaminasa (EC 3.5.1.2)

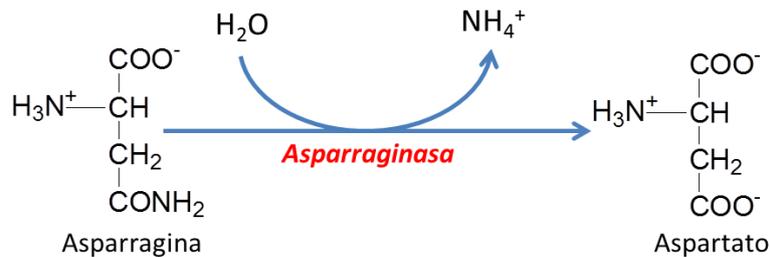
Cataliza la hidrólisis del grupo amida de la glutamina para dar glutamato:



Una reacción muy parecida afecta a la asparragina:

7.3.3.2 Asparraginasa (EC 3.5.1.1)

Cataliza la hidrólisis del grupo amida de la asparragina:



Se trata también de reacciones irreversibles. La síntesis de glutamina y asparagina a partir de glutamato y aspartato, respectivamente, están catalizadas, como veremos, por ligasas (sintetasas) dependientes de ATP.

7.3.4 Reacciones de organificación de amoníaco

Según vimos en el capítulo 1, los organismos heterótrofos son capaces de incorporar amoníaco a compuestos orgánicos. Ya hemos visto una reacción capaz de hacerlo: la catalizada por la glutamato deshidrogenasa cuando funciona en sentido anabólico: incorpora a α -cetoglutarato una molécula de amoníaco para dar glutamato (que puede, a continuación, ceder el grupo amino a cetoácidos a través de reacciones de transaminación).

En este apartado estudiaremos con cierto detalle otras dos reacciones: la síntesis de carbamilfosfato y la síntesis de glutamina a partir de glutamato.

7.3.4.1 Carbamilfosfato sintetasa I (mitocondrial, EC 6.3.4.16)

Como veremos más adelante, se trata de una reacción mitocondrial clave en la producción de urea. La reacción consiste en la organificación de amoníaco y dióxido de carbono (o su forma hidratada, que es el ion bicarbonato) para dar carbamilfosfato. La reacción requiere dos moléculas de ATP: una como donadora de fosfato y la otra provee la energía necesaria para la síntesis. La reacción es

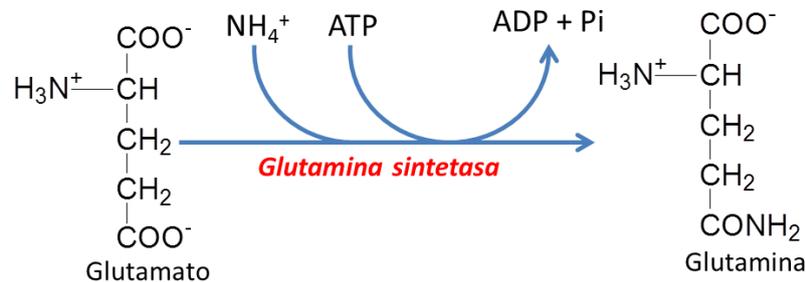


Existe en el metabolismo otra enzima que produce carbamilfosfato, la carbamilfosfato sintetasa II, en la que el donador de nitrógeno no es amoníaco, sino glutamina, y que es activa en la ruta de biosíntesis de pirimidinas, como veremos en el capítulo 8. En realidad, esta segunda enzima organifica el amoníaco de manera más efectiva; la sintetasa I, que participa en el ciclo de la urea, incorpora a ésta una molécula de amoníaco, pero la urea es el producto final del catabolismo nitrogenado en los mamíferos.

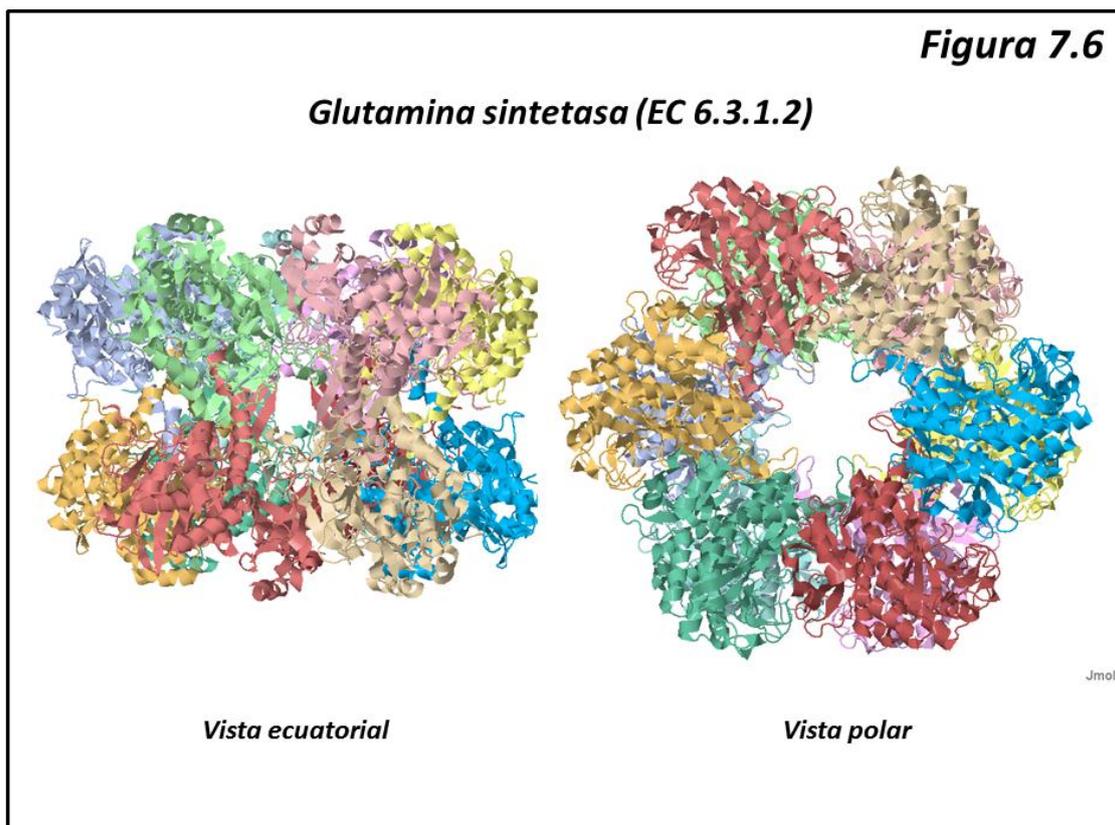
7.3.4.2 Glutamina sintetasa (EC 6.3.1.2)

El aminoácido glutamina cumple una función central en el metabolismo nitrogenado. En primer lugar, es una importante reacción de organificación de amonio. Pero la glutamina opera

en el metabolismo como dador de nitrógeno (en forma de grupos amino) en multitud de procesos biosintéticos de moléculas nitrogenadas, como aminoácidos y nucleótidos. Tiene asimismo un importante papel en la neurotransmisión por glutamato. Por esta razón, como veremos, se trata de una enzima muy estrictamente regulada. La reacción catalizada es

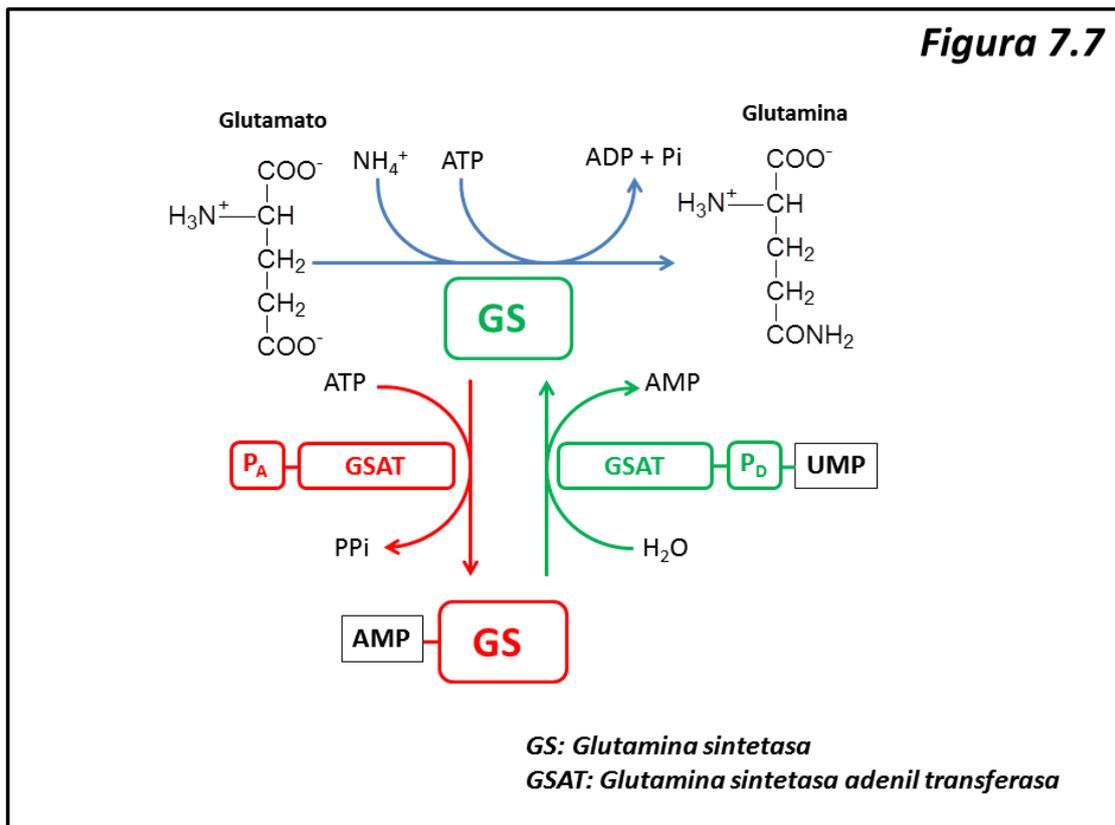


Existen varias isozimas de la glutamina sintetasa (GS) en el organismo. La mayor parte de las células posee una que es parecida a las bacterianas. Éstas consisten normalmente en un dodecámero de 12 subunidades idénticas dispuestas en dos anillos de seis unidades cada uno (figura 7.6), conteniendo un sitio activo completo cada subunidad; la enzima humana (en tejidos como hígado, riñón y músculo) consiste en un octámero con dos anillos de cuatro subunidades. Esta variante aparece muy estrictamente controlada; y es la que tiene mayor significación metabólica.



Hay otra isozima, presente en el cerebro, cuya función consiste en la inactivación del glutamato que opera como neurotransmisor excitatorio en neuronas centrales. Esta variante no presenta al parecer regulaciones de ningún tipo, y se localiza sobre todo en los astrocitos.

La enzima posee dos formas, una más activa y otra menos activa o inactiva del todo. La diferencia es una modificación covalente por adenilación (figura 7.7), de tal manera que la enzima adenilada es la forma inactiva. A su vez, la adenilación/desadenilación se produce gracias a la acción de otra enzima, la **glutamina sintetasa adenil transferasa** (GSAT). Igualmente, La actividad de esta última enzima está regulada por la proteína P, que puede existir en dos formas: **P_A** y **P_D**. En presencia de P_A, la enzima cataliza la adenilación de la GS (y por tanto, su inactivación); en presencia de P_D, cataliza la desadenilación, y por tanto, la activación, de la GS. La diferencia entre P_A y P_D consiste en que la forma P_D está modificada covalentemente por uridilación (actuando UTP como donador). En resumen: la forma uridilada P_D favorece la desadenilación (activación) de la GS y la forma desuridilada P_A favorece la adenilación (Inhibición) (figura 7.7)



Al lado de estas regulaciones covalentes, la GS se encuentra regulada asimismo por productos finales de numerosas rutas metabólicas en las que glutamina participa como dador de nitrógeno. Así, vemos que los nucleótidos CTP y AMP, los aminoácidos Trp, His, Ala, Gly y Ser, la glucosamina-6-fosfato y el carbamilfosfato se comportan todos ellos como inhibidores. Unos (los aminoácidos) compiten por el sitio del sustrato glutamato; los nucleótidos, carbamil fosfato y glucosamina-6-fosfato compiten por el sitio del nucleótido ATP. Todos ellos tienen mucha mayor afinidad por la enzima desadenilada; es decir, es la forma plenamente activa la más sensible a inhibidores producto final. La inhibición es, por otra parte, acumulativa. Al disponer de muchas subunidades idénticas, la enzima puede estar parcialmente adenilada; se ha comprobado que la actividad es inversamente proporcional al grado de adenilación de la enzima.

Una reacción similar, pero sin regulaciones metabólicas de interés, es la catalizada por la **asparagina sintetasa** (EC 6.3.5.4).

7.4 Metabolismo del amonio y Ciclo de la urea

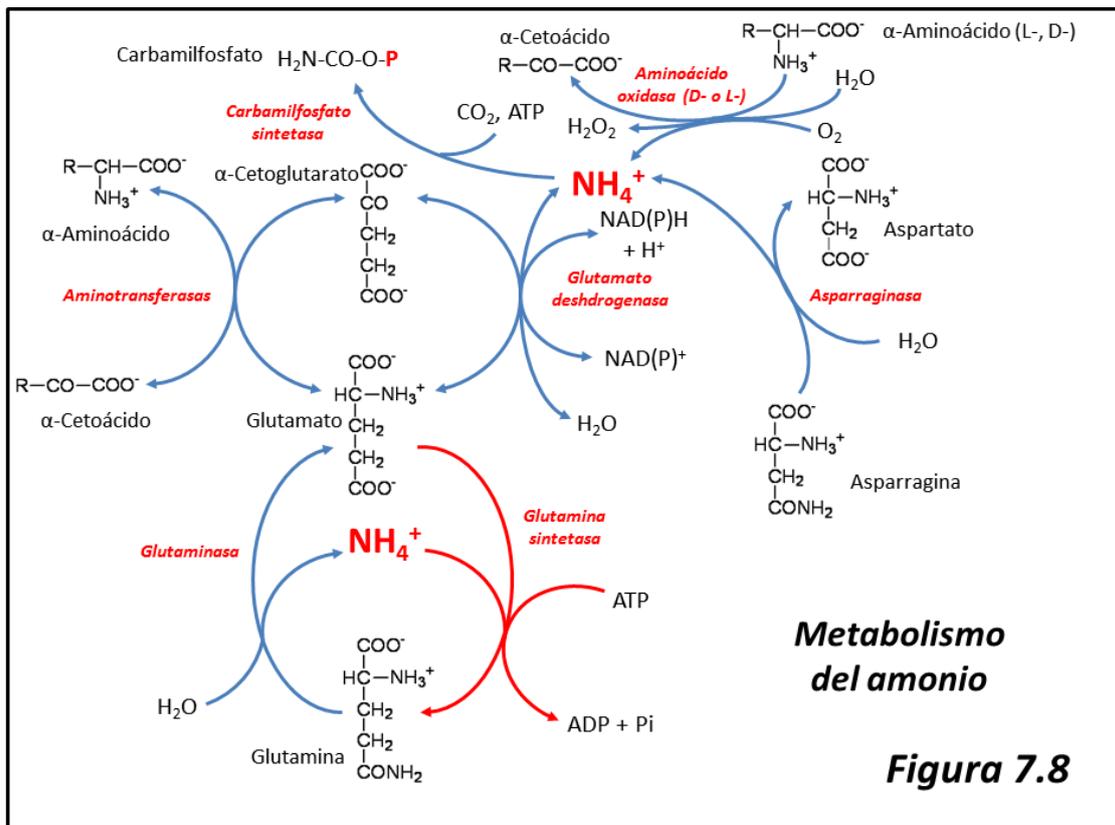
Una vez vistas las principales reacciones generales del metabolismo de aminoácidos, y particularmente aquéllas en las que el ion amonio es sustrato o producto, interesa considerar de una forma integrada el metabolismo del amonio, por una parte, y su excreción final en forma de urea, por otra. Hay que tener en cuenta asimismo que el organismo de los mamíferos como el hombre presenta especializaciones metabólicas en los distintos órganos y tejidos, y se hace necesario tener una idea clara del papel metabólico de cada uno.

El ion amonio, en líneas generales, es bastante tóxico, y en particular para las células nerviosas. Los niveles normales en sangre se mantienen por debajo de $70 \mu\text{moles L}^{-1}$. En la insuficiencia hepática terminal se produce el llamado **coma hepático**, que está esencialmente producido por un exceso de amonio que hígado y riñón no pueden detoxificar.

Al igual que en el apartado anterior, utilizaremos indistintamente las denominaciones amoniaco e ion amonio para referirnos a la misma molécula.

7.4.1 El reservorio (*pool*) de amoniaco

La **figura 7.8** nos muestra el conjunto de reacciones en las que participa o es producido el ion amonio NH_4^+ libre, que son las reacciones examinadas en la sección anterior.



La producción de amoniaco tiene lugar a partir de (a) desaminaciones hidrolíticas como las catalizadas por glutaminasa y asparaginasa; (b) desaminaciones oxidativas oxidásicas

catalizadas por las D- y L-aminoácido oxidasas; (c) desaminación oxidativa del glutamato catalizada por la glutamato deshidrogenasa, cuando funciona en sentido catabólico.

La utilización (organificación) del amoníaco tiene lugar a través de: (a) la reacción de la glutamina sintetasa, que es quizá la más importante dado el papel que tiene la glutamina como dador de nitrógeno en múltiples reacciones metabólicas; (b) la reacción de la glutamato deshidrogenasa funcionando en sentido anabólico; (c) la formación de carbamifosfato catalizada por las carbamifosfato sintetasa.

En el catabolismo, el nitrógeno de los aminoácidos es cedido por transaminación a α -cetoglutarato para dar glutamato; la acción de la glutamato deshidrogenasa libera el amonio y regenera α -cetoglutarato. Otras aportaciones al reservorio catabólico de amonio proceden de las desaminaciones oxidativas oxidásicas y de las desaminaciones hidrolíticas. El amonio formado pasará a ser eliminado en forma de urea (en el organismo de mamíferos) mediante los mecanismos que se estudian más adelante.

En el anabolismo, el ion amonio es organificado a glutamato por acción de la glutamato deshidrogenasa; el glutamato formado dona su nitrógeno a cetoácidos para la formación de aminoácidos y proteínas. Además, el glutamato puede recibir un nuevo amonio para formar glutamina en la reacción de la glutamina sintetasa. La glutamina, por su parte, participa en multitud de reacciones biosintéticas, particularmente de nucleótidos, aminoácidos, aminoazúcares, etc., mediante la donación de su nitrógeno amídico. Un buen ejemplo lo tenemos en la biosíntesis del anillo purínico de los nucleótidos donde la glutamina contribuye a su síntesis donando los nitrógenos 3 y 9 del anillo, o de los nucleótidos pirimidínicos en los que contribuye con el nitrógeno 3 del ciclo.

Ahora bien, tal como dijimos anteriormente, en el metabolismo del amonio hemos de tener en cuenta las especializaciones tisulares y orgánicas. De esto tratará la sección siguiente.

7.4.2 Especialización tisular y orgánica en el metabolismo general de aminoácidos

En la sangre los aminoácidos predominantes en la circulación son alanina y glutamina.

El **hígado** recibe a través de la circulación portal los aminoácidos absorbidos durante el proceso digestivo. Es asimismo el lugar de síntesis de la mayoría de las proteínas plasmáticas (con excepción de las inmunoglobulinas, sintetizadas por plasmocitos en la médula ósea).

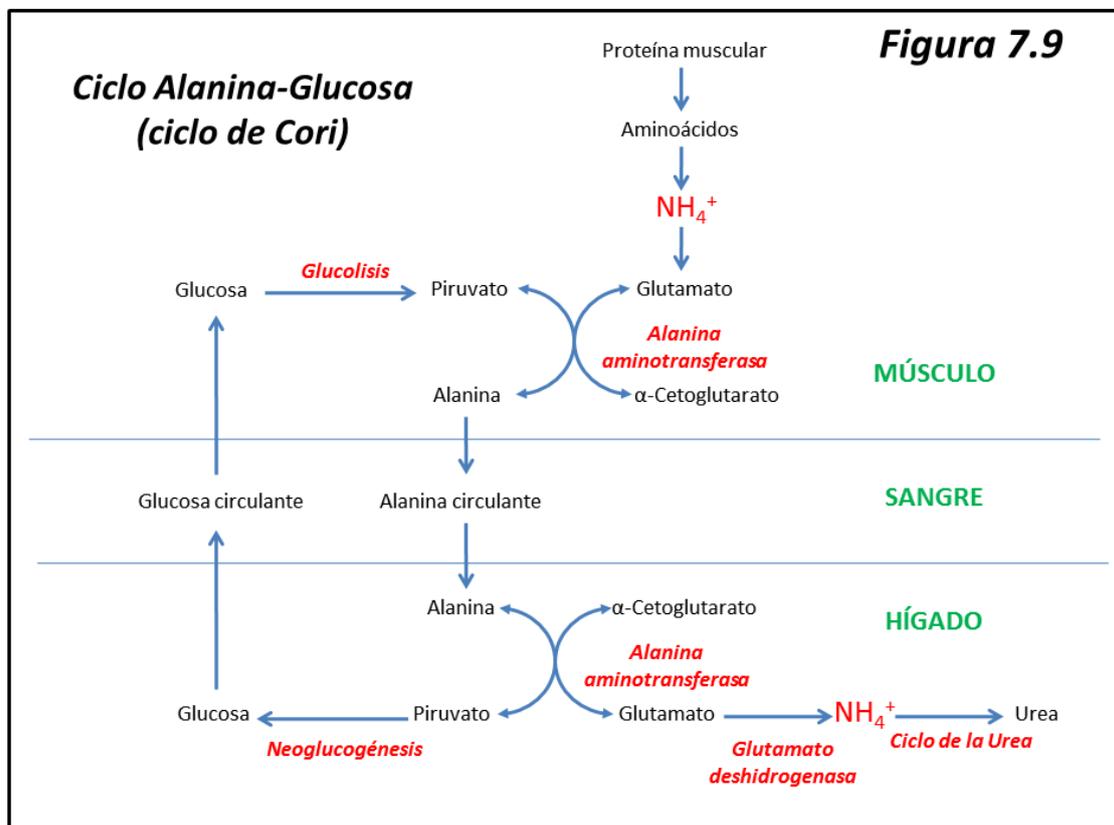
Por otra parte, el hígado es el lugar preferente para los procesos de neoglucoénesis, cetogénesis y ureogénesis. En cuanto a la neoglucoénesis, una ruta principal es la que toma alanina circulante procedente en su mayor parte del músculo esquelético, que es transaminada a piruvato a partir del cual se realiza la neoglucoénesis. En la síntesis de urea, el hígado destoxifica activamente el amoníaco para su excreción final (ver sección siguiente), aparte de recibir glutamina y alanina de otros tejidos (sobre todo el músculo) para la eliminación de nitrógeno.

El hígado es el órgano preferente para el catabolismo de aminoácidos en general, excepto los de cadena ramificada (valina, leucina e isoleucina) que son catabolizados en el músculo esquelético.

El **riñón** es asimismo un órgano neoglucoénesis. En particular, metaboliza glutamina circulante produciendo α -cetoglutarato y amonio. El amonio es eliminado hacia la orina y el α -cetoglutarato se utiliza como sustrato neoglucoénesis. Este intermediario procede

fundamentalmente de la desaminación de glutamina, que al ser convertida en α -cetoglutarato produce dos moléculas de amonio. Al tener lugar neoglucogénesis, dos moléculas de α -cetoglutarato dan lugar a una de glucosa, al tiempo que se producen cuatro iones bicarbonato. Éstos contribuyen al mantenimiento del equilibrio ácido base al contrarrestar los protones producidos por el metabolismo (2-hidroxiacetato, acetoacetato, sulfato, etc., que se forman como ácidos).

El **músculo esquelético** es un lugar de síntesis activa de proteínas. Las proteínas musculares suponen aproximadamente el 50 % del total de las proteínas del organismo. Este carácter de reservorio de proteínas hace que en condiciones neoglucogénicas, los aminoácidos musculares son degradados cediendo su nitrógeno en último término a alanina (vía transaminaciones sucesivas a α -cetoglutarato y a piruvato) que pasa a la circulación para llegar al hígado, donde será sustrato neoglucogénico preferente. Esta circulación de alanina/glucosa recibe el nombre de **ciclo de Cori** (figura 7.9). Parte de los grupos amino pasan a glutamina, la cual cederá en el riñón sus grupos nitrogenados para su excreción. Por otra parte, el músculo cataboliza los aminoácidos ramificados que no pueden ser degradados por el hígado.



Hemos de tener en cuenta que la **piel** supone también un importante reservorio de proteína en el organismo. En condiciones neoglucogénicas, cede sus aminoácidos para la síntesis de glucosa en el hígado.

El **intestino**, además de llevar a cabo la absorción digestiva de aminoácidos, tiene la particularidad de utilizar glutamina y asparragina como fuentes de energía, con producción concomitante de amoníaco que irá al hígado a través de la circulación portal.

El **cerebro** lleva a cabo una síntesis activa de glutamina gracias a la glutamina sintetasa cerebral, presente en los astrocitos de la glía. De esta manera se protege de posibles elevaciones en el nivel de amonio, que es altamente tóxico para este órgano.

7.4.3 El ciclo de la urea

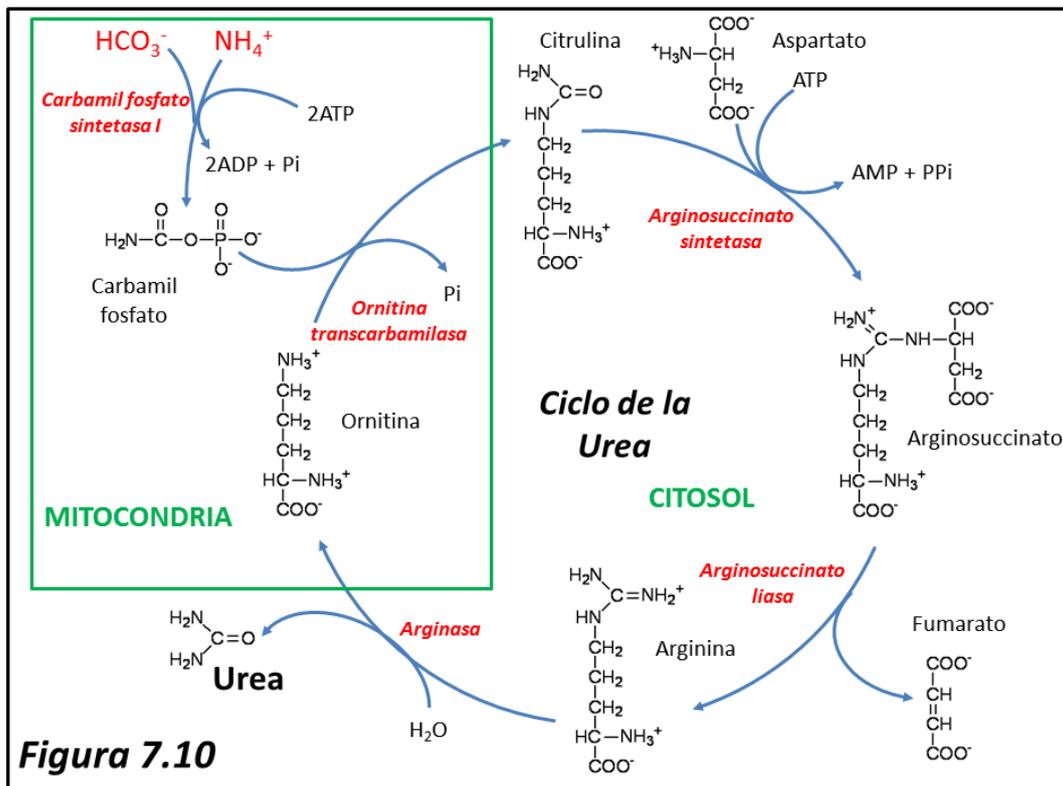
La excreción de nitrógeno en los animales supone un compromiso entre el gasto energético en la síntesis de productos finales y el ahorro de agua. Este último es particularmente importante en animales de vida terrestre o aérea.

Así, la mayor parte de los vertebrados acuáticos (peces óseos, larvas de anfibio), al disponer de agua en abundancia, excretan el nitrógeno simplemente en forma de ion amonio NH_4^+ (un átomo de nitrógeno por molécula). Son los **animales amoniotélicos**. Por el contrario, en reptiles y aves interesa el máximo ahorro de agua, lo que se consigue gracias a la excreción en forma de ácido úrico, en donde en una única molécula se excretan cuatro nitrógenos. Son los **animales uricotélicos**. Ahora bien, como veremos, la síntesis de anillo purínico supone un considerable dispendio de energía. Los mamíferos excretan su nitrógeno en forma de urea (dos átomos de nitrógeno por molécula), lo cual significa una especie de compromiso entre los dos extremos citados. Son los **animales ureotélicos**. Es este proceso el que vamos a estudiar a continuación.

La urea se produce a través de una vía cíclica, de localización casi exclusivamente hepática, descubierta por **Krebs** y **Henseleit** (antes que el ciclo del citrato) al comprobar que la producción de urea en cortes finos de hígado dependía linealmente de compuestos como ornitina. Una vez resuelto en su totalidad, el ciclo de la urea presenta las siguientes características (a) requiere energía en forma de ATP (3 enlaces ricos en energía); (b) los dos nitrógenos de la molécula de urea proceden de amonio NH_4^+ y del aminoácido aspartato; (c) las dos primeras reacciones del ciclo son de localización mitocondrial y las restantes citoplásmicas. La estequiometría global del ciclo de la urea es:



En la **figura 7.10** se presenta esquemáticamente el ciclo de la urea en su totalidad.



Reacción 1: Carbamilfosfato sintetasa I (mitocondrial, EC 6.3.4.16)

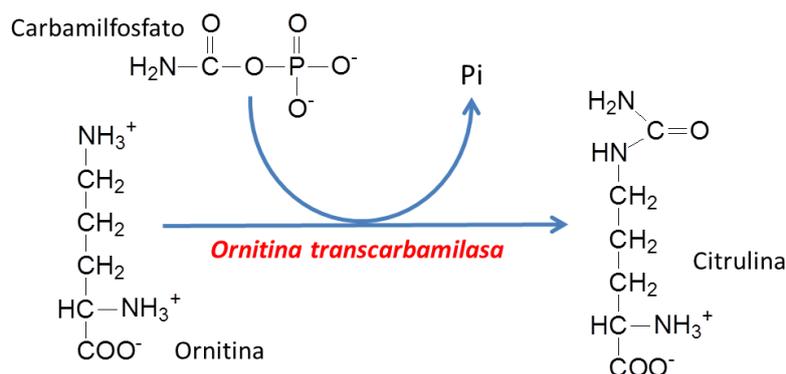
Esta reacción fue estudiada más arriba (sección 7.3.4.1) como una de las reacciones de organificación de amoníaco. En ella se incorpora el primer nitrógeno, y es de localización mitocondrial:



Esta enzima está presente en la mitocondria a muy alta concentración. Esto permite que incluso a concentraciones muy por debajo de la K_m pueda funcionar con eficiencia y respuesta inmediata ante aumentos de la concentración de NH_4^+ .

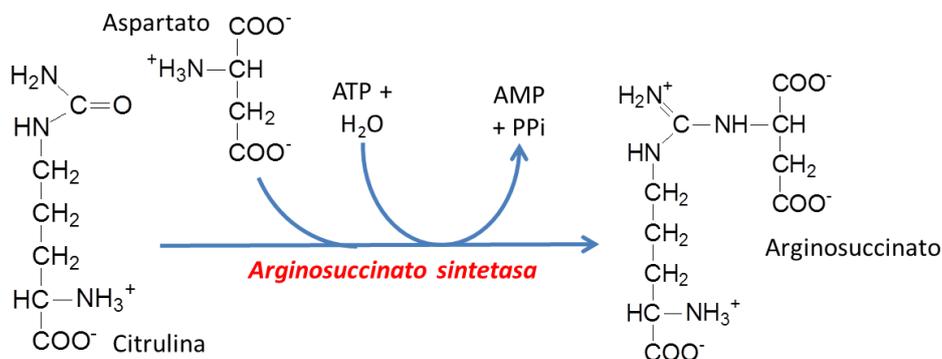
Reacción 2: Ornitina transcarbamilasa (EC 2.1.3.3)

Esta segunda reacción es asimismo mitocondrial. Se incorpora el carbamilfosfato a una molécula de ornitina para dar **citrulina** y liberando fosfato inorgánico. La citrulina formada pasa al citoplasma de la célula:



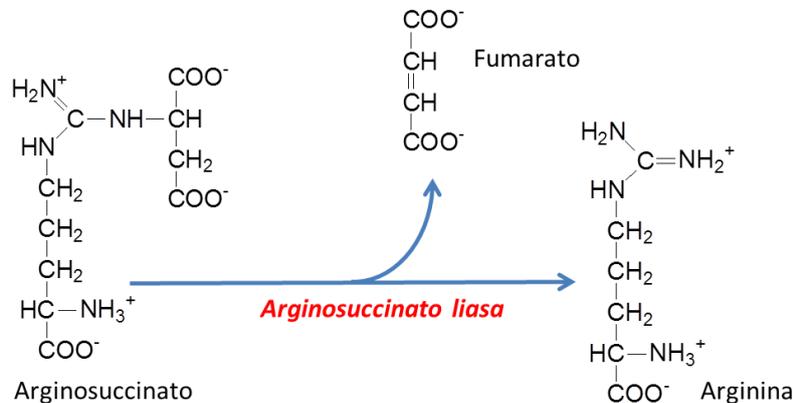
Reacción 3: Arginosuccinato sintetasa (EC 6.3.4.5)

Una molécula de aspartato se condensa con citrulina para dar **arginosuccinato**. Esta reacción requiere hidrólisis de ATP a AMP y pirofosfato inorgánico. En la misma se incorpora el segundo nitrógeno:



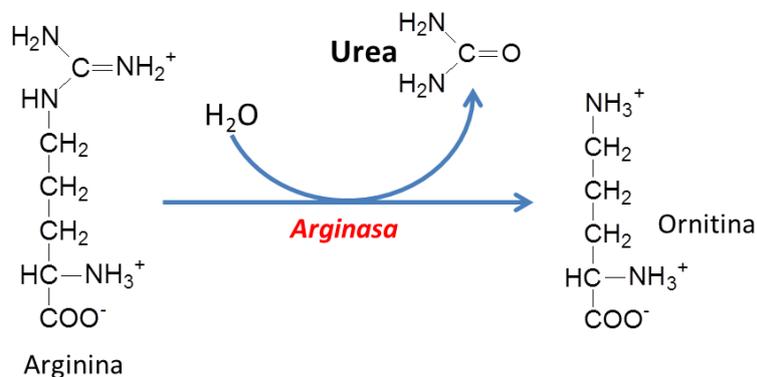
Reacción 4: Arginosuccinato liasa (EC 4.3.2.1)

La molécula de arginosuccinato se descompone en **fumarato** y **arginina**. Ésta es la única reacción capaz de producir arginina en mamíferos. Por esa razón hay quien considera que la arginina no es un aminoácido esencial. Ahora bien, la arginina es atacada muy rápidamente por la siguiente enzima en el ciclo, la arginasa, por lo que parece poco probable que arginina pueda ser considerada como aminoácido no esencial. La reacción es la siguiente:



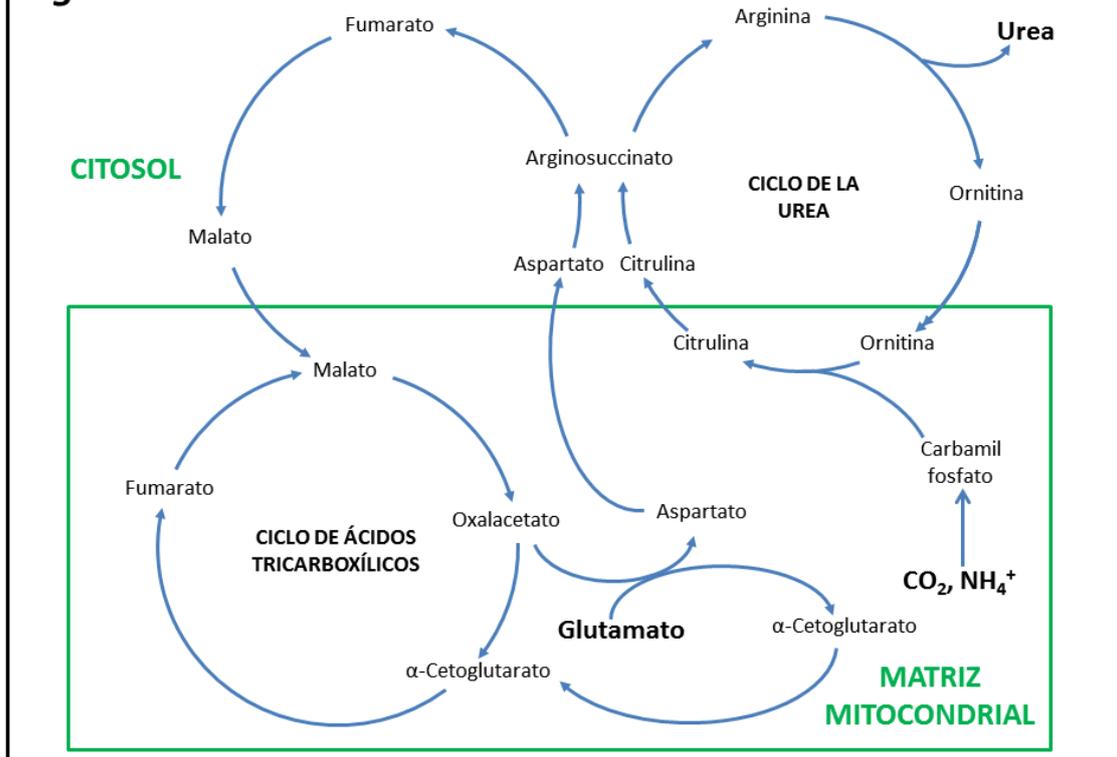
Reacción 5: Arginasa (EC 3.5.3.1)

En la última reacción del ciclo, la arginina es hidrolizada a **urea** y **ornitina**. La ornitina ingresa en la mitocondria y está en condiciones de iniciar un nuevo ciclo al condensarse con carbamilo fosfato. La reacción es:



Los dos ciclos de Krebs (ácidos tricarboxílicos y urea) están íntimamente relacionados mediante el intermediario citosólico arginosuccinato, tal como puede apreciarse en la **figura 7.11**. En realidad se pueden describir tres ciclos (ácidos tricarboxílicos, urea y arginosuccinato) interrelacionados y alimentados en último término por glutamato, CO_2 y NH_4^+ . Se desarrollan tanto en la matriz mitocondrial como en el citosol. Las moléculas que atraviesan la membrana interna mitocondrial son malato, aspartato, citrulina y ornitina.

Figura 7.11



7.5 Catabolismo de aminoácidos

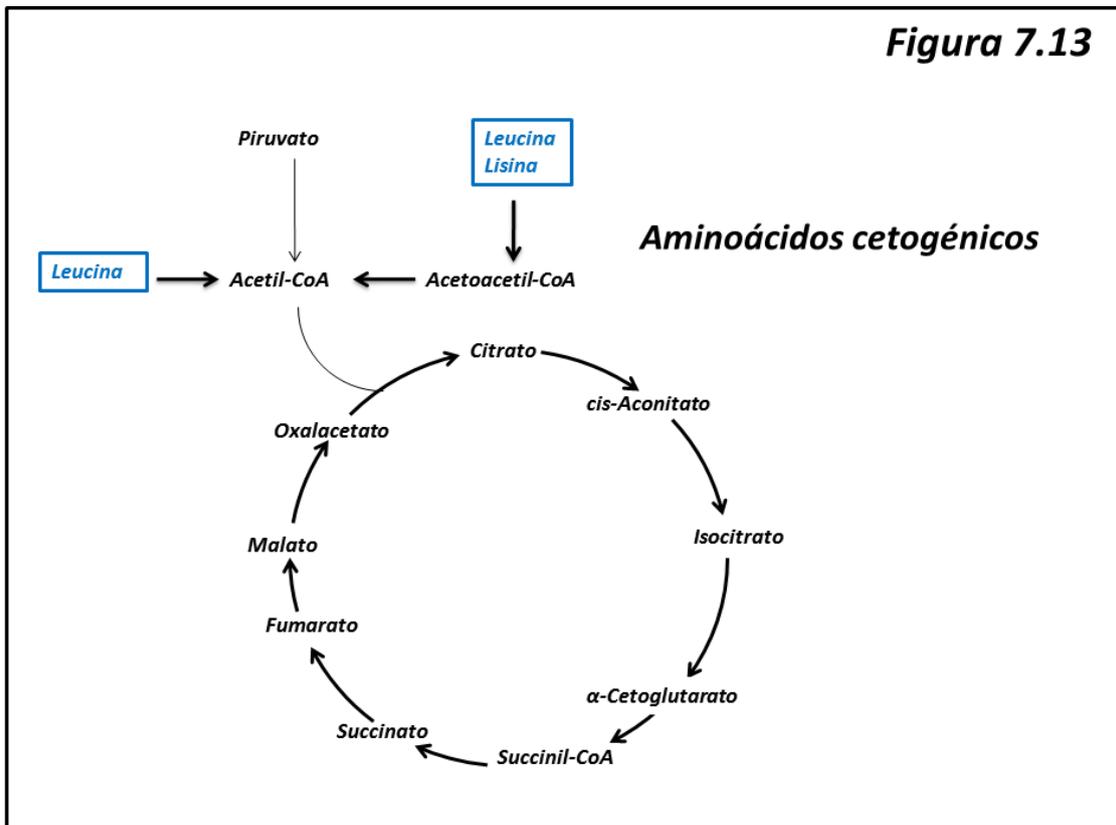
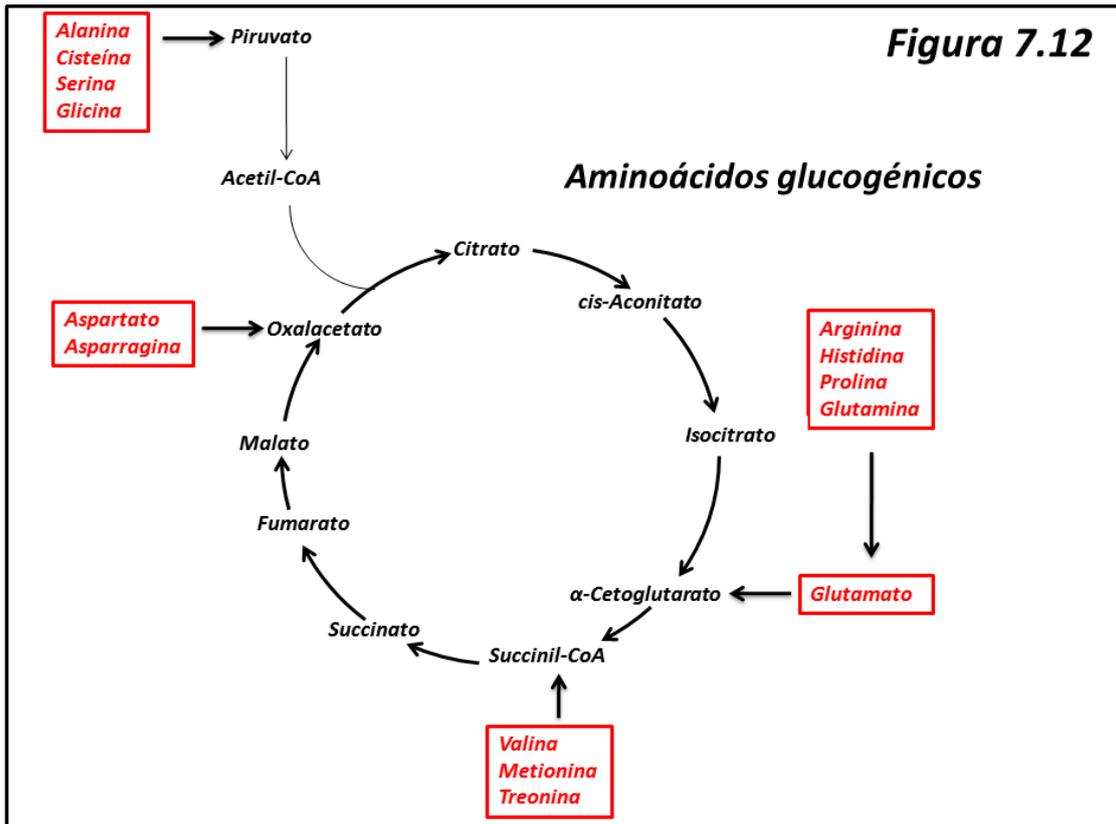
7.5.1 Aminoácidos glucogénicos y cetogénicos

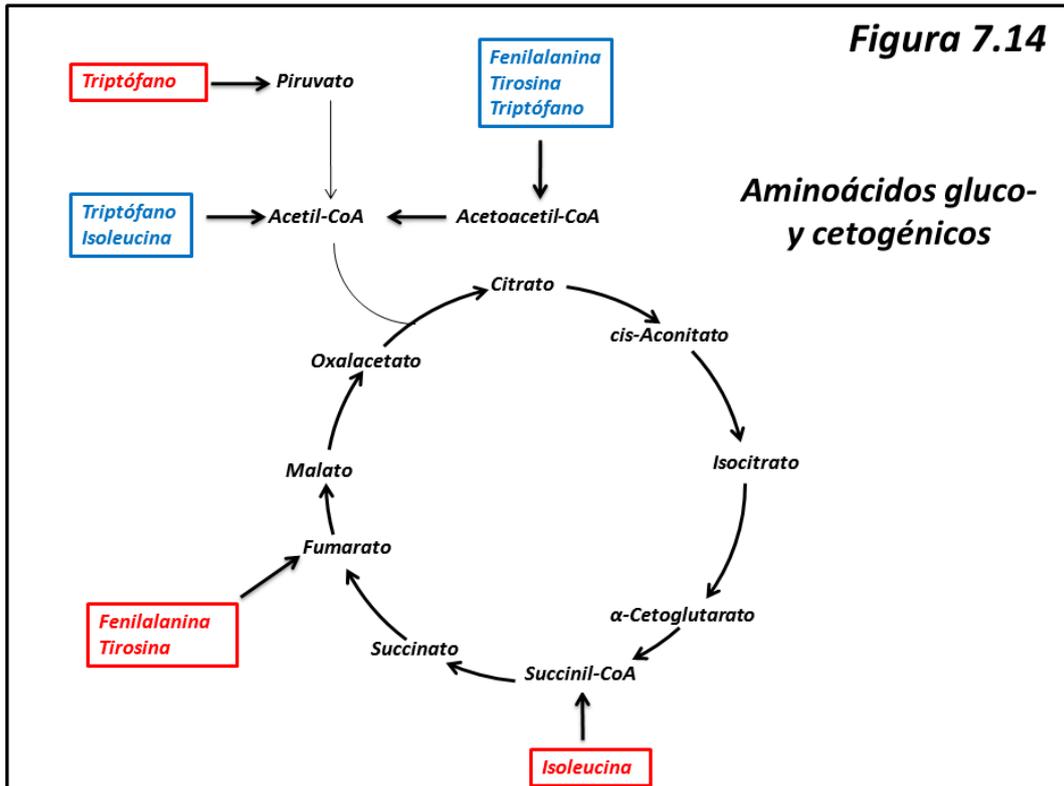
Una vez que hemos estudiado el destino metabólico del nitrógeno en los aminoácidos, tenemos que considerar el metabolismo del esqueleto carbonado de los distintos aminoácidos. Para ello es útil la distinción entre aminoácidos glucogénicos y cetogénicos.

Los **aminoácidos glucogénicos** son aquellos que en su catabolismo producen intermediarios glicolíticos o intermediarios del ciclo de Krebs. Reciben este nombre porque tanto desde intermediarios glicolíticos (p.e., piruvato) como de intermediarios del ciclo (α -cetoglutarato, oxalacetato) se puede dar lugar a síntesis neta de glucosa sin necesidad de reacciones anapleróticas que repongan el nivel previo del intermediario (figura 7.12)

Los **aminoácidos cetogénicos** dan lugar a acetil-CoA o a cuerpos cetónicos como acetoacetyl-CoA. En este caso no puede haber síntesis neta de glucosa porque acetyl-CoA sólo puede metabolizarse entrando en el ciclo. En éste, la adición de acetyl-CoA no supone ninguna adición de materia, porque cada dos carbonos que entran, salen otros dos en forma de CO₂; de manera que no hay adición neta de carbonos al ciclo (figura 7.13). Si algún intermediario entra en vía neoglucogénica, sería necesaria una reacción anaplerótica para reponer el nivel previo del mismo. Solamente hay dos aminoácidos puramente cetogénicos: leucina y lisina.

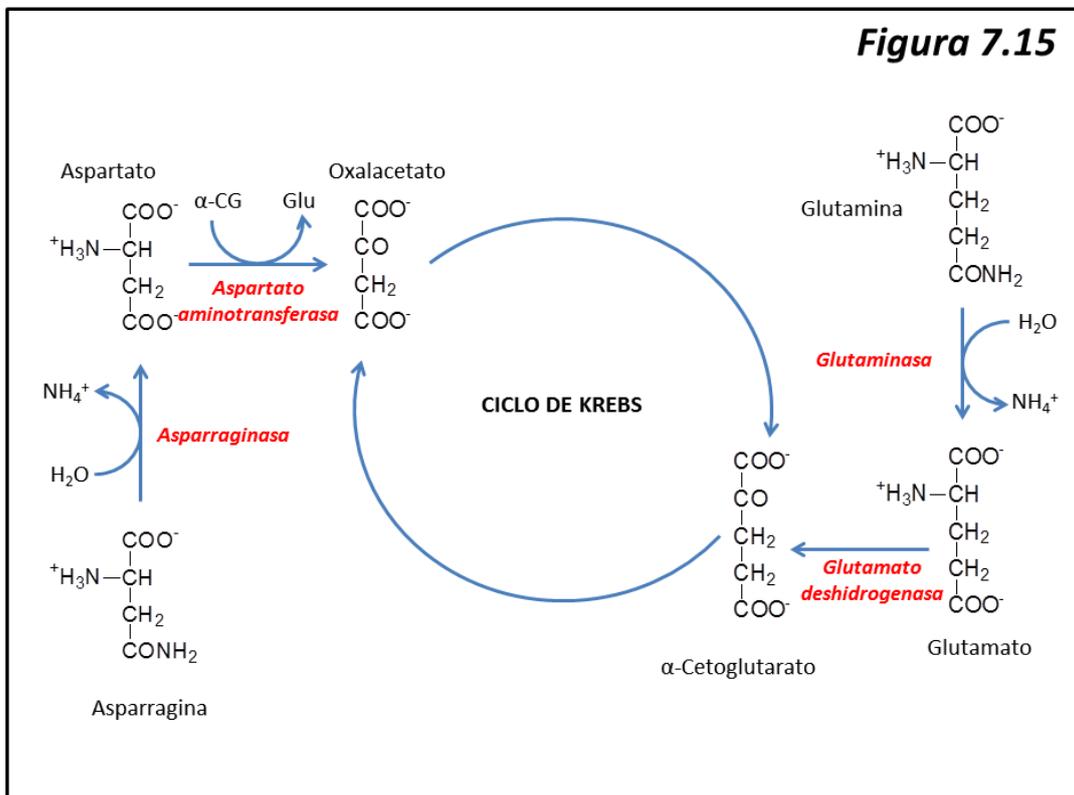
Hay, además, **aminoácidos** que son a la vez **glucogénicos y cetogénicos**. Son aquellos en los que una parte de la molécula da lugar a intermediarios glucogénicos y otra da lugar a acetyl-CoA o acetoacetyl-CoA (figura 7.14).





7.5.2 Glutamato, glutamina, aspartato y asparragina

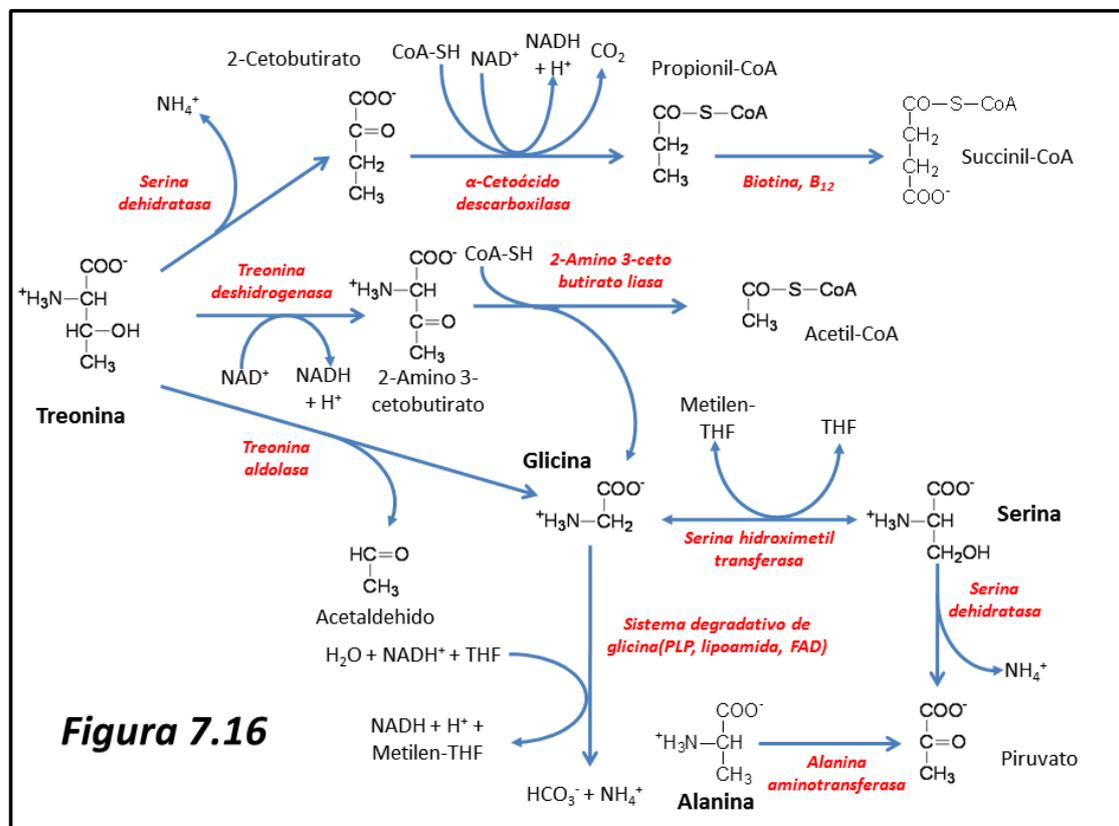
El catabolismo de estos aminoácidos es directo hacia intermediarios del ciclo de Krebs. Se esquematiza en la [figura 7.15](#)



La desaminación hidrolítica de glutamina por glutaminasa da lugar a glutamato, el cual a través de glutamato deshidrogenasa produce **α -cetoglutarato**. Por su parte, la asparragina rinde aspartato mediante otra desaminación hidrolítica catalizada por asparraginasa. El aspartato, por transaminación, da lugar a **oxalacetato**. Tanto uno como otro son intermediarios directos del ciclo de Krebs; a partir del mismo pueden ser degradados aeróbicamente, ser utilizados como sustratos neoglucogénicos o participan en transaminaciones de otros aminoácidos.

7.5.3 Alanina, glicina y serina

El metabolismo de estos aminoácidos se resume en la **figura 7.16**. La transaminación de alanina (con α -cetoglutarato mediante la ALT) da directamente **piruvato**, que puede ser degradado por descarboxilación oxidativa a acetil-CoA mediante el ciclo de Krebs o ser empleado como sustrato neoglucogénico.



La serina puede seguir dos vías. Una, minoritaria, consiste en la desaminación/deshidratación catalizada por la **serina deshidratasa**, dando lugar a **piruvato** y **amonio**. Sin embargo, la ruta principal de degradación de serina consiste en su conversión (reversible) a glicina mediante la **serina hidroximetil transferasa**, enzima que requiere una coenzima folínica que en el curso de la reacción se convierte en metileno-tetrahidrofolato (metileno-THF), el cual opera como donador de monocarbono en la síntesis de nucleótidos de timina (ver cap. 8).

La glicina es completamente degradada por el **sistema degradativo de glicina**, un complejo multienzimático que utiliza piridoxal-fosfato, lipoamida, NAD^+ , FAD y tetrahidrofolato (THF). En el curso de la reacción se produce NADH , CO_2 , NH_4^+ y metileno-THF. Otra vía posible para la degradación de glicina sería su conversión a serina y la transformación de ésta en piruvato según vimos en el párrafo anterior (minoritaria).

7.5.4 Treonina

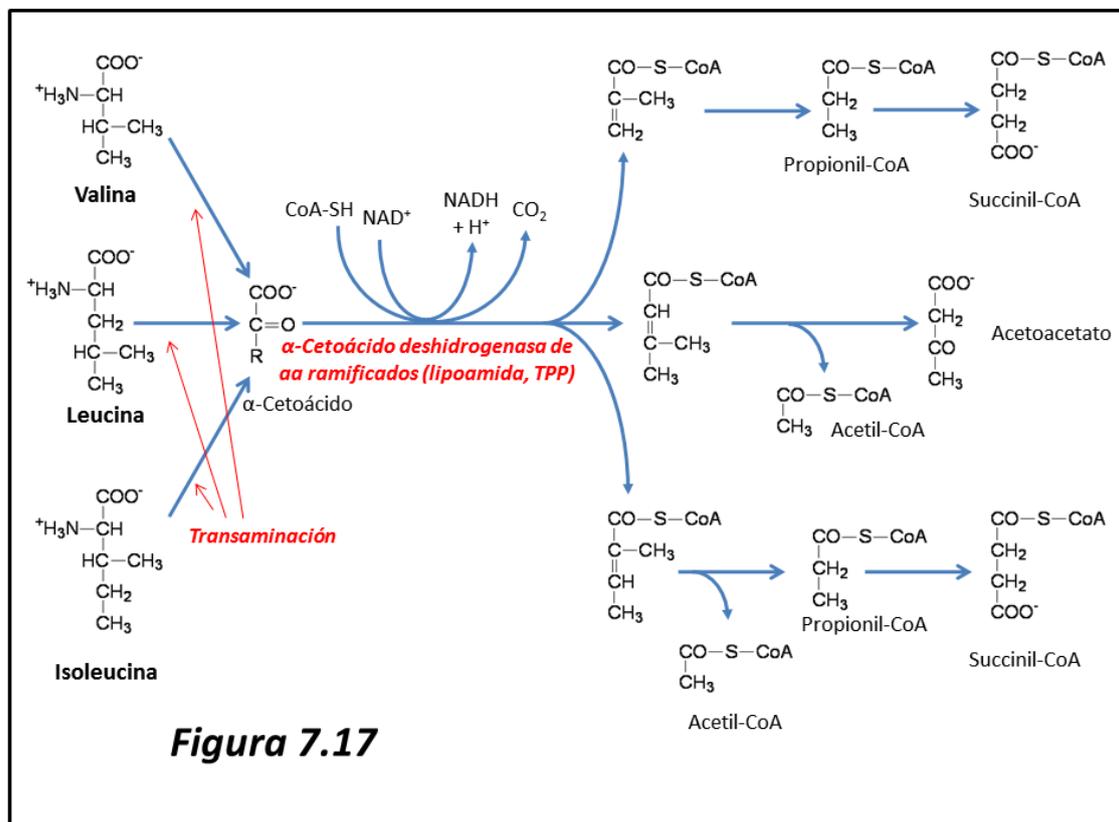
Treonina puede ser degradada de tres maneras distintas (figura 7.16). Una consiste en su oxidación a 2-amino 3-cetobutirato, seguido por la rotura liásica de éste a **acetil-CoA** y **glicina** (que es catabolizada según vimos en la sección anterior); hay que tener en cuenta que según esta vía, treonina sería un aminoácido cetogénico.

Una segunda ruta sería otra rotura liásica de la molécula, catalizada por la treonina aldolasa, que produce glicina y acetaldehído. Acetaldehído es oxidado a acetato, que unido a CoA-SH da lugar a **acetil-CoA**. La glicina es degradada según vimos en la sección anterior.

Una tercera vía, al parecer la preferente en mamíferos, consiste en su desaminación/deshidratación por la serina desidratasa, dando 2-cetobutirato que será transformado en propionil-CoA, que rendirá succinil-CoA, substrato del ciclo de Krebs, a través del mismo mecanismo estudiado para los ácidos grasos de número impar de átomos de carbono, en un proceso que requiere biotina y una coenzima cobamídica (vit. B₁₂.)

7.5.5 Valina, leucina e isoleucina (aminoácidos ramificados)

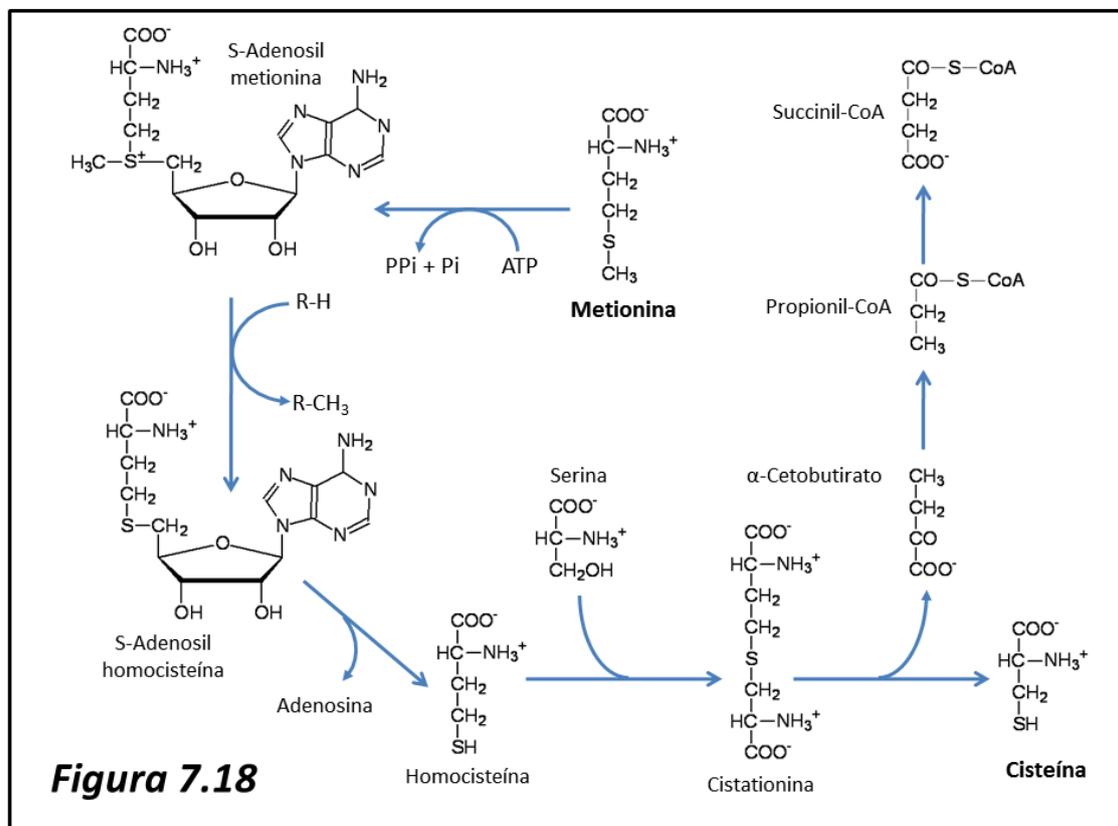
La figura 7.17 nos muestra el metabolismo de estos tres aminoácidos, cuyos primeros pasos están catalizados por las mismas enzimas. En primer lugar, una transaminación (catalizada por la misma enzima para los tres) produce el correspondiente cetoácido. A continuación, un proceso similar a la descarboxilación oxidativa de piruvato, dependiente de tiamina pirofosfato, lipoamida, CoA-SH, y catalizado por un complejo multienzimático, da lugar a los correspondientes cetoacil-CoA.



Valina da lugar a succinil-CoA, siendo por tanto, puramente glucogénico; leucina rinde acetil-CoA y acetoacetato, siendo puramente cetogénico; isoleucina da lugar a acetil-CoA y succinil-CoA, por lo que es a la vez cetogénico y glucogénico.

7.5.6 Metionina y cisteína

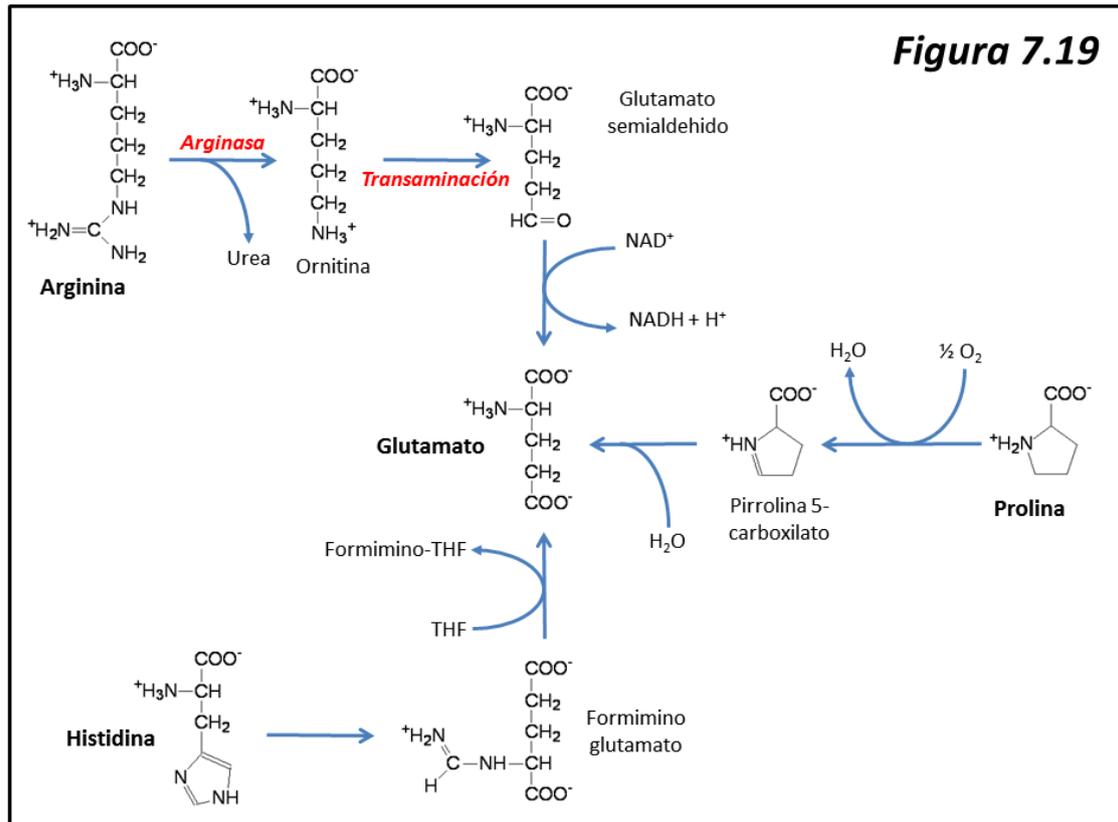
El catabolismo de estos aminoácidos aparece en la **figura 7.18**. Metionina se combina con ATP para producir S-adenosil metionina, que tras donar su grupo metilo, produce S-adenosil homocisteína. La homocisteína se combina con serina para dar cistationina, que se descompone en cisteína y 2-cetobutirato. Ésta es, por otra parte, la vía de biosíntesis de cisteína a partir de metionina (ver más adelante). 2-Cetobutirato sigue la misma ruta que hemos visto en el caso de treonina: termina como succinil-CoA, por lo que metionina es puramente glucogénico.



Cisteína, por su parte, es oxidada a cisteína sulfinato que transamina con α -cetoglutarato para producir sulfinil piruvato, el cual es desulfurado a piruvato de manera no enzimática. Cisteína también es, por tanto, un aminoácido glucogénico.

7.5.7 Arginina, prolina e histidina

El metabolismo de estos tres aminoácidos termina en glutamato, como se aprecia en la **figura 7.19**. La arginina atacada por la arginasa, según vimos antes, da lugar a ornitina, que por transaminación sobre el carbono 5 da lugar al glutamato semialdehído que es oxidado a glutamato en una reacción dependiente de NAD^+ .



La prolina es oxidada por una oxidasa a pirrolina-5-carboxilato, que a continuación es hidrolizado a glutamato.

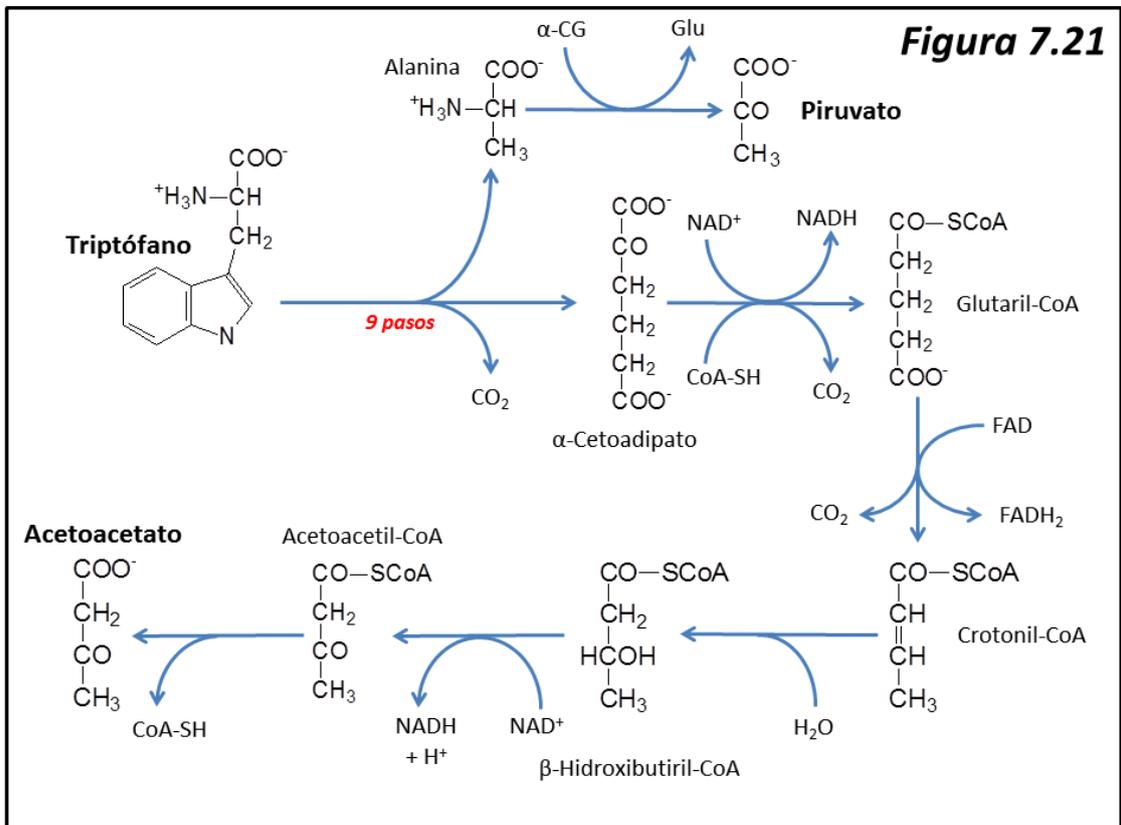
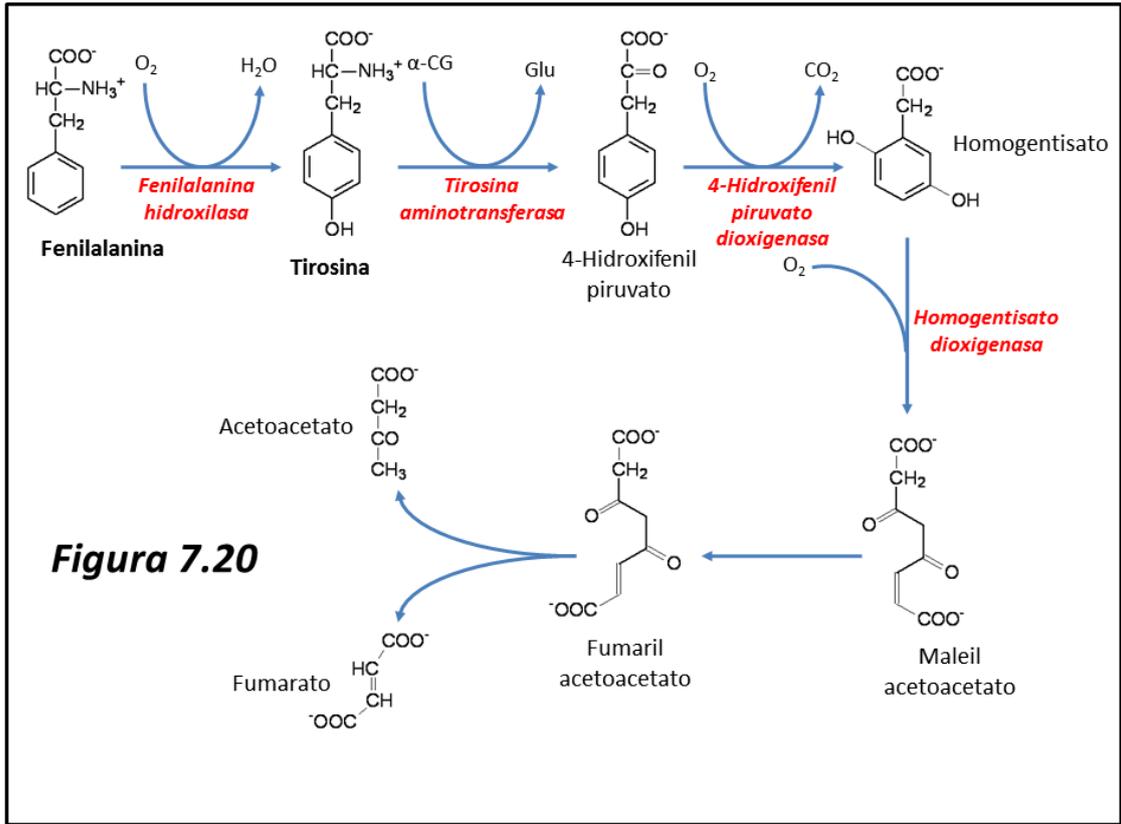
La histidina pasa por un proceso complicado que implica rotura del anillo imidazólico rindiendo formimino-glutamato. Éste dona el grupo formimino a una coenzima folínica (THF) dando glutamato.

Estos tres aminoácidos son, por tanto, glucogénicos.

7.5.8 Fenilalanina, tirosina y triptófano

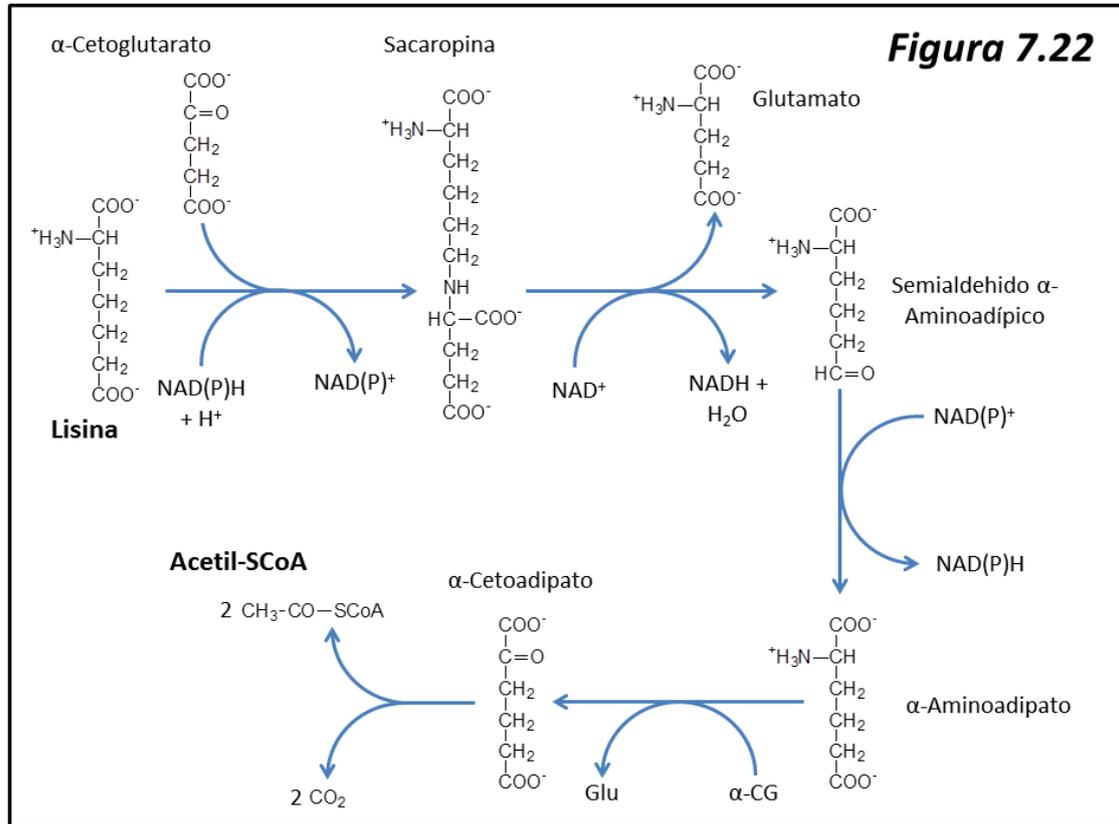
La **figura 7.20** nos muestra el catabolismo de fenilalanina y tirosina. En primer lugar, la fenilalanina hidroxilasa convierte la fenilalanina en tirosina. La transaminación de ésta con α -cetoglutarato produce 4-hidroxifenil piruvato, que por acción de una dioxigenasa produce homogentisato. Otra dioxigenasa (homogentisato dioxigenasa) rompe el ciclo de éste para dar maleil acetoacetato, que se isomeriza a fumaril acetoacetato. Por último, éste se descompone en fumarato (la parte glucogénica de la molécula) y acetoacetato (la parte cetogénica). Esta ruta de biosíntesis es asiente de dos importantes errores congénitos de metabolismo. Uno, la fenilcetonuria, por déficit de fenilalanina hidroxilasa; otro, la alcaptonuria, por falta de la homogentisato dioxigenasa.

El triptófano sigue un proceso complicado para la rotura del anillo indólico (**figura 7.21**). Esta rotura produce por una parte alanina (que transamina a piruvato) y por otra, α -cetoadipato que termina como 2 moléculas de acetil-CoA y otras dos de CO_2 . Triptófano, al igual que fenilalanina y tirosina, es a la vez glucogénico y cetogénico.



7.5.9 Lisina

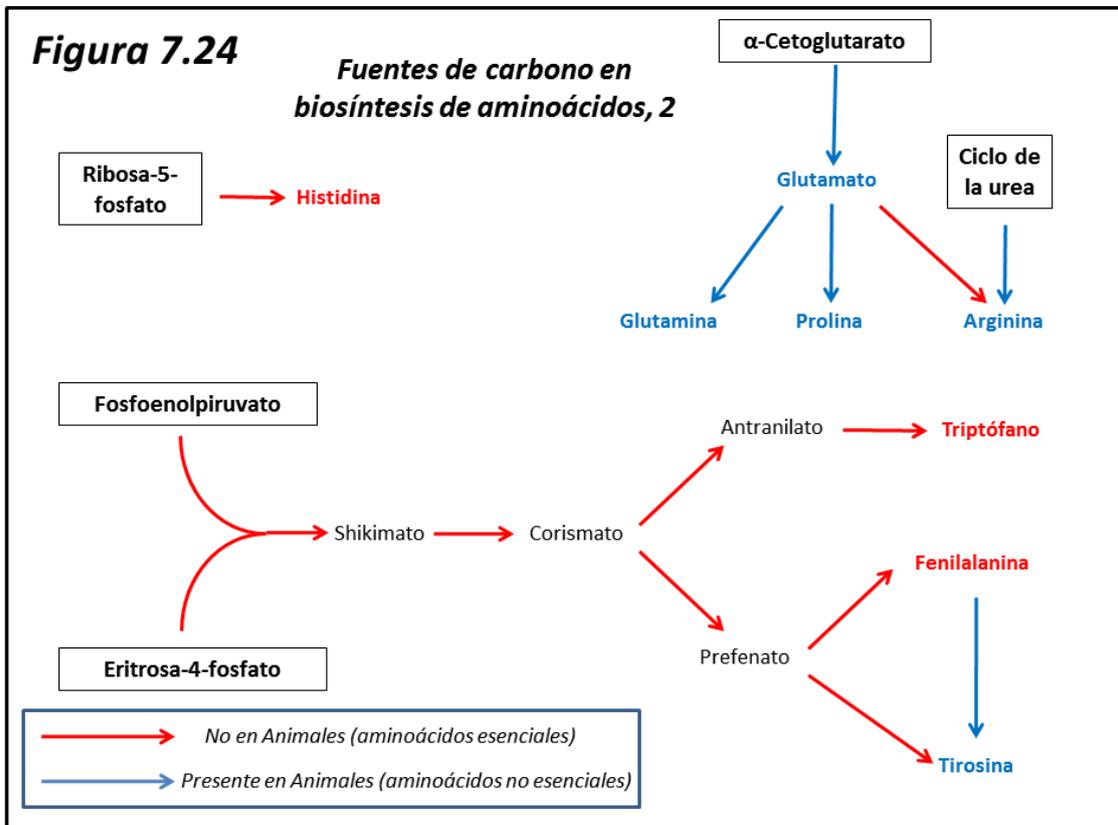
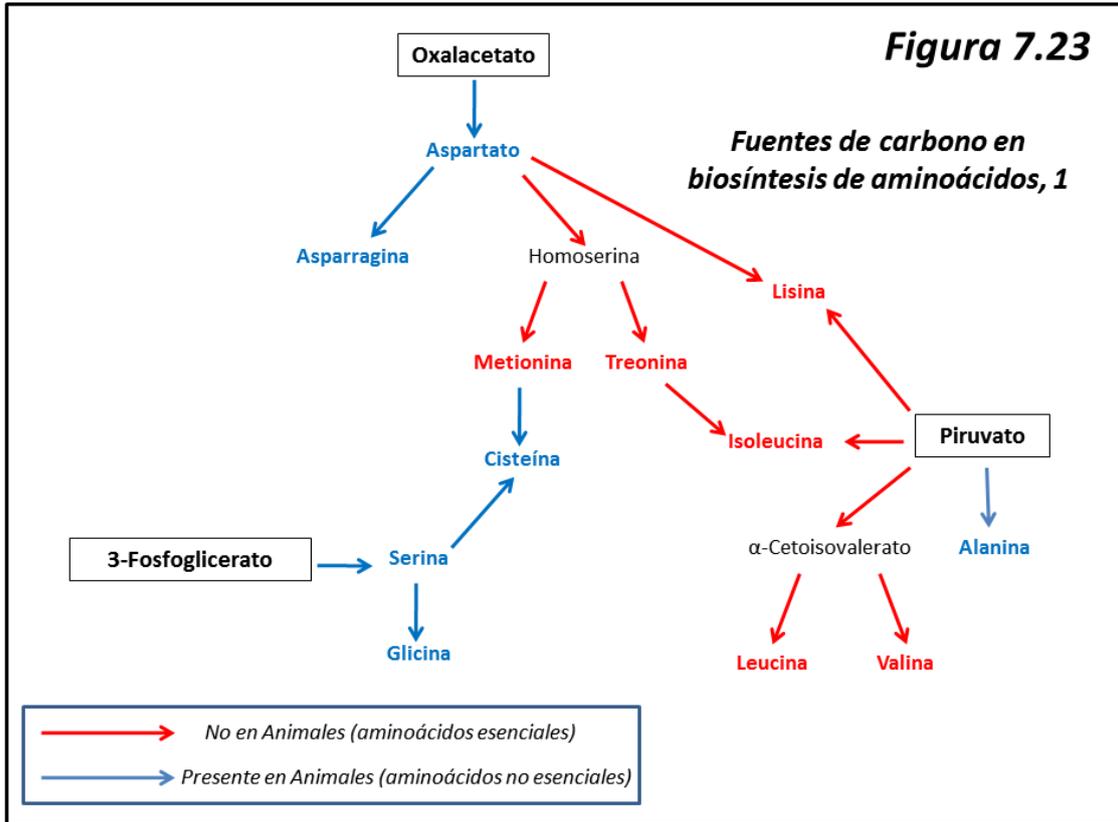
La principal ruta de degradación de lisina se presenta en la [figura 7.22](#). Pasa por la condensación del aminoácido con α -cetoglutarato para formar el intermediario sacaropina. Dos oxidaciones secuenciales convierten a éste en α -aminoadipato, que por transaminación con α -cetoglutarato da lugar a α -cetoadipato, el cual es degradado a dos moléculas de acetil-CoA y dos de CO_2 por el mismo sistema que vimos en la degradación de triptófano. Por tanto, lisina es puramente cetogénico.



7.6 Biosíntesis de aminoácidos no esenciales

En general, los organismos animales son capaces de sintetizar 10 de los 20 aminoácidos proteicos (Gly, Ala, Tyr, Ser, Cys, Pro, Glu, Gln, Asp, Asn). Plantea dudas la esencialidad de arginina. Hemos visto que en el ciclo de la urea se produce arginina como intermediario a partir de la rotura enzimática de la molécula de arginosuccinato. Pero la actividad siguiente de la arginasa para producir urea y ornitina es muy grande en los tejidos ureogénicos como el hígado, por lo que la concentración de arginina a disposición de la síntesis proteica tiene necesariamente que ser muy baja a través de esta vía. Por tanto, se cree que es más adecuado considerar la arginina como aminoácido esencial.

Las [figuras 7.23 y 7.24](#) muestran un resumen de las fuentes de carbono necesarias para la síntesis de todos los aminoácidos. En azul aparecen las vías metabólicas presentes en animales, y en rojo, las que no lo son, y que corresponden a la síntesis de aminoácidos esenciales.



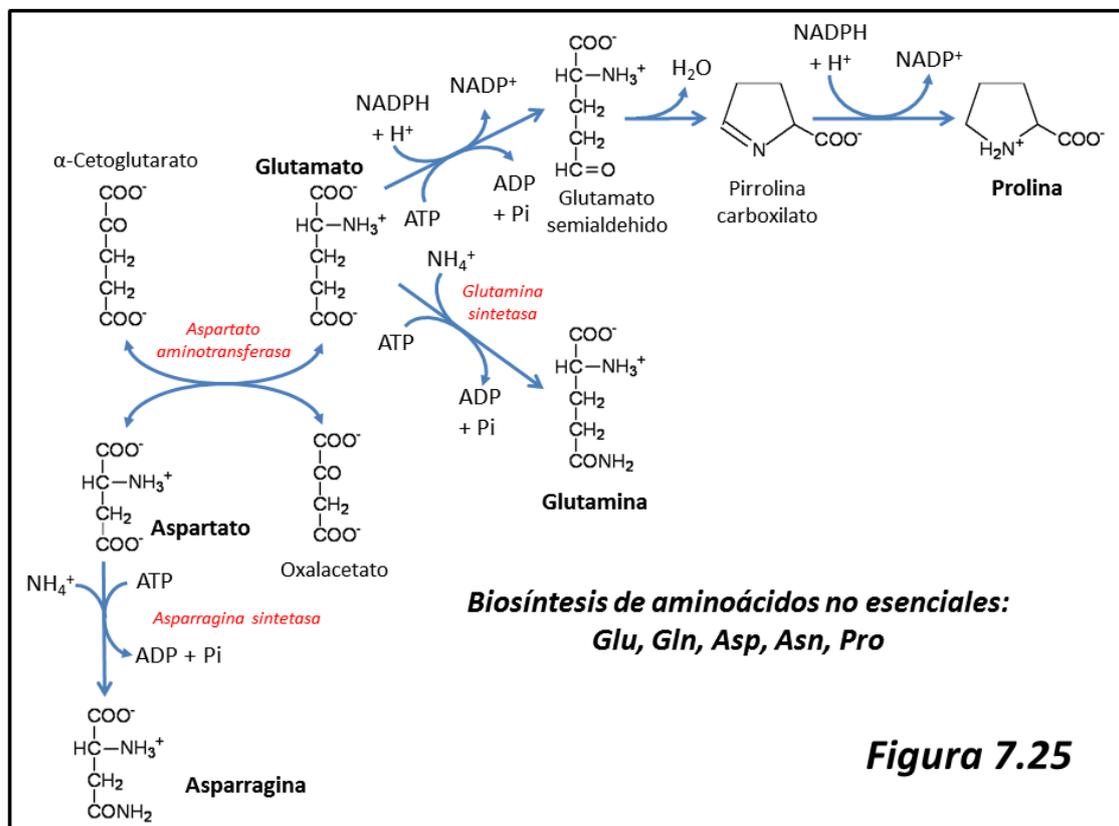
7.6.1 Glutamato, glutamina, aspartato, asparragina y prolina

En la **figura 7.25** se muestran las vías mediante las cuales se sintetizan en el organismo animal (y humano, por tanto) estos aminoácidos. Muchas de estas reacciones han sido mencionadas previamente.

Glutamato se forma por (a) glutamato deshidrogenasa a partir de α -cetoglutarato y amoníaco, o bien (b) transaminación sobre α -cetoglutarato. Glutamina, a través de la reacción de la glutamina sintetasa.

Aspartato es sintetizado por transaminación con glutamato sobre oxalacetato; asparragina, por la reacción de la asparragina sintetasa actuando sobre aspartato.

Prolina se forma a partir de glutamato por reducción del carboxilo lateral a aldehído a expensas de NADPH, en una reacción que requiere ATP. El glutamato semialdehído se cicliza a pirrolina 2-carboxilato, que es nuevamente reducido a prolina.

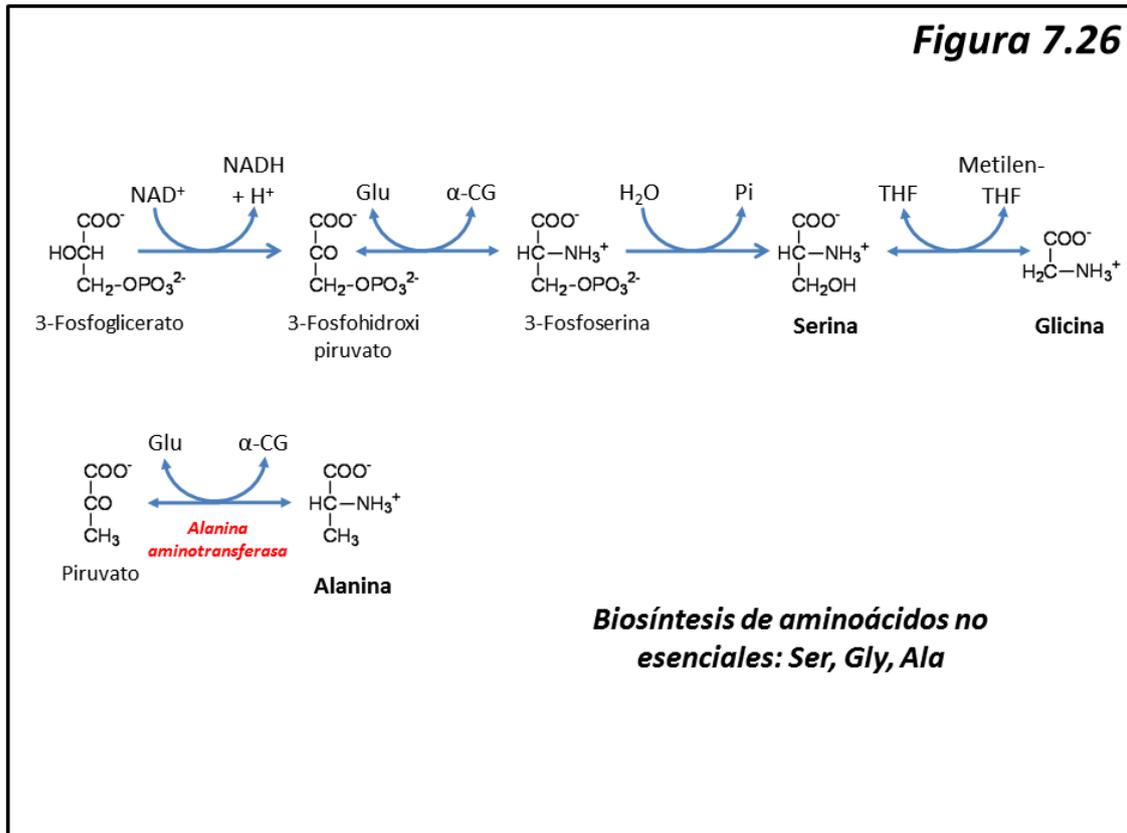


7.6.2 Serina, glicina y alanina

Serina procede del intermediario glicolítico 3-fosfoglicerato. En una primera reacción es oxidado a 3-fosfohidroxipiruvato en una reacción dependiente de NAD⁺. La transaminación desde glutamato a este intermediario produce 3-fosfoserina, que pierde por hidrólisis el grupo fosfato rindiendo serina.

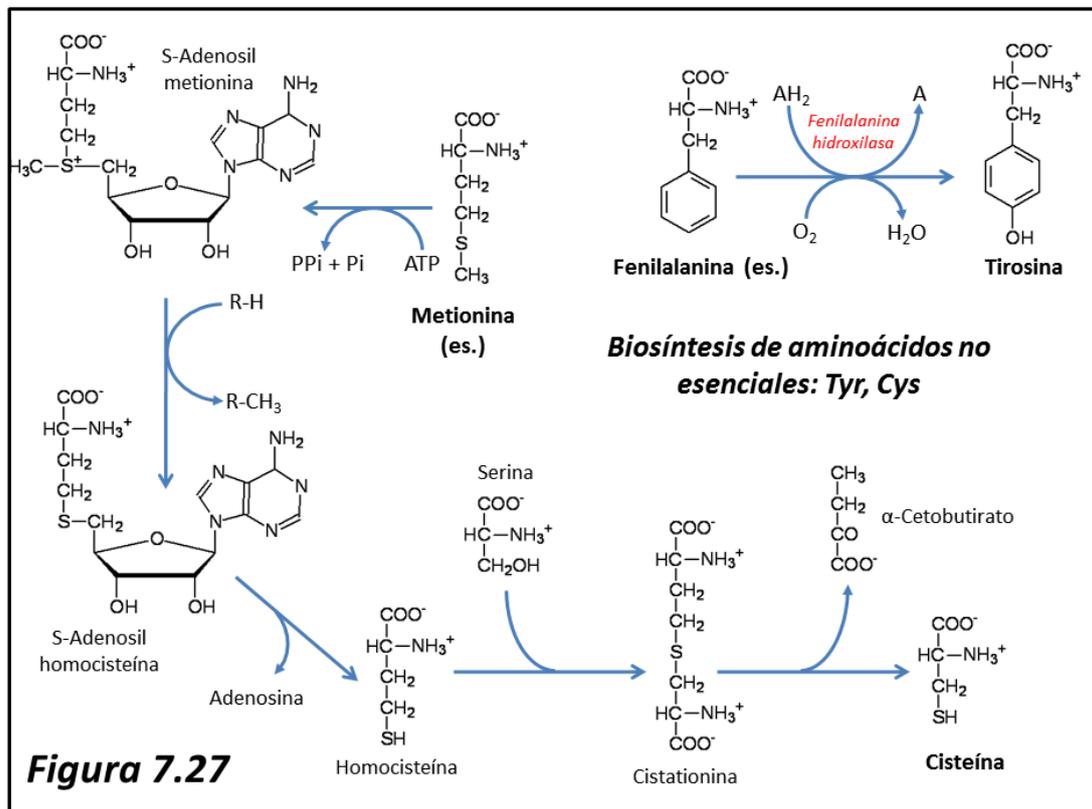
Serina y glicina están relacionados por la serina hidroximetil transferasa, enzima que requiere una coenzima folínica, y que hemos visto a propósito del catabolismo de estos aminoácidos.

Alanina procede de la transaminación directa de glutamato sobre piruvato. Estas reacciones aparecen esquematizadas en la [figura 7.26](#).



7.6.3 Tirosina y Cisteína

La síntesis de estos dos aminoácidos requiere la presencia de dos aminoácidos esenciales, fenilalanina y metionina respectivamente. Su producción sigue vías que ya hemos estudiado a propósito del catabolismo de estos aminoácidos ([figura 7.27](#)).



Tirosina se forma gracias a la acción de la fenilalanina hidroxilasa actuando sobre fenilalanina. Ésta es la enzima que falta o es defectiva en la fenilcetonuria.

La cisteína se forma a partir de metionina, con intermediarios S-adenosil metionina, S-adenosil homocisteína, homocisteína y cistationina.

7.7 Biosíntesis de aminoácidos esenciales

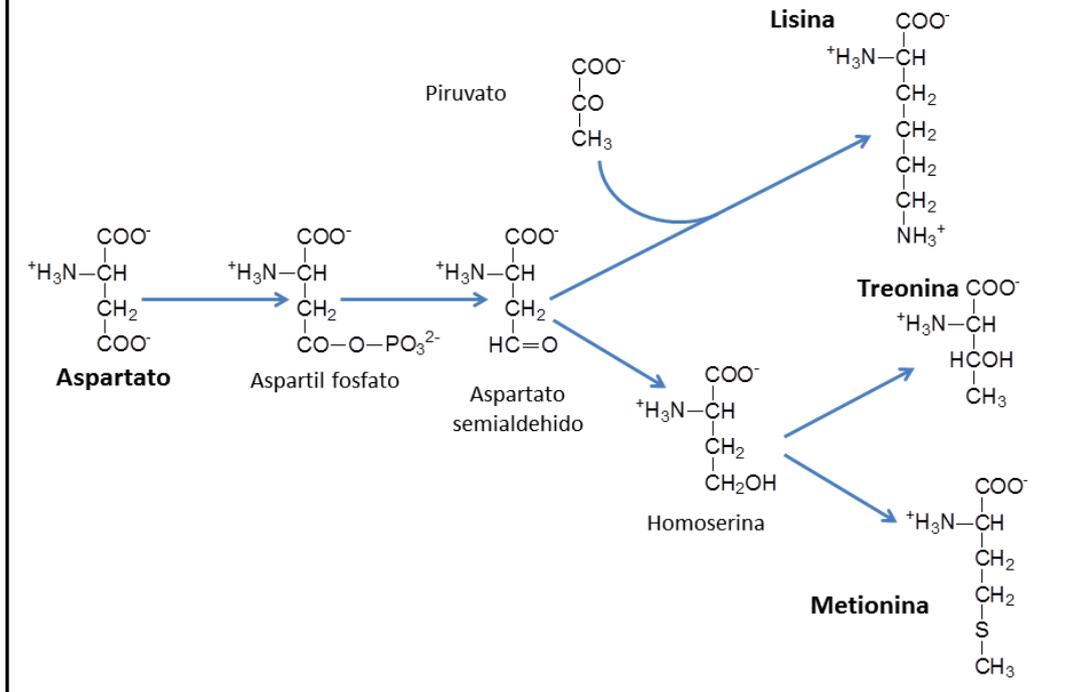
Veremos a continuación sucintamente algunos aspectos de la biosíntesis de aminoácidos esenciales, teniendo en cuenta que estas rutas metabólicas no aparecen en animales. La mayor parte de las que se describen son bacterianas.

7.7.1 Grupo del aspartato

Del aspartato derivan los aminoácidos esenciales metionina, treonina y lisina, siendo las dos primeras reacciones comunes. Aspartato es fosforilado a aspartil-fosfato y éste reducido a aspartato semialdehído.

Una ruta de otras 8 reacciones da lugar a lisina (se requiere también piruvato en esta ruta); por otra parte, la reducción ulterior del semialdehído da lugar a homoserina. Ésta, por una parte, rinde treonina y por otra es transformada en homocisteína, que dará lugar a metionina (figura 7.28).

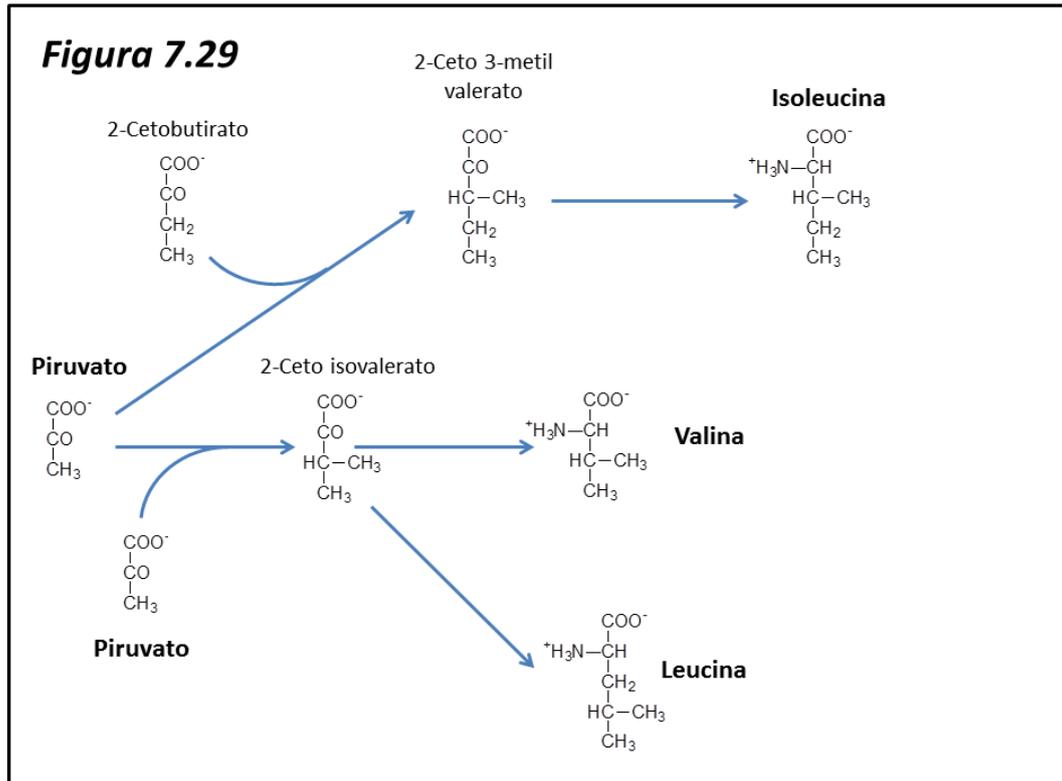
Figura 7.28



7.7.2 Grupo del piruvato

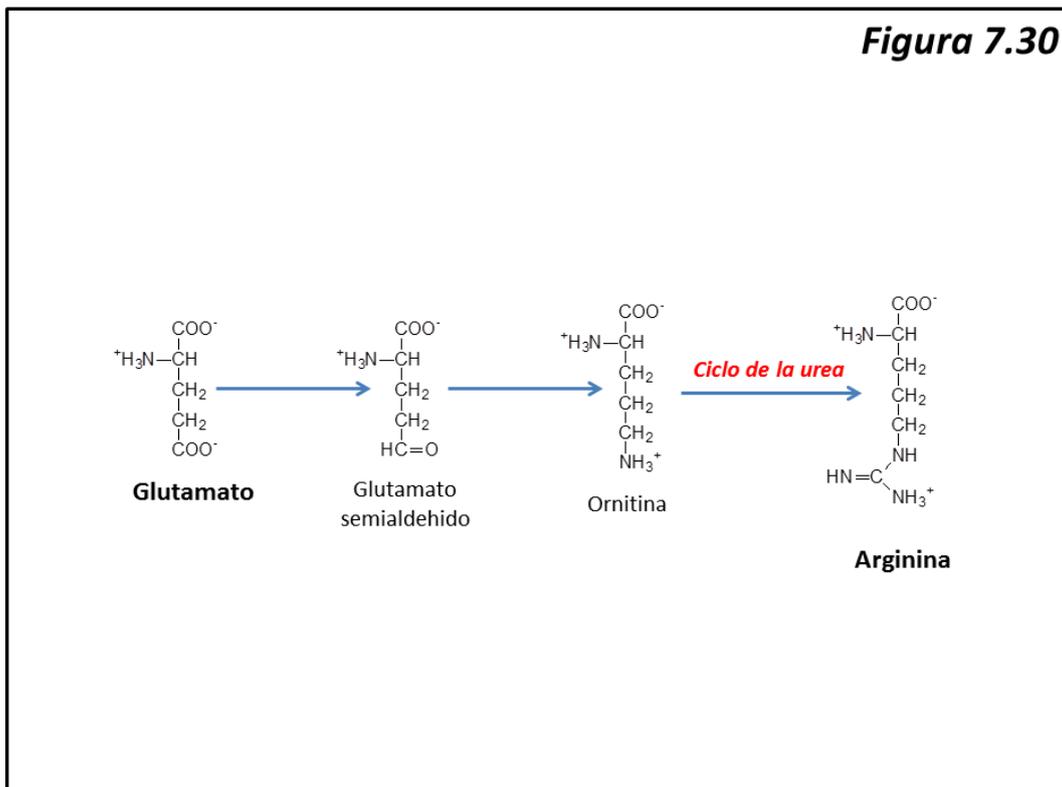
Este grupo está constituido por valina, leucina e isoleucina. La reacción de piruvato con 2-cetobutirato (producido en el metabolismo de treonina) da lugar a 2-ceto 3-metilvalerato, que por transaminación da lugar a isoleucina.

Dos moléculas de piruvato se condensan a 2-cetoisovalerato, que por transaminación rinde valina. A partir del 2-cetoisovalerato, otras cuatro reacciones dan lugar a leucina (figura 7.29).



7.7.3 Grupo del glutamato

Consideraremos en este grupo la síntesis bacteriana de arginina. El glutamato es reducido a semialdehído el cual da lugar a ornitina; mediante las enzimas del ciclo de la urea, ésta se transforma en arginina (figura 7.30).



7.7.4 Grupo de los aminoácidos aromáticos

La condensación de eritrosa-4-fosfato y fosfoenolpiruvato, en cuatro reacciones, produce shikimato; otras tres reacciones transforman a éste en corismato (figura 7.31). Por una parte, el corismato producirá triptófano mediante el intermediario antranilato; por otra se transforma en pefenato, del cual derivan fenilalanina y tirosina.

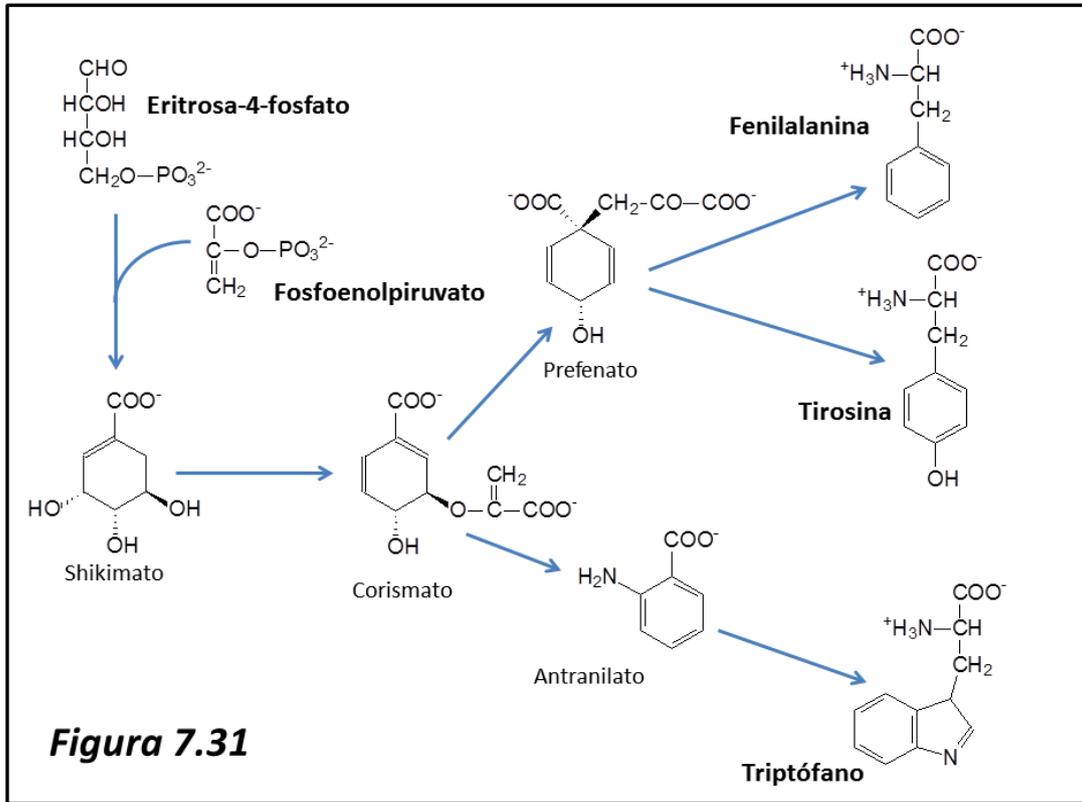
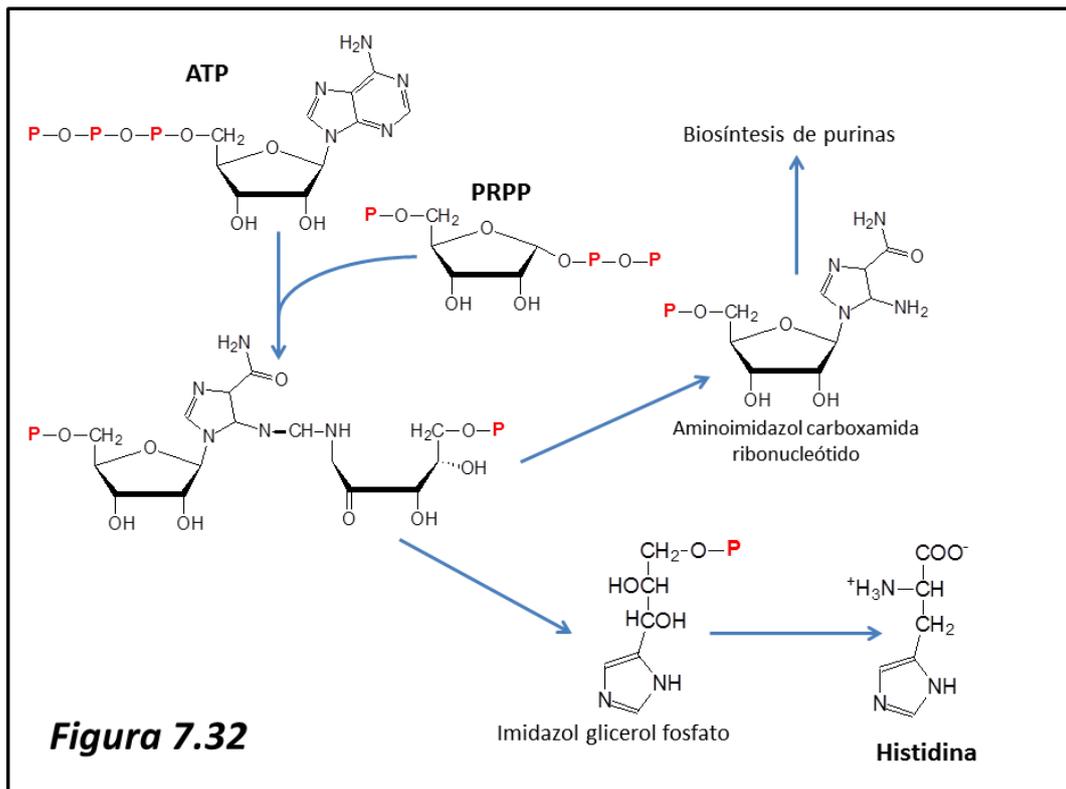


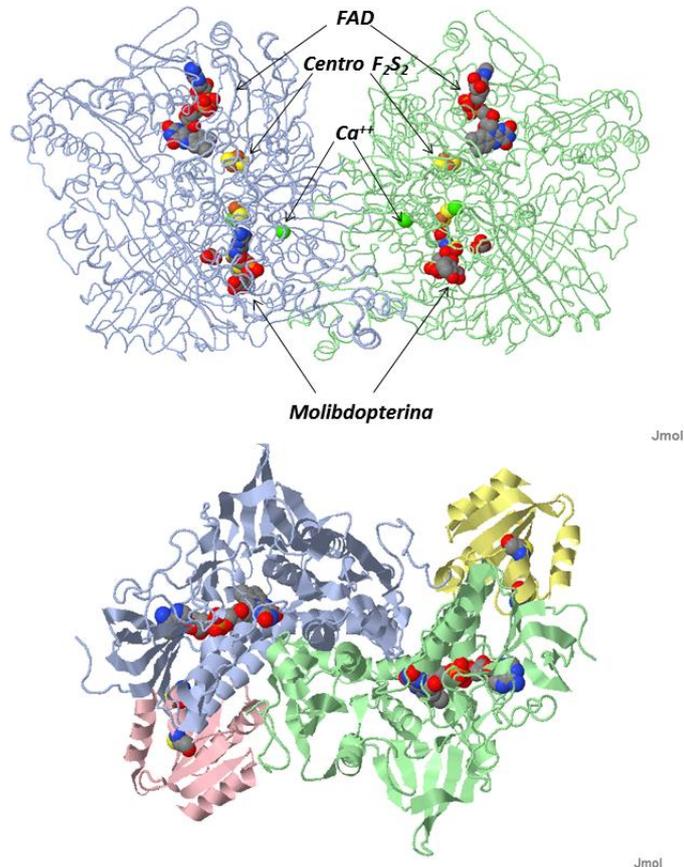
Figura 7.31

7.7.5 Histidina

La síntesis bacteriana de histidina tiene lugar a través de una ruta complicada que comienza con fosforribosil difosfato (PRPP) que se condensa con el anillo pirimidínico del nucleótido purínico ATP. Posteriormente este ciclo se rompe produciéndose imidazol glicerofosfato (más un intermediario de la biosíntesis de purinas), a partir del cual, en cinco reacciones, se obtiene histidina (figura 7.32)



CAPÍTULO 8: Metabolismo de nucleótidos. Metabolismo de porfirinas



8.1 Metabolismo de nucleótidos. Introducción

Los nucleótidos son los elementos monoméricos de los ácidos nucleicos, ribonucleótidos en el RNA y desoxirribonucleótidos en el DNA. La importancia del estudio de su metabolismo nos queda clara cuando consideramos el papel central que los ácidos nucleicos desempeñan en la biología de la célula. Por ejemplo, la síntesis replicativa del DNA, y en particular en aquellos tejidos muy proliferativos (médula ósea, piel y anejos, mucosa intestinal, etc.) requiere un aporte constante y masivo de nucleótidos para mantener la tasa de síntesis adecuada a una rápida división celular; y si tenemos en cuenta que la síntesis de los desoxinucleósido trifosfatos requeridos para la replicación del DNA supone un gasto muy considerable de energía en forma de ATP, tendremos una idea de la magnitud metabólica de este proceso. Igualmente, aquellas células o tejidos capaces de mantener tasas muy elevadas de síntesis proteica, como el músculo o el hígado, requieren un aporte de magnitud parecida en lo que se refiere a ribonucleósido trifosfatos para la síntesis de RNA (mensajero, ribosómico, de transferencia, etc.). Podemos mencionar aquí la importancia del conocimiento de las rutas de

síntesis de nucleótidos en general para poder actuar farmacológicamente sobre la misma, lo cual tiene una especialísima importancia en el tratamiento de enfermedades neoplásicas.

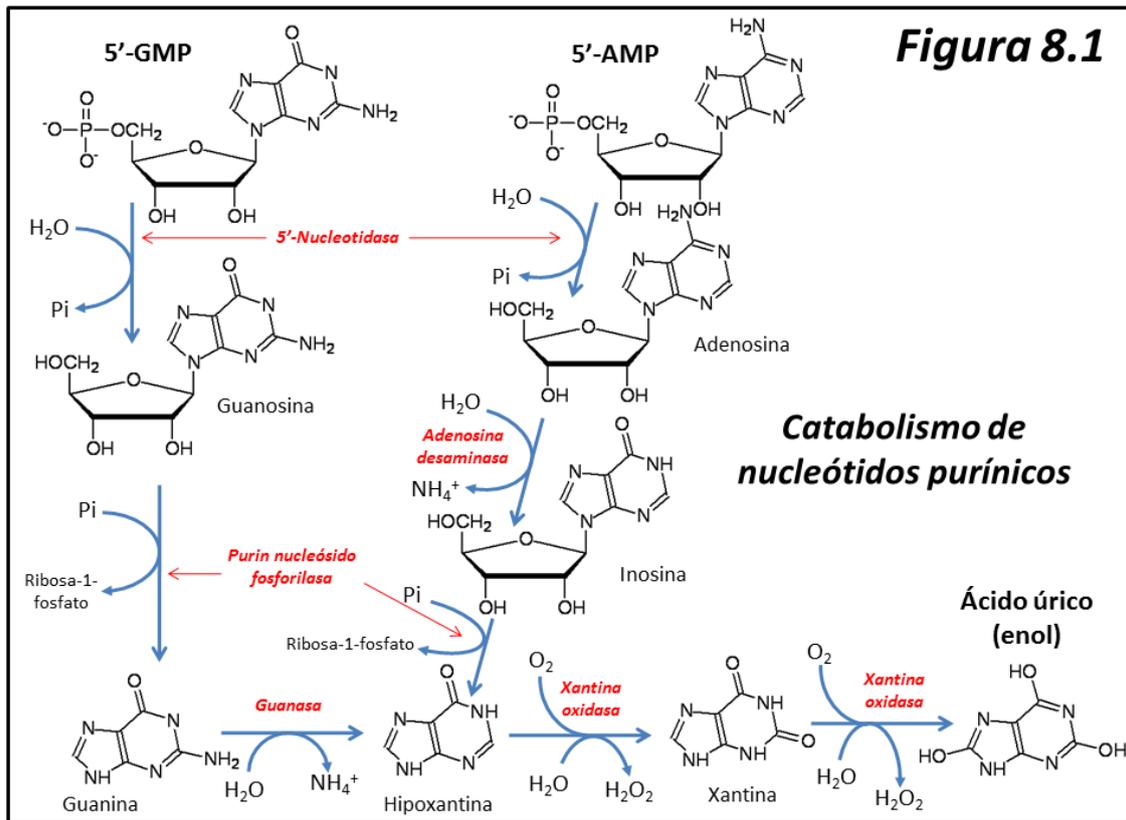
Pero los nucleótidos no solamente tienen importancia como elementos monoméricos de los ácidos nucleicos. Como consecuencia de las peculiares características de la evolución química de la vida, en la que al parecer un “Mundo RNA” precedió al desarrollo de nuestro actual “Mundo DNA-RNA-Proteína”, una gran cantidad de cofactores vitales para el metabolismo tienen estructura de ribonucleótidos (NAD⁺, FAD, ATP, CTP, UTP, Coenzima A, PAPS, etc.) que participan esencialmente en reacciones de transferencia (de electrones, de energía, de residuos glicídicos y lipídicos, etc.). Asimismo, muchas reacciones de activación vistas en capítulos anteriores (por ejemplo, de ácidos grasos o de ubiquitina) pasan por la formación de adenilatos. También hay que tener en cuenta que son nucleótidos dos importantes segundos mensajeros intracelulares, como cAMP y cGMP.

Todas estas razones nos informan de la importancia que tiene el presente capítulo. En lo que se refiere al catabolismo de nucleótidos, estudiaremos las rutas de degradación de nucleótidos purínicos (que en el hombre terminan en el producto final **ácido úrico**) o pirimidínicos (que son completamente degradados a CO₂ y H₂O) con alguna referencia a las patologías asociadas, como la muy frecuente **gota úrica**. En cuanto a la biosíntesis, estudiaremos la compleja vía de biosíntesis de nucleótidos purínicos, consumidora de una gran cantidad de energía en forma de ATP, y cómo puede ser evitada mediante los procesos de reciclaje o salvamento de purinas. Estudiaremos también la síntesis de nucleótidos pirimidínicos y de desoxinucleótidos. Esta última de gran importancia farmacológica.

8.2 Catabolismo de nucleótidos purínicos

La degradación de ácidos nucleicos por medio de endonucleasas (que suelen ser específicas hacia RNA o DNA) y fosfodiesterasas (que no son específicas) reducen los ácidos nucleicos a sus nucleósido monofosfatos constituyentes. Aquí consideraremos sobre todo el caso de los ribonucleótidos, cuyo catabolismo es cuantitativamente mucho más importante que el de los correspondientes desoxiderivados.

Los nucleótidos purínicos derivados de la degradación de RNA son esencialmente AMP y GMP. La degradación de éstos aparece esquematizada en la **figura 8.1**.



8.2.1 Degradación de nucleótidos a bases

Una **5'-nucleotidasa** (EC 3.1.3.5) elimina el 5'-fosfato de AMP y GMP (la enzima puede actuar sobre cualquier 5'-nucleótido) dando lugar a los nucleósidos respectivos adenosina y guanosina.

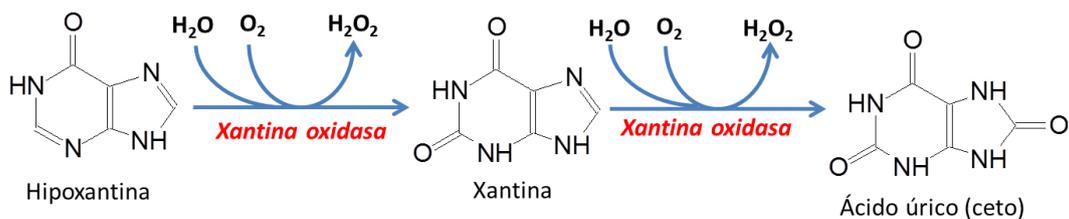
La adenosina es desaminada por la **adenosina desaminasa** (EC 3.5.4.4) dando lugar a inosina (el ribonucleósido de hipoxantina). Además de su papel en el catabolismo de purinas, esta enzima modula los niveles extracelulares de adenosina. La enzima actúa como regulador positivo de la activación de linfocitos T, regulando la adhesión celular de éstos. Por esa razón los defectos en adenosina desaminasa causan una inmunodeficiencia grave.

Guanosina e inosina son atacadas por la **purina nucleósido fosforilasa** (EC 2.4.2.1) que libera la base respectiva (guanina e hipoxantina) y α -D-ribosa-1-fosfato. Guanina es transformada a hipoxantina mediante la enzima **guanasa** (guanina desaminasa, EC 3.5.4.3).

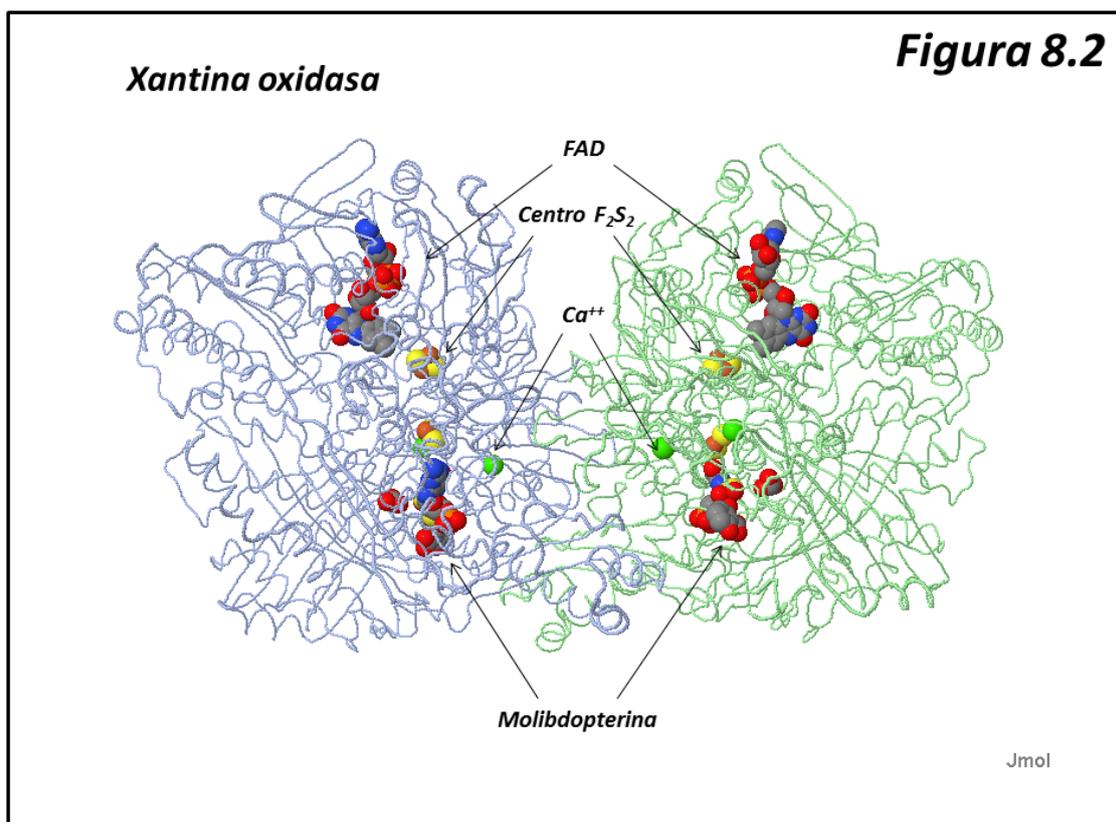
8.2.2 Producción de ácido úrico

La hipoxantina es oxidada a continuación primero a xantina y ésta a ácido úrico. El proceso puede tener lugar mediante dos actividades enzimáticas distintas. Una, la **xantina oxidasa** (EC 1.17.3.2) y otra, la **xantina deshidrogenasa** (EC 1.17.1.4); hoy se sabe que ambas actividades corresponden a la misma molécula. Es de localización peroxisomal y citoplásmica.

La xantina oxidasa cataliza las reacciones

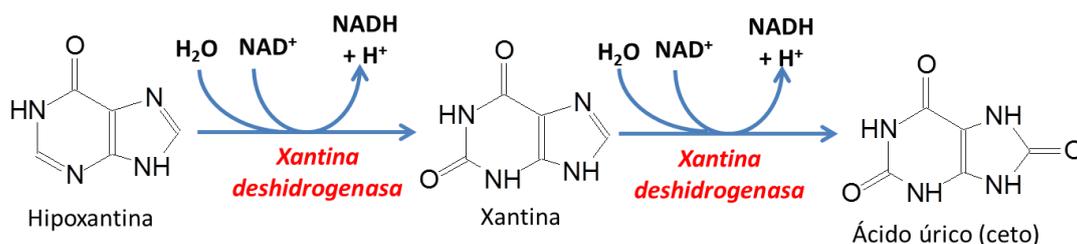


En ocasiones el producto de la reacción puede ser el anión radical superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$) en lugar de peróxido de hidrógeno; esta enzima es una de las fuentes de especies reactivas de oxígeno (ERO, ver sección 5.8). Se trata de una flavoproteína con FAD como grupo prostético y contiene además un centro Fe_2S_2 y un grupo prostético molibdopterina similar a la nitrato reductasa (ver sección 1.3.3.1). Su forma activa es un homodímero (figura 8.2).



Esta oxidasa puede convertirse en la deshidrogenasa (EC 1.17.1.4) mediante la reducción de sus disulfuros a tioles por glutatión reducido (GSH) o proteólisis parcial (aunque este último tratamiento es irreversible).

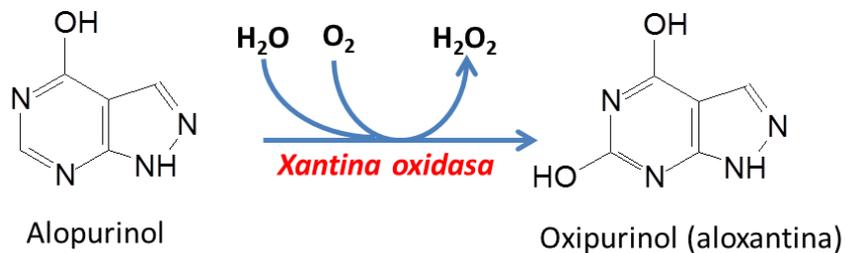
La xantina deshidrogenasa cataliza las reacciones



En mamíferos la actividad deshidrogenasa es la predominante.

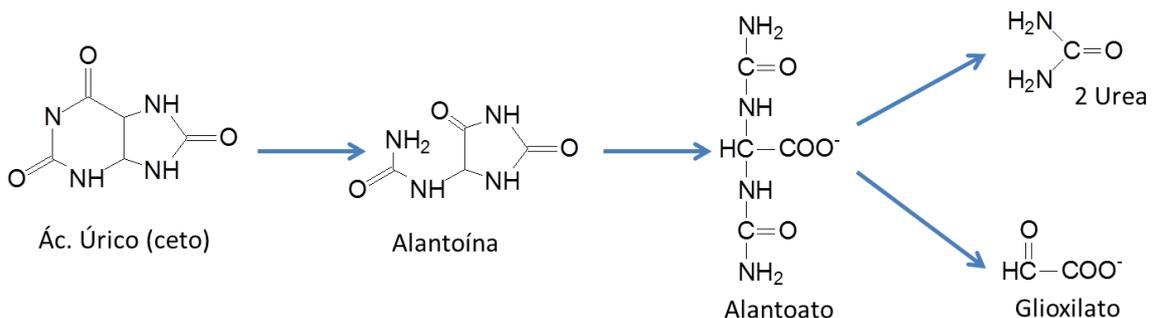
Una enfermedad bastante común es la **gota úrica**. Consiste en la deposición de un exceso de ácido úrico circulante en tejidos blandos, particularmente en las articulaciones pequeñas del pie (en el primer dedo). Cursa con episodios agudos nocturnos muy dolorosos que con mucha frecuencia afectan al primer dedo del pie (*podagra*). No se ha dilucidado todavía la lesión bioquímica que lleva a la gota úrica. Se piensa que está ligada a niveles bajos (pero no mínimos) de la enzima hipoxantina/guanina fosforribosil transferasa (EC 2.4.2.8), que estudiaremos en los mecanismos de reciclaje de purinas (ver sección 8.5)

El tratamiento de la gota úrica consiste en administrar un inhibidor de la xantina oxidasa, alopurinol, que se comporta como inhibidor suicida de la enzima. Ésta convierte el alopurinol en oxipurinol (aloxantina), que es el metabolito auténticamente activo al unirse fuertemente al centro activo y no permitir que el ion de molibdeno recupere su estado normal de oxidación:



Al aumentar el nivel de los substratos normales (hipoxantina y xantina) hay una retroinhibición de la síntesis de purinas y ambos mecanismos conducen a una disminución acentuada de ácido úrico circulante. En la orina aparecen hipoxantina y xantina en lugar de ácido úrico; pero estas bases, al ser significativamente más solubles que éste, no se depositan en tejidos blandos.

En mamíferos no primates la degradación de purinas continúa mediante su oxidación a alantoína; otras especies degradan aún más el ácido úrico; peces y anfibios pueden degradar la alantoína a alantoato y éste a urea y glioxilato:



8.3 Catabolismo de nucleótidos pirimidínicos

Los nucleótidos pirimidínicos (UMP, CMP, TMP) son degradados a sus bases por la acción de 5'-nucleotidasa y pirimidin nucleósido fosforilasa (EC 2.4.2.2). A diferencia de las purinas, las pirimidinas pueden ser completamente degradadas a CO₂ y H₂O.

La **figura 8.3** presenta las vías de degradación de las tres principales pirimidinas en mamíferos.

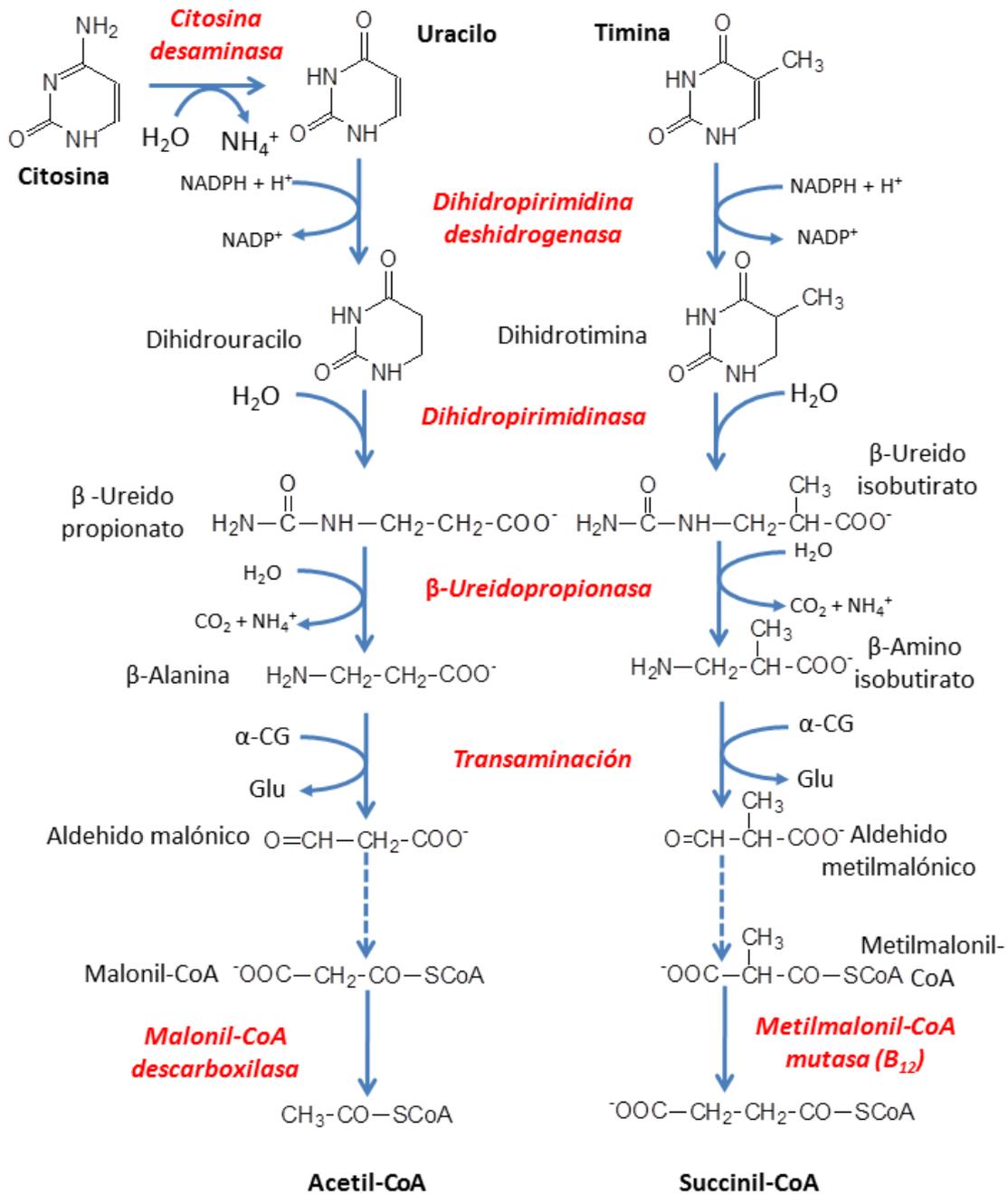


Figura 8.3

Citosina experimenta una desaminación hidrolítica que la convierte en uracilo mediante la enzima **citiosina desaminasa** (EC 3.5.4.1); la desaminación puede tener lugar también al estado de nucleósido por la **citidina desaminasa** (EC 3.5.4.5), que da lugar a uridina.

A partir de este punto podemos considerar en paralelo la degradación de uracilo, por una parte, y timina, por otra; ya que utilizan las mismas enzimas en la mayor parte de las reacciones.

Uracilo es reducido a dihidrouracilo por la **dihidropirimidina deshidrogenasa** (EC 1.3.1.2). esta misma enzima cataliza la reducción de timina a dihidrotimina. A continuación el anillo pirimidínico es roto por una **dihidropirimidinasa** (EC 3.5.2.2), dando lugar a β -ureidopropionato en el caso de uracilo y β -ureidoisobutirato a partir de la dihidrotimina.

3-ureidopropionato se hidroliza a β -alanina por acción de la **β -ureido propionasa** (EC 3.5.1.6). Esta misma enzima, actuando sobre el metabolito de timina, β -ureidoisobutirato, produce β -amino isobutirato.

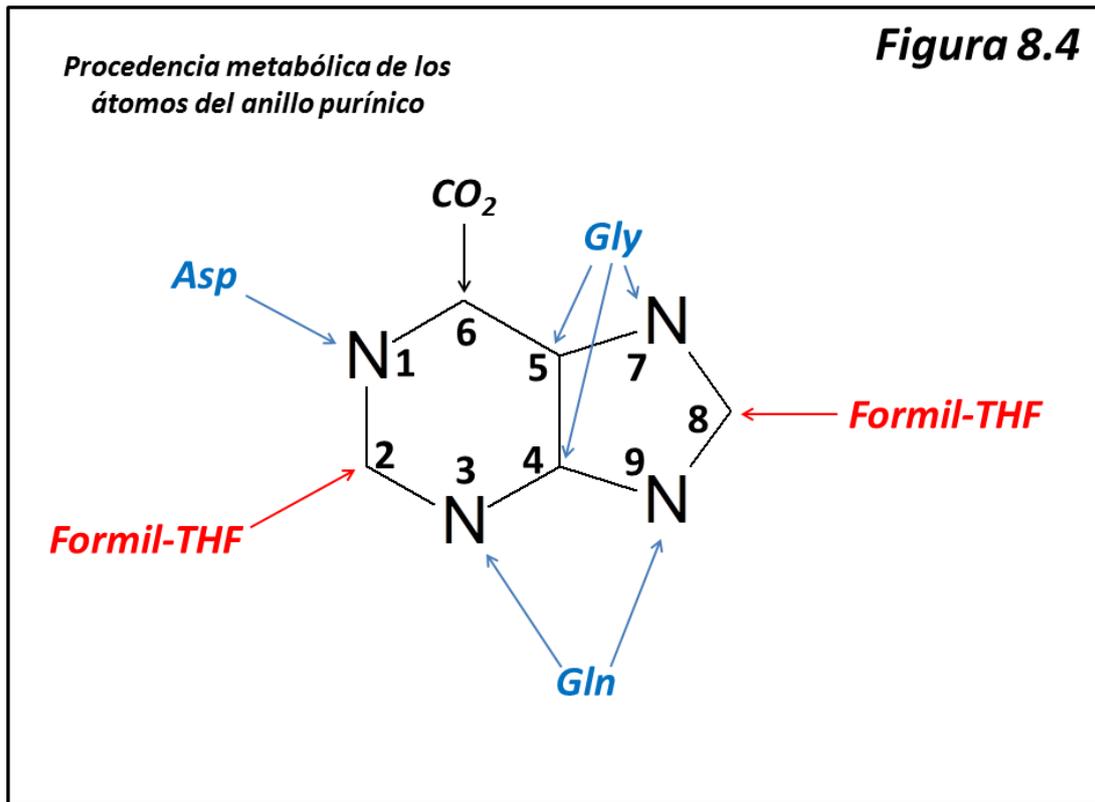
A partir de este punto la ruta metabólica diverge. β -Alanina, por su parte, es transaminada mediante la **β -alanina/piruvato transaminasa** (EC 2.6.2.18) a malonoaldehído que dará lugar a malonil-CoA. Éste puede entrar en la biosíntesis de ácidos grasos o descarboxilado a acetil-CoA por la **malonil-CoA descarboxilasa** (EC 4.1.19), de manera que puede ser degradado completamente a CO_2 y H_2O .

β -Amino isobutirato es transaminado a aldehído metilmalónico que da lugar a metilmalonil-CoA. Éste es transformado a succinil-CoA de la misma manera que vimos en el metabolismo de ácidos grasos de cadena impar o de los aminoácidos ramificados (proceso dependiente de biotina y coenzima cobamídica). Succinil-CoA es un intermediario del ciclo de Krebs, y por tanto, susceptible de degradación completa.

8.4 Biosíntesis de nucleótidos purínicos

La biosíntesis de purinas es un proceso metabólico complejo que requiere una cantidad muy apreciable de energía en forma de ATP, y que sin embargo se lleva a cabo prácticamente en todo tipo de células (incluidas las de mamífero). Su estudio ha sido facilitado por el hecho de que los animales uricotélicos (Aves y Reptiles) excretan su nitrógeno en forma de ácido úrico en lugar de urea o de amonio. Se ha podido comprobar que la síntesis de ácido úrico en estos animales sigue exactamente las mismas pautas que la síntesis de nucleótidos purínicos.

Cuando se introdujeron en Bioquímica los estudios con marcajes radioactivos, la biosíntesis de purinas fue estudiada en el hígado de paloma y se determinó el destino de los radiotrazadores en el ácido úrico producido. De esta manera se llegó al esquema que aparece en la **figura 8.4**, en la que se aprecia la procedencia de los nueve átomos que forman el anillo purínico.



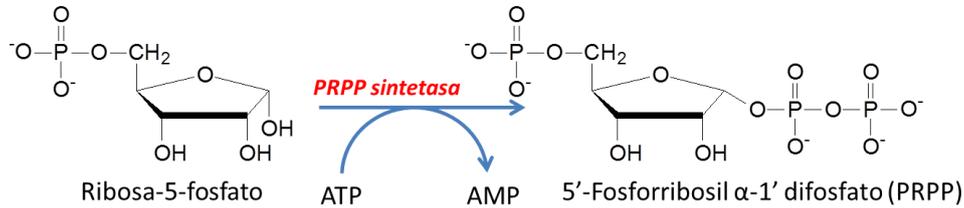
Así, N1 procede de aspartato; C2 y C8, de coenzimas folínicas (formil tetrahidrofolato, formil-THF); N3 y N9, del nitrógeno amídico de la glutamina; C4, C5 y N7 del aminoácido glicina; y por último, C6 del CO₂ (o de su forma hidratada HCO₃⁻).

Una característica importante de la síntesis de purinas estriba en el hecho de que el anillo purínico se va formando sobre ribosa-5-fosfato. De hecho, la primera reacción de la secuencia es la que incorpora el enlace glicosídico entre la ribosa y el nitrógeno que llegará a ser el N9 del anillo purínico. Podemos considerar que el punto de partida de esta biosíntesis es el derivado **5'-fosforribosil α-1'-difosfato** (también llamado **fosforribosil pirofosfato** o **PRPP**), que como veremos es un intermediario clave en el metabolismo de nucleótidos, ya que interviene en el proceso de biosíntesis de nucleótidos (tanto purínicos como pirimidínicos) y en su reciclado.

Un resumen de la biosíntesis de purinas aparece en la [figura 8.5](#).

8.4.1 Formación de PRPP

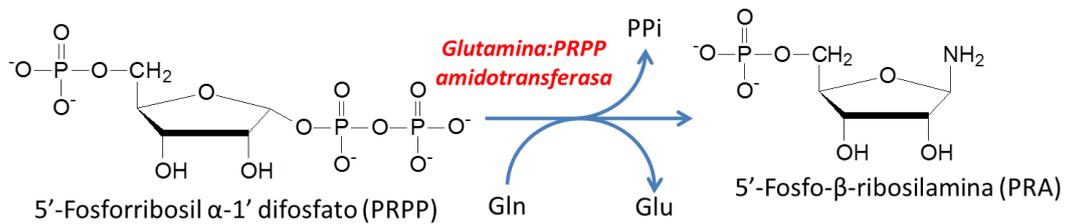
PRPP se forma a partir de ribosa-5-fosfato (un producto de la vía pentosa-fosfato, ver cap. 4) y ATP en la reacción catalizada por la enzima **PRPP sintetasa** (también llamada ribosa-fosfato difosfokinasa, EC 2.7.6.1). Esta reacción es la siguiente:



8.4.2 Biosíntesis de IMP

Nitrógeno 9

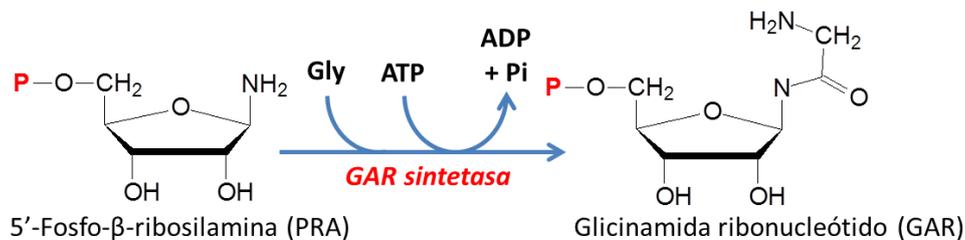
Una vez formado PRPP, el nitrógeno amídico de glutamina desplaza al pirofosfato del PRPP al tiempo que invierte la configuración en el carbono anomérico, que pasa de α a β. Con ello se incorpora el que será nitrógeno 9 del anillo purínico y queda establecido el enlace glicosídico entre la pentosa y la base. Esta reacción está catalizada por la enzima **glutamina : PRPP amidotransferasa** (EC 2.4.2.14):



Esta enzima y la anterior pueden ser inhibidas alostéricamente por nucleótidos purínicos (IMP, GMP y AMP), aunque más intensamente la amidotransferasa, que es la primera enzima comprometida en la biosíntesis de purinas.

Carbonos 4 y 5; nitrógeno 7

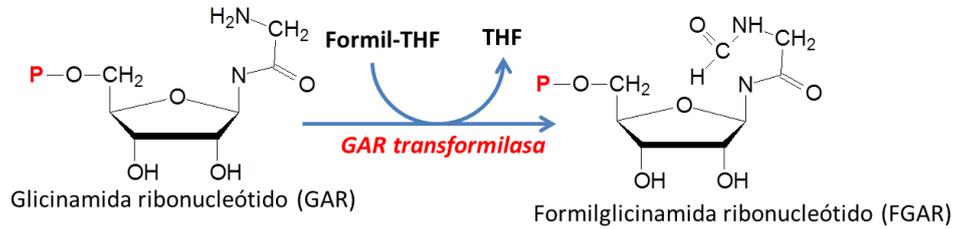
Fosforribosilamina se condensa, en una reacción dependiente de ATP, con una molécula del aminoácido glicina, catalizada por la **glicinamida ribonucleótido sintetasa** (GAR sintetasa, EC 6.4.6.13):



Esta reacción incorpora los carbonos 4 y 5 y el nitrógeno 7 del anillo purínico dando lugar a glicinamida ribonucleótido (GAR).

Carbono 8

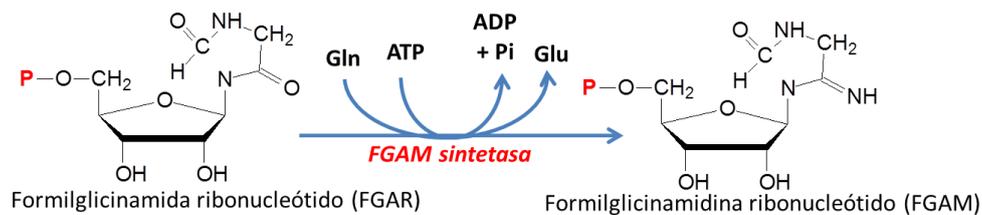
GAR recibe a continuación un grupo formilo procedente de la coenzima formil-tetrahidrofolato (formil-THF). Esta reacción incorpora el carbono 8 del anillo purínico y está catalizada por la **GAR transformilasa** (EC 2.1.2.2):



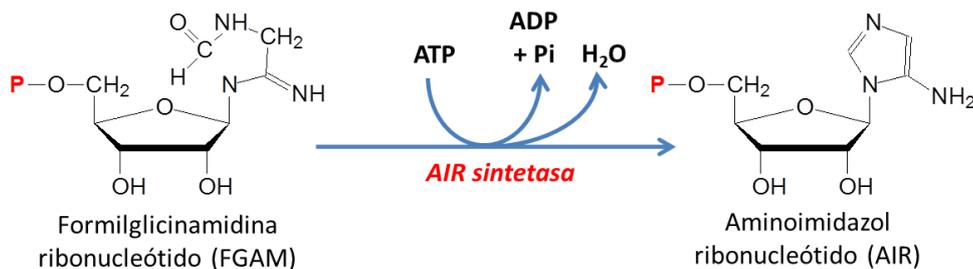
El producto de esta reacción es formilglicinamida ribonucleótido (FGAR).

Nitrógeno 3

FGAR incorpora a continuación un grupo amino procedente de glutamina, que será el nitrógeno 3 del anillo purínico, en reacción catalizada por la **formil glicinamidina sintetasa** (FGAM sintetasa, EC 6.5.6.3), con producción de formil glicinamidina (FGAM):

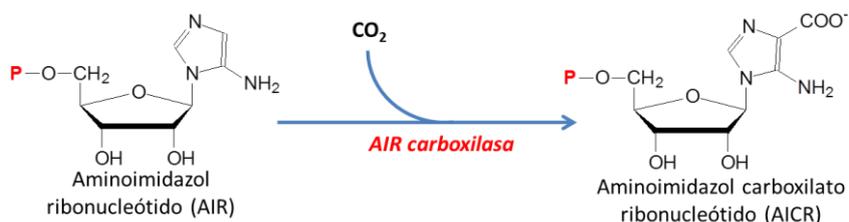


A continuación tiene lugar el cierre del anillo imidazólico de la purina en una reacción dependiente de ATP, con pérdida de agua, para formar aminoimidazol ribonucleótido (AIR). La reacción está catalizada por la **AIR sintetasa** (EC 6.3.3.1):



Carbono 6

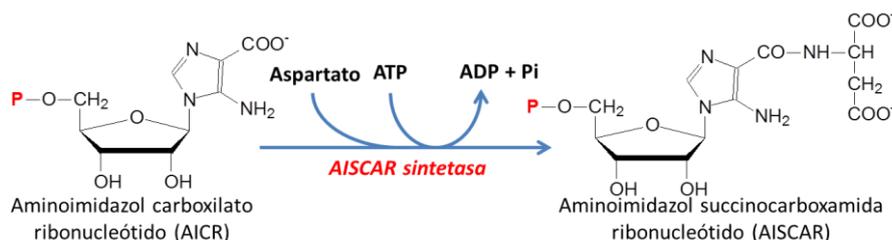
Al intermediario AIR se añade CO₂ en una reacción de carboxilación. Esta reacción incorpora el carbono 6 del anillo purínico, dando lugar a aminoimidazol carboxilato ribonucleótido (AICR) y está catalizada por la **AIR carboxilasa** (EC 4.1.1.21):



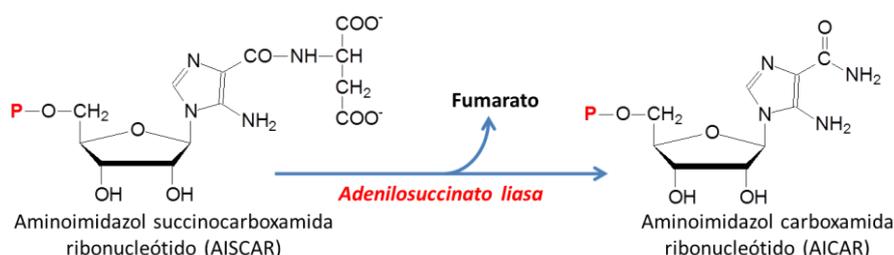
Esta actividad enzimática forma parte de una proteína multifuncional que también cataliza el siguiente paso.

Nitrógeno 1

Se añade a continuación una molécula del aminoácido aspartato, siendo una reacción parecida a la formación de arginosuccinato en el ciclo de la urea. Se forma así el aminoimidazol succinocarboxamida ribonucleótido (AISCAR). Esta reacción incorpora el nitrógeno 1 del anillo purínico. La reacción está catalizada por la **AISCAR sintetasa** (EC 6.3.2.6) que forma parte del complejo multifuncional citado en la reacción anterior; la reacción depende de la hidrólisis de ATP:

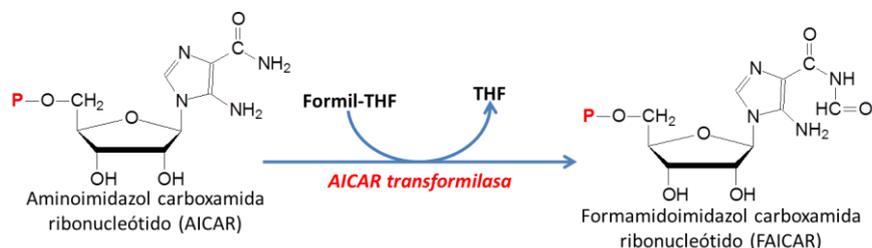


A continuación, en una reacción liásica, se elimina del intermediario AISCAR una molécula de fumarato quedando aminoimidazol carboxamida ribonucleótido (AICAR). La reacción está catalizada por la **adenilosuccinato liasa** (EC 4.3.2.2):

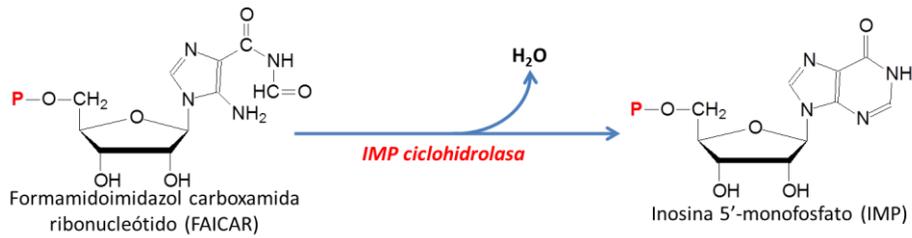


Carbono 2

AICAR es formilado por una coenzima folínica (formil-THF) dando lugar a formamido imidazol carboxamida ribonucleótido (FAICAR), incorporando el carbono 2 del anillo purínico. La reacción está catalizada por la **AICAR transformilasa** (EC 2.1.2.3):



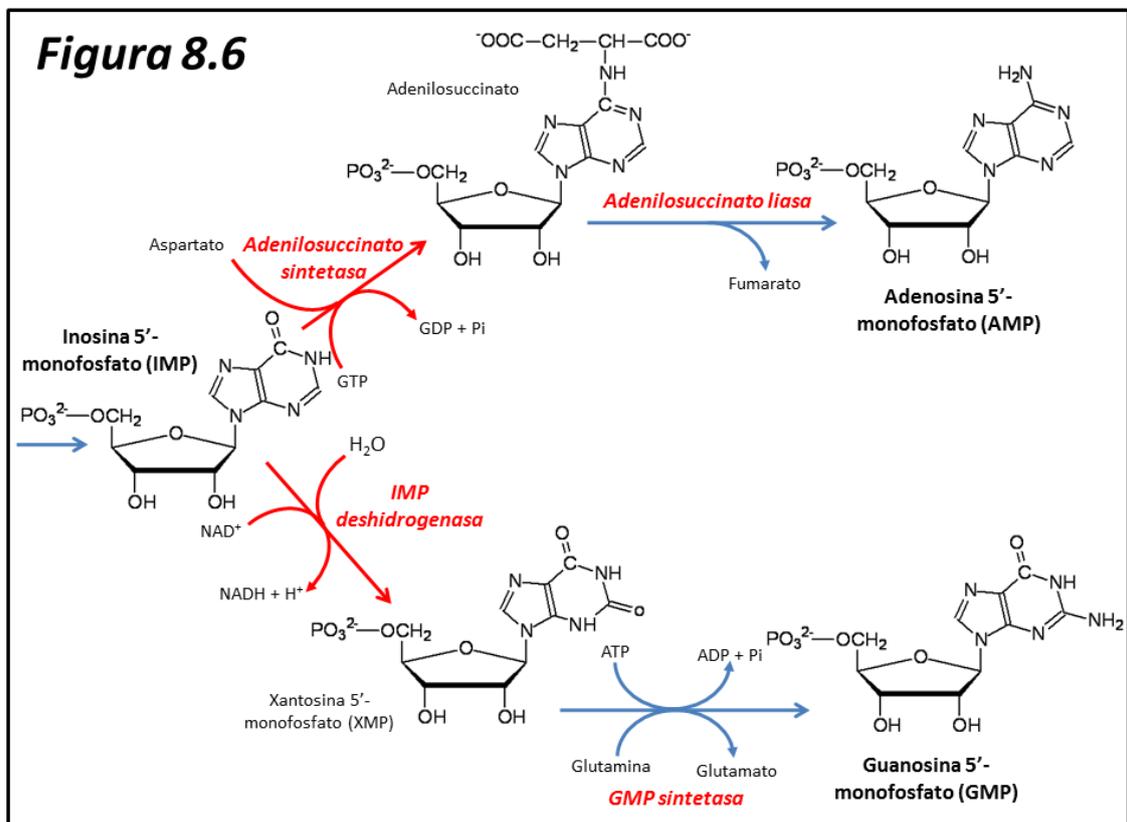
En la siguiente reacción tiene lugar el cierre del anillo purínico, con pérdida de agua, para dar el nucleótido Inosina-5'-monofosfato (IMP). La reacción está catalizada por la **IMP ciclohidrolasa** (EC 3.5.4.10):



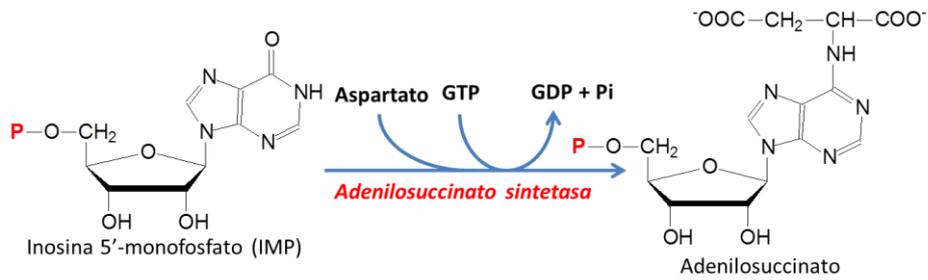
A partir de IMP, según veremos a continuación, se forman los nucleótidos AMP y GMP.

8.4.3 Biosíntesis de AMP y GMP

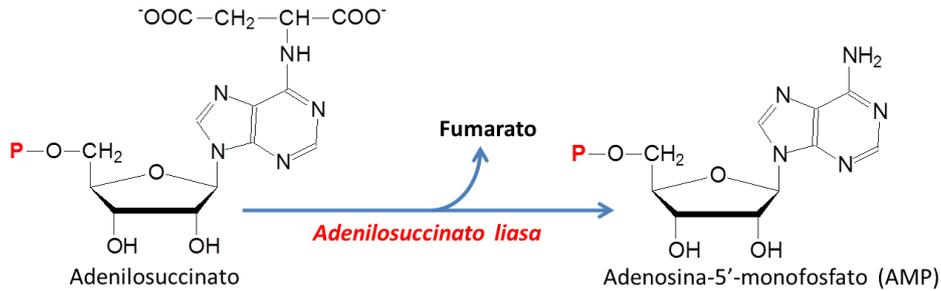
La **figura 8.6** muestra las rutas de biosíntesis de AMP (Adenosina-5'-monofosfato) y GMP (Guanosina-5'-monofosfato) a partir de IMP.



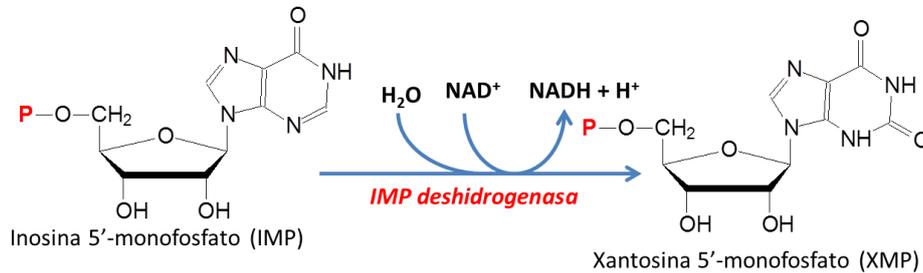
IMP incorpora una molécula de aspartato sustituyendo al carbono 6 del anillo purínico dando lugar a adenilosuccinato. La reacción es parecida a la incorporación del nitrógeno 1 en la síntesis de purinas, con la salvedad de que este paso requiere GTP como donador de energía. El producto de la reacción es adenilosuccinato, y el proceso está catalizado por la **adenilosuccinato sintetasas** (EC 6.3.4.4):



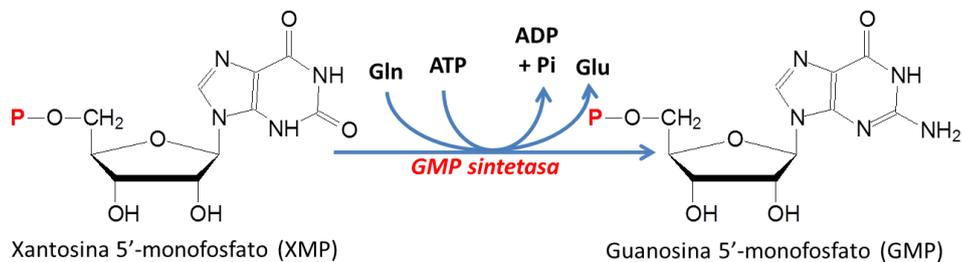
De adenilosuccinato se desprende una molécula de fumarato, dando lugar a adenosina 5'-monofosfato (AMP). Esta reacción está catalizada por **la adenilosuccinato liasa** (EC 4.3.2.2):



GMP se forma también a partir de IMP. En una primera reacción, IMP es oxidado a XMP (xantosina 5'-monofosfato) en una reacción dependiente de NAD^+ y catalizada por **la IMP deshidrogenasa** (EC 1.1.1.205):



A continuación, en una reacción dependiente de ATP, XMP se transforma en GMP por la donación de un nitrógeno procedente de glutamina, en la reacción catalizada por **la GMP sintetasa** (EC 6.3.5.2):

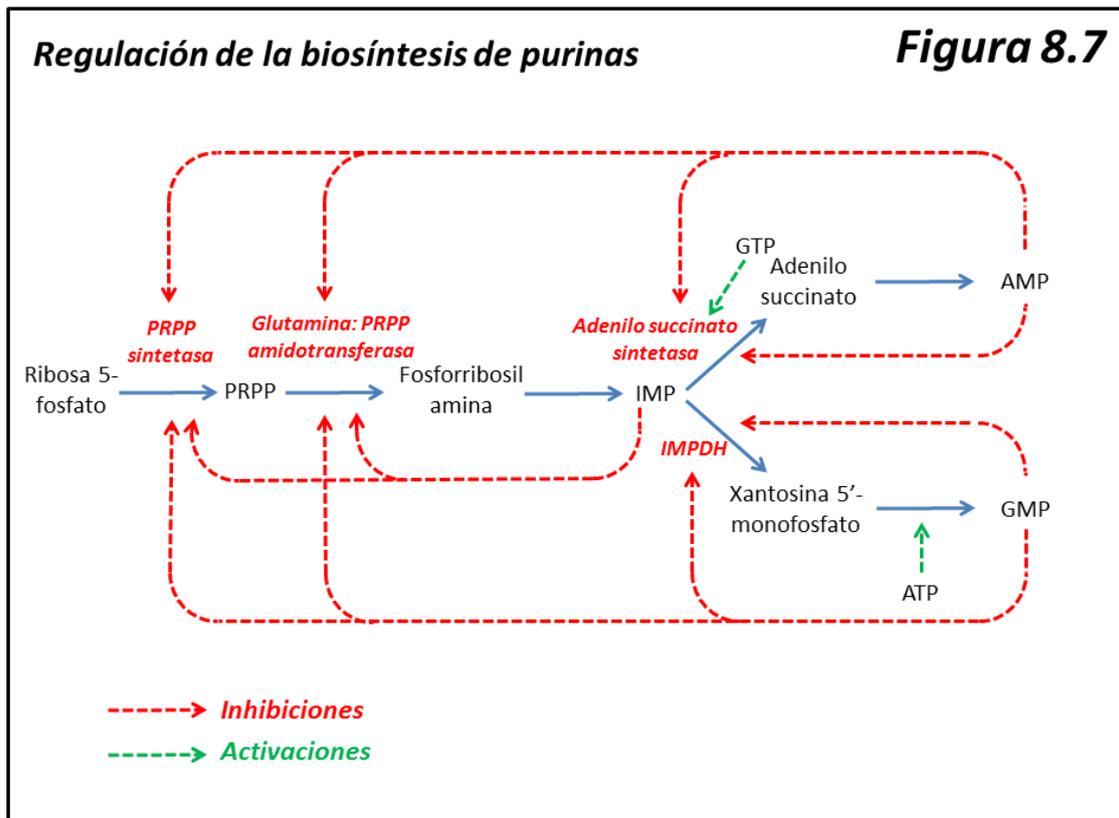


Obsérvese que mientras la biosíntesis de AMP requiere GTP como donador de energía, la síntesis de GMP, por el contrario, es dependiente de ATP.

8.4.4 Regulación de la biosíntesis de purinas

Hemos visto que la síntesis de IMP requiere la hidrólisis de 5 ATP; a éstos se puede añadir la hidrólisis del pirofosfato inorgánico producido en la reacción de la glutamina: PRPP amidotransferasa. A su vez, la síntesis de AMP requiere hidrólisis de GTP, dando un total de 7 enlaces fosfato ricos en energía. La síntesis de GMP, por su parte, requiere la hidrólisis de un ATP, por lo que el coste energético es igual al visto para el AMP.

Al ser la biosíntesis de purinas muy costosa en términos energéticos, la economía global de la célula requiere que el proceso esté perfectamente sintonizado con las necesidades celulares. El conjunto de regulaciones de esta vía se presenta en la **figura 8.7**.



PRPP sintetasa es inhibida por concentraciones (altas) de AMP, ADP, GMP y GDP. Al tener PRPP un papel central en el metabolismo de nucleótidos, y no sólo en la biosíntesis de purinas, es normal que esté menos regulada por los productos finales de la vía que acabamos de estudiar.

Sin embargo, glutamina: PRPP amidotransferasa, que es la primera enzima comprometida en la biosíntesis de purinas es inhibida por IMP, GMP y AMP a concentraciones celulares.

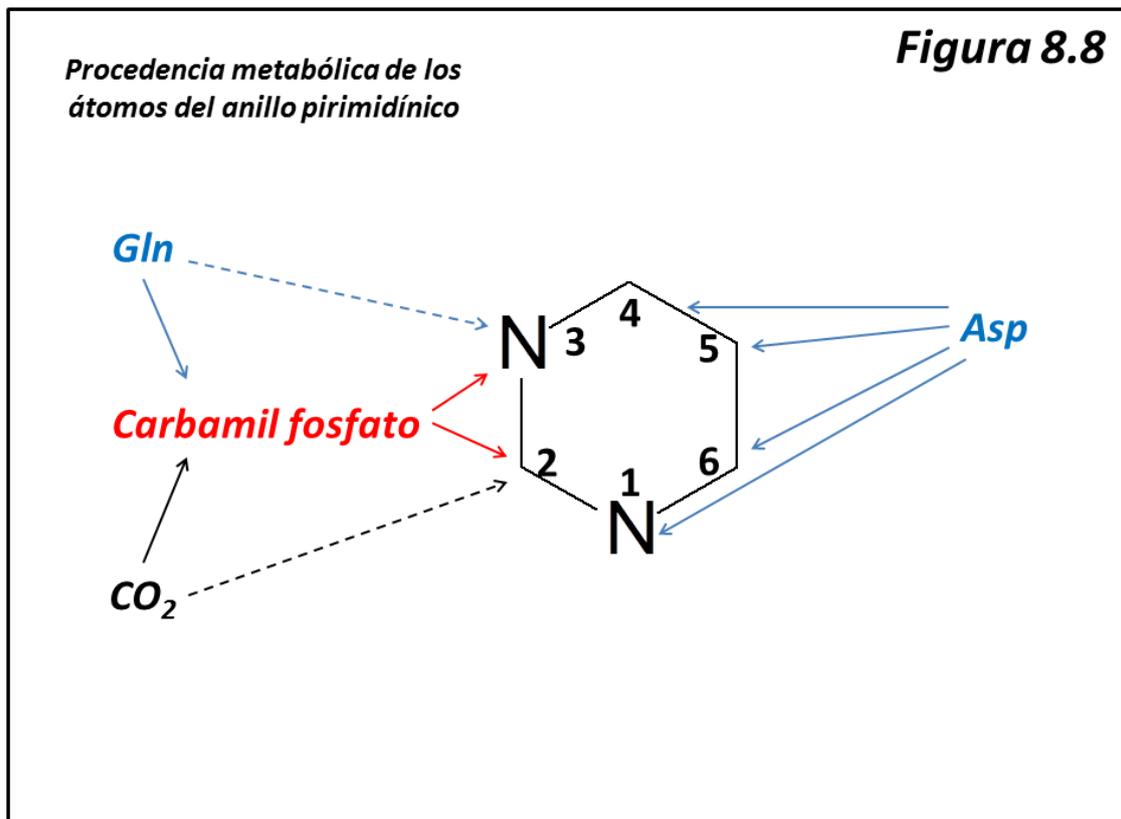
En lo que respecta a las vías divergentes que desde IMP llevan a AMP y GMP, la adenilosuccinato sintetasa es inhibida por AMP; pero esta enzima requiere GTP como dador de energía; podemos considerar, por tanto, que éste se comporta como un activador del proceso.

La IMP deshidrogenasa es inhibida por GMP; nuevamente el producto final inhibe a la primera enzima comprometida en la síntesis de GMP a partir de IMP. Ahora bien, en esta vía, y en concreto en la GMP sintetasa, se requiere ATP; por lo que se trata de un comportamiento similar al de GTP en la síntesis de AMP.

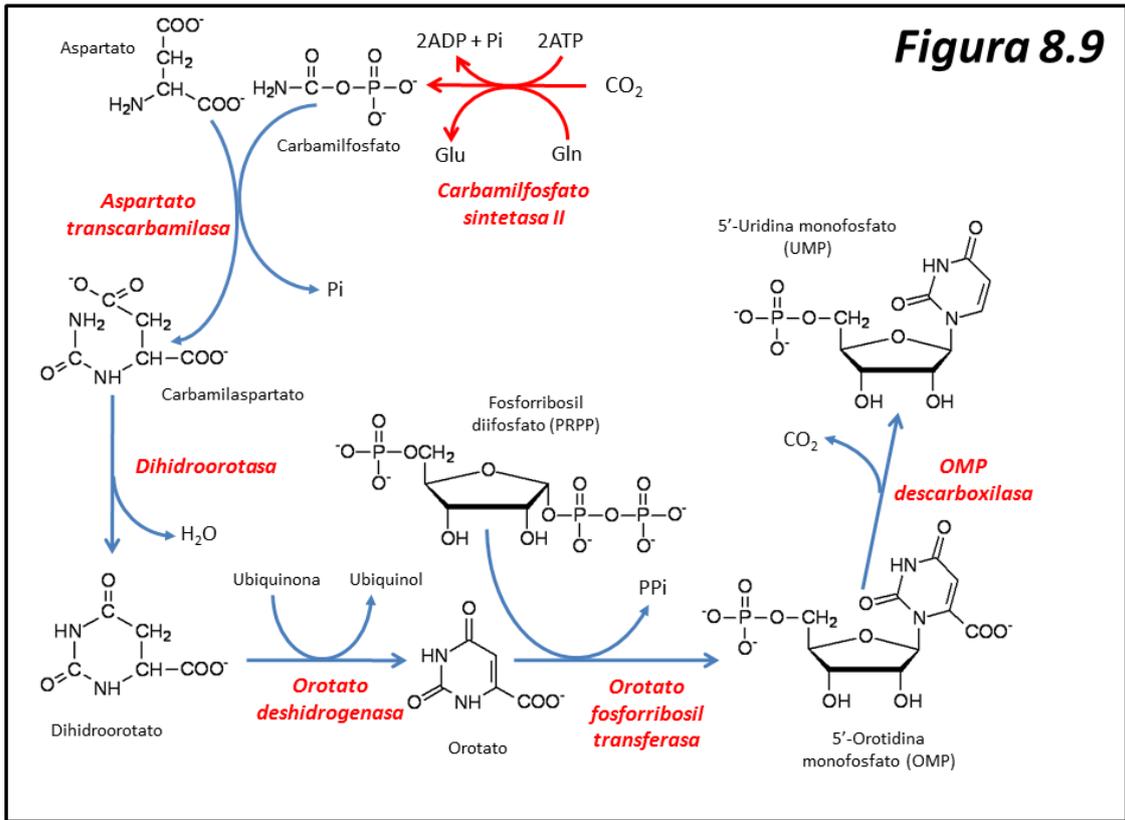
Este conjunto de interrelaciones nos muestra hasta qué punto se deben mantener las proporciones respectivas de nucleótidos de adenina y nucleótidos de guanina.

8.5 Biosíntesis de nucleótidos pirimidínicos

La biosíntesis de pirimidinas es un proceso más sencillo que el de purinas, y consume menos energía. Los precursores son el aminoácido aspartato y carbamilo fosfato; este último procedente de glutamina y CO₂, tal como se aprecia en la **figura 8.8**. Al igual que la biosíntesis de purinas, se trata de un proceso citoplásmico que pueden realizar todos los organismos celulares. Ahora bien, a diferencia de aquél, la base se forma previamente a su unión a PRPP para formar los correspondientes nucleótidos.



En la biosíntesis de purinas el producto central es IMP; en el caso de las pirimidinas, se trata de UMP (uridina 5'-monofosfato). La **figura 8.9** presenta esquemáticamente el proceso global de biosíntesis de pirimidinas. Comienza con la formación de carbamilo fosfato, su unión a aspartato y posterior ciclización. Una vez formada la base, el nucleótido se forma por transferencia de la misma a PRPP.

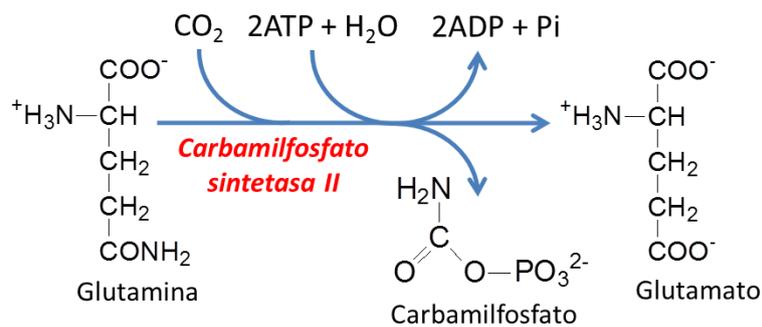


8.5.1 Secuencia de reacciones

las tres primeras reacciones de esta ruta biosintética, en eucariotas, están catalizadas por una enzima multifuncional, que contiene los sitios activos para las tres reacciones.

Carbamilfosfato sintetasa II (EC 6.3.5.5)

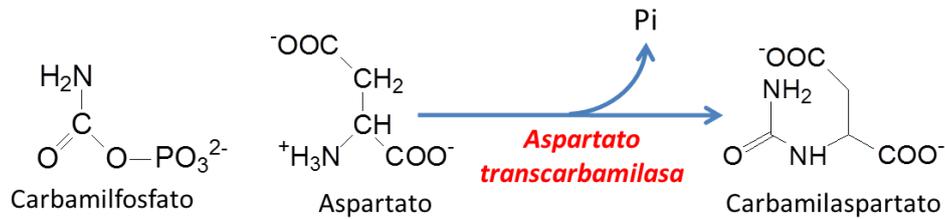
Esta enzima cataliza la formación de carbamilfosfato a partir de glutamina y CO_2 :



Se trata de una enzima citoplásmica, diferente de la carbamilfosfato sintetasa I, que es mitocondrial, utiliza NH_4^+ como dador de nitrógeno y participa en el ciclo de la urea.

Aspartato transcarbamilasa (EC 2.1.3.2)

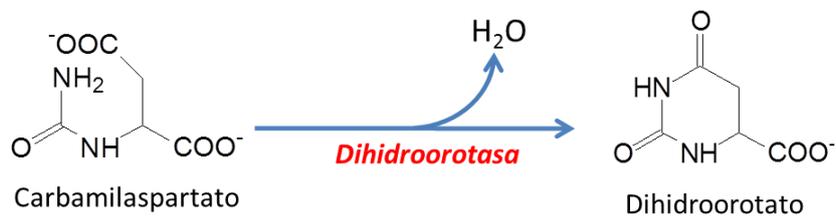
Cataliza la unión de carbamilfosfato y el aminoácido aspartato para formar carbamilaspartato:



En *Escherichia coli* es una enzima alostérica, formada por doce subunidades (6 catalíticas y 6 reguladoras), y es el punto principal de regulación de la biosíntesis de pirimidinas. Es inhibida por CTP y activada por ATP. Funciona básicamente según el modelo de Monod-Wyman-Changeux (ver Enzimología, cap. 8). En eucariotas no está regulada por producto final.

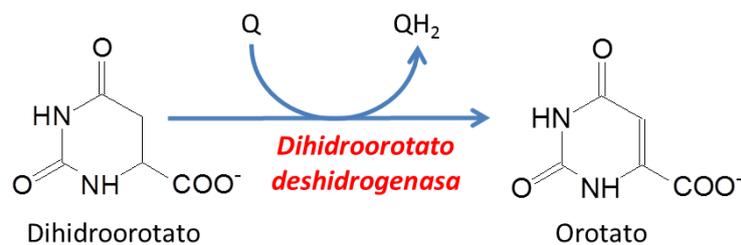
Dihidroorotasa (EC 3.5.2.3)

Produce la ciclización de carbamilaspartato con pérdida de una molécula de agua; se forma dihidroorotato y la reacción es fácilmente reversible:



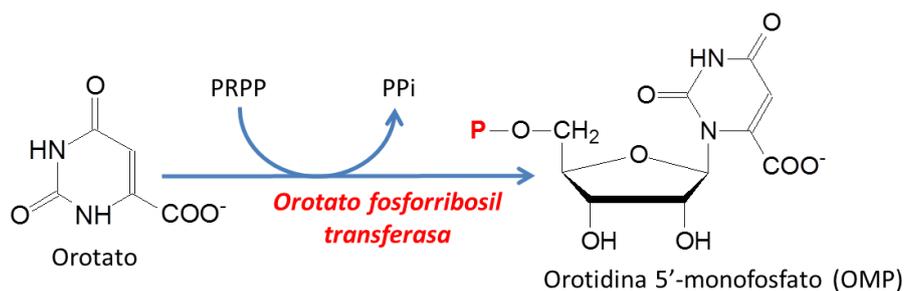
Dihidroorotato deshidrogenasa (EC 1.3.5.2)

Esta reacción tiene lugar en la cara externa de la membrana interna mitocondrial. La enzima es una flavoproteína que entrega electrones a ubiquinona, la cual será oxidada por el complejo respiratorio III. Cataliza la reacción:



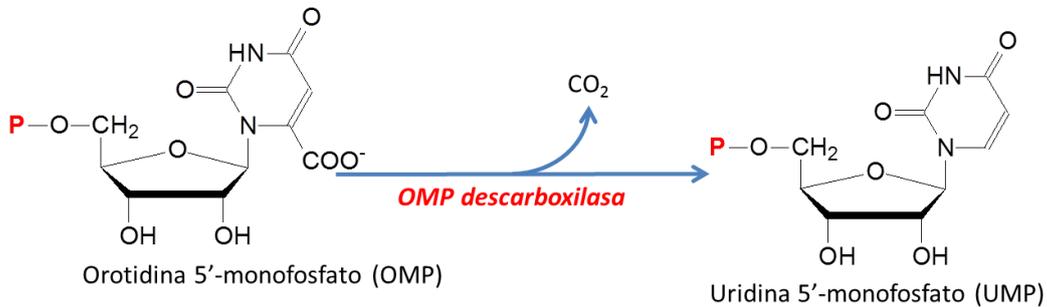
Orotato fosforribosil transferasa (EC 2.4.2.10)

La reacción catalizada por esta enzima consiste en la transferencia de ribosa-5-fosfato al orotato formado en la reacción anterior, con PRPP como donador. De esta manera la base formada previamente da lugar al nucleótido orotidina 5'-monofosfato (OMP). La reacción es:



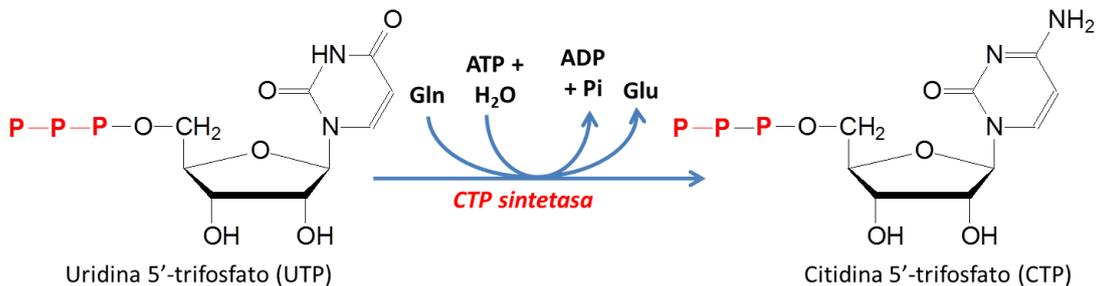
OMP descarboxilasa (EC 4.1.1.23)

En esta reacción OMP es descarboxilado, con pérdida de CO₂, para dar el nucleótido uridina 5'-monofosfato (UMP) que no solamente es el precursor de los restantes nucleótidos pirimidínicos sino también de los correspondientes desoxinucleótidos:



8.5.2 Biosíntesis de CTP

La biosíntesis de CTP requiere, en primer lugar, la doble fosforilación de UMP para formar UTP. A continuación, en una reacción catalizada por la **CTP sintetasa** (EC 6.3.4.2), dependiente de hidrólisis de ATP, glutamina dona el grupo amino para formar este nucleótido:



La síntesis de timina será estudiada en la sección 8.7, biosíntesis de desoxinucleótidos.

8.5.3 Regulación de la biosíntesis de pirimidinas

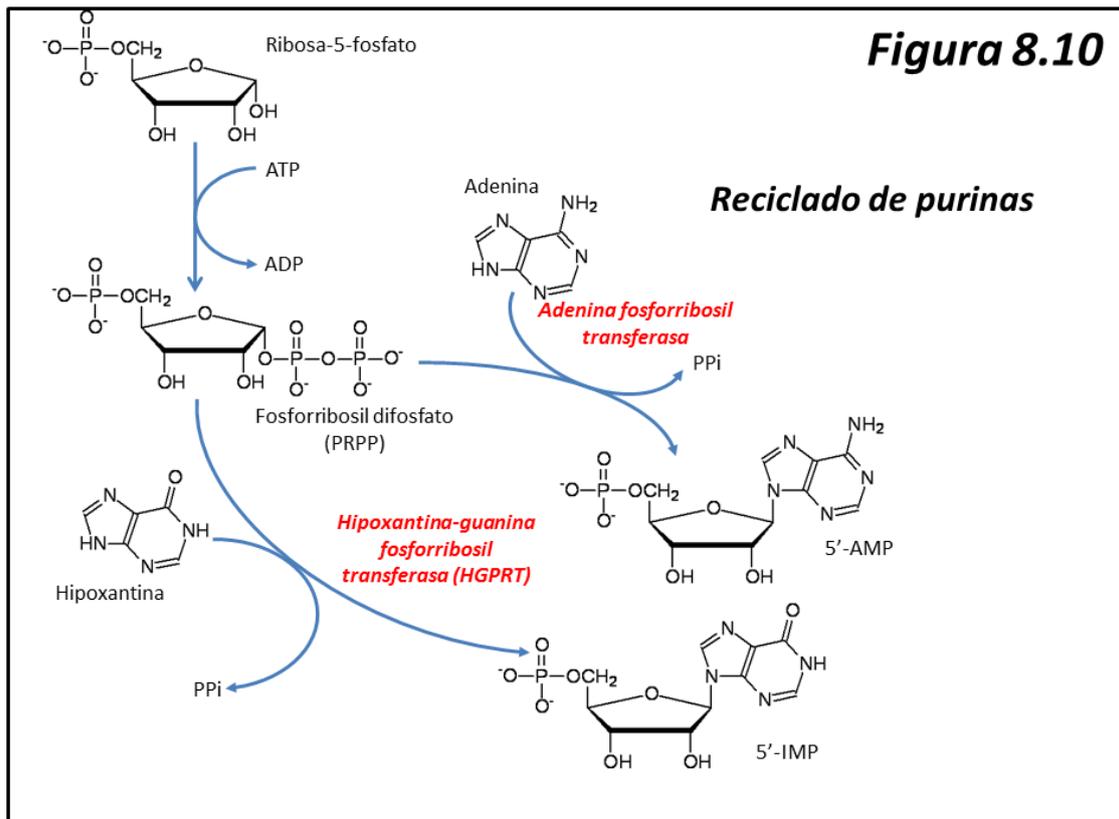
En procariontes la regulación tiene lugar en la aspartato transcarbamilasa, enzima alostérica inhibida por nucleótidos de pirimidina y activada por ATP (con lo cual se compensan las biosíntesis respectivas de purinas y pirimidinas).

En eucariotas la enzima reguladora es la carbamilfosfato sintetasa II, que está inhibida por nucleótidos de pirimidina y activada por PRPP e IMP. Hay que tener en cuenta que en eucariotas es ésta la primera enzima comprometida, dado que los reservorios de carbamilfosfato son independientes (mitocondrial el del ciclo de la urea y citoplásmico del de la síntesis de pirimidinas).

8.6 Reciclado de purinas

Hemos visto en los apartados anteriores que la biosíntesis de nucleótidos purínicos es un proceso que consume mucha energía. Debido a este hecho, los organismos han desarrollado sistemas enzimáticos capaces de reciclar (o “salvar”) las bases procedentes de la degradación de ácidos nucleicos. En este proceso es fundamental el papel del PRPP (Fosforribosil α -1'-difosfato), intermediario que también dona la parte ribosa-fosfato tanto de los nucleótidos purínicos como de los pirimidínicos.

La **figura 8.10** presenta las principales reacciones de reciclado de purinas.



La **adenina fosforribosil transferasa** (EC 2.4.2.7) hace reaccionar PRPP con adenina libre, formando AMP y pirofosfato inorgánico. La hidrólisis ulterior de éste a ortofosfato hace que la reacción sea prácticamente irreversible.

Por su parte, la **hipoxantina-guanina fosforribosil transferasa** (HGPRT, EC 2.4.2.8) lleva a cabo la misma reacción con hipoxantina y guanina.

Se cree que en el organismo este proceso de reciclado de bases tiene sobre todo importancia en el metabolismo celular; las bases procedentes de los alimentos son normalmente degradadas por los mecanismos que hemos visto anteriormente. El proceso de reciclado tiene mucha importancia. Por una parte, se conoce una enfermedad congénita, el **síndrome de Lesch-Nyhan**, caracterizado por una gota úrica generalizada ligada a trastornos del desarrollo y del comportamiento (automutilación, retraso mental, etc.), que está causada por deficiencia grave de hipoxantina-guanina fosforribosil transferasa. Por otra parte, se cree que la gota úrica “clásica” está ligada a niveles bajos (pero no nulos) de esta misma enzima.

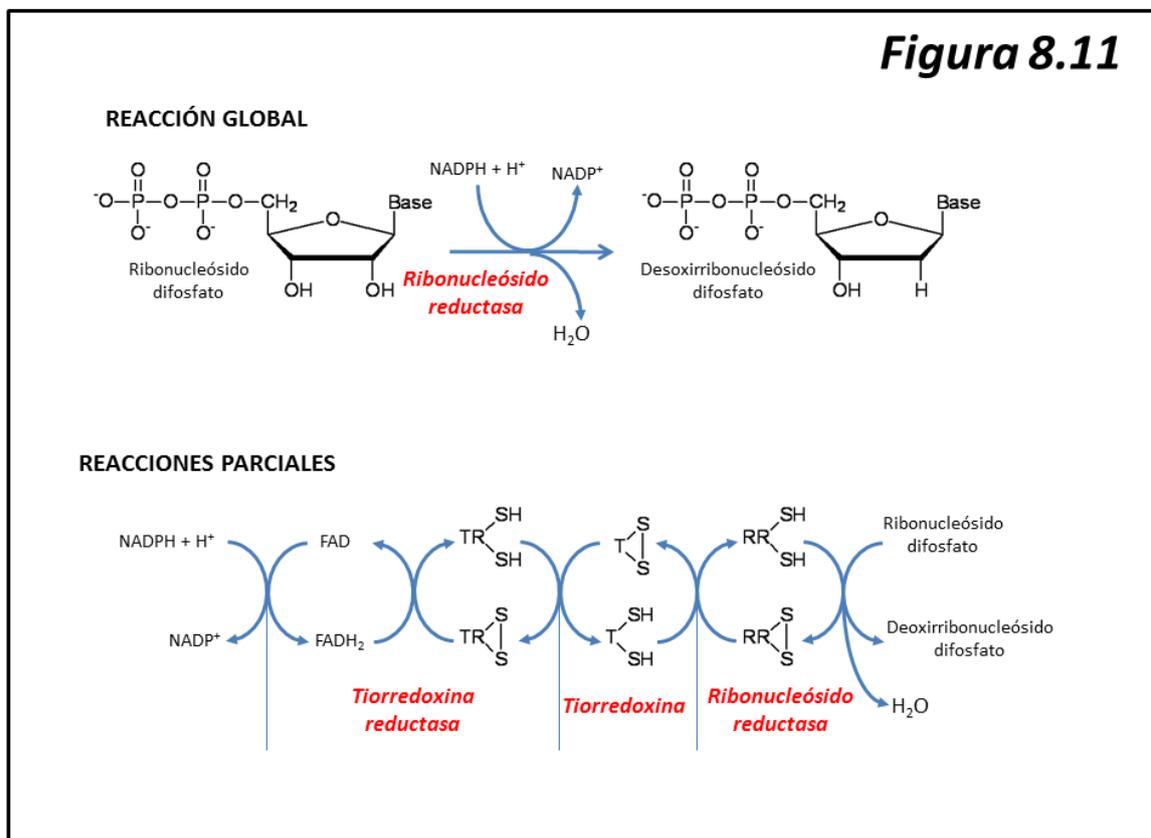
Las pirimidinas también pueden ser recicladas por un mecanismo similar, ligado a la orotato fosforribosil transferasa, que puede actuar también sobre otras pirimidinas.

8.7 Biosíntesis de desoxinucleótidos

En el metabolismo celular los desoxinucleótidos cumplen muchas menos funciones que los ribonucleótidos. Pero la que desempeñan, la síntesis de DNA, es de la mayor importancia. El proceso de reducción del anillo de ribosa a 2-D-desoxirribosa es un proceso complicado que tiene lugar de una manera bastante similar en la mayoría de las especies, aunque naturalmente hay excepciones. Teniendo en cuenta que la diferencia entre uno y otro ácidos nucleicos no sólo estriba en la formación de desoxiderivado en la pentosa, sino también la utilización de timina en lugar de uracilo, estudiaremos en el proceso de formación de desoxinucleótidos (a) La reducción de la ribosa a 2-D-desoxirribosa; (b) la formación de timina.

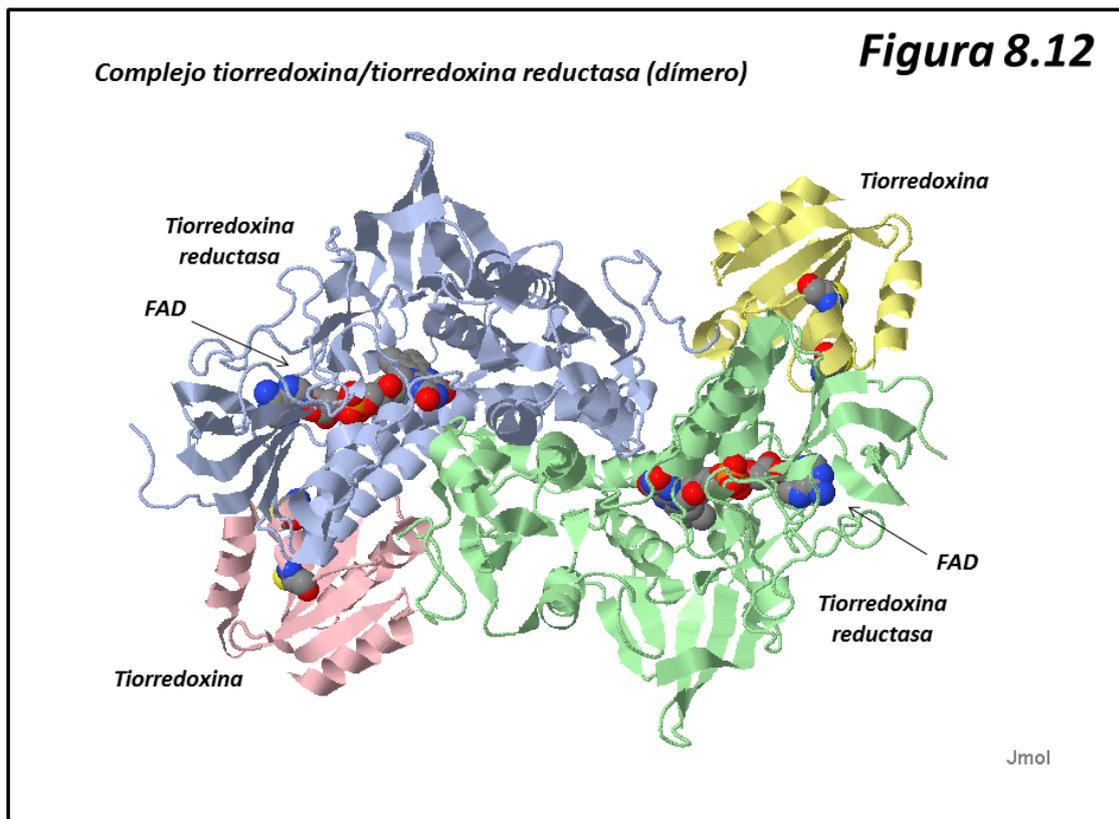
8.7.1 Reducción de ribosa a desoxirribosa

Este proceso se lleva a cabo mediante la enzima **ribonucleótido reductasa** (EC 1.17.4.1). Esta enzima utiliza como substratos los ribonucleósido difosfatos (ADP, GDP, CDP, UDP) y es en realidad el término de una cadena de transporte electrónico que en último término recibe sus electrones de NADPH. En la **figura 8.11** se presenta esquemáticamente este proceso.



Reducción de tiorredoxina

La **tiorredoxina** es una proteína pequeña (P.M. 12 kDa) que contiene dos residuos tiol –SH de otras tantas cisteínas que son los que actúan en el transporte electrónico. Esta proteína es reducida a expensas de NADPH por la **tiorredoxina reductasa** (EC 1.8.1.9), enzima que tiene muchas otras funciones además de la síntesis de desoxinucleótidos (por ejemplo, polimerización de microtúbulos, modulación de transcripción, etc.). Se trata de una flavoproteína, con FAD como cofactor, que oxida al NADPH y reduce a un grupo disulfuro que a su vez reduce al disulfuro de la tiorredoxina (**figura 8.12**). La enzima eucariótica tiene la particularidad de que su centro activo no contiene dos residuos de cisteína, sino uno de cisteína y otro de **selenocisteína**, aminoácido anómalo que resulta de la sustitución del azufre de la cisteína por selenio. En la síntesis de desoxinucleótidos, tiorredoxina puede ser sustituida por otra proteína similar, la **glutarredoxina**.



Reducción de ribonucleótidos

La tiorredoxina reducida es el sustrato donador de electrones en la reacción de la ribonucleótido reductasa; su efecto es la reducción de un disulfuro presente en la enzima. El proceco catalizado es bastante anómalo. La ribonucleótido reductasa contiene tres residuos de cisteína activos; dos de los cuales formarán el disulfuro en el momento de la reducción de la ribosa; y el tercero participa en el mecanismo catalítico. Este mecanismo implica a varios intermediarios radicales libres (residuos tirosilo, tiilo, carbonio, etc.) en cuya descripción detallada no vamos a entrar.

Como resultado de estas reacciones, el ribonucleósido difosfato sustrato es reducido a desoxinucleósido difosfato con producción de una molécula de agua.

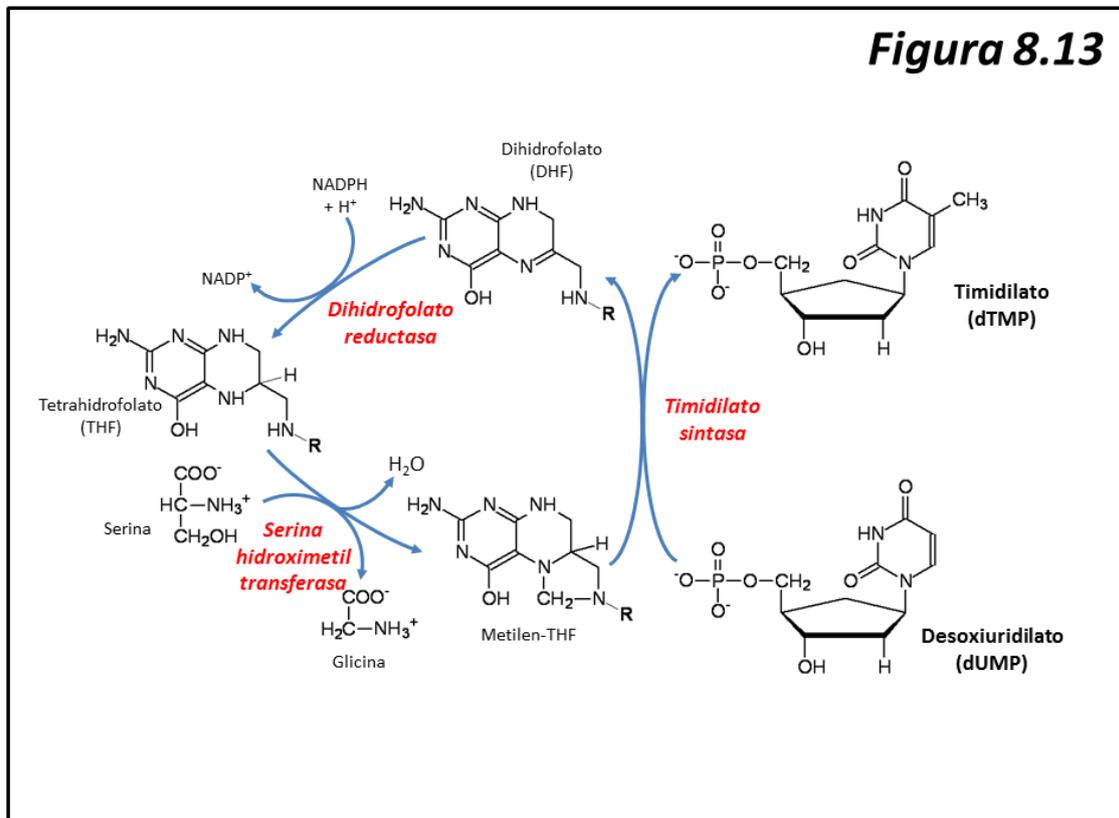
Diversas **desoxinucleósido difosfato kinasas** se encargan de producir a continuación los desoxinucleósido trifosfatos requeridos en la síntesis de DNA.

La ribonucleótido reductasa es una enzima fuertemente regulada. La regulación afecta tanto a la actividad como a la especificidad de la enzima, existiendo dos sitios diferentes para lo uno y para lo otro.

Cuando el sitio de actividad está ocupado por dATP (el desoxirribonucleótido), la enzima pierde toda su actividad. Por el contrario, la enzima es plenamente activa cuando este sitio está ocupado por ATP (el ribonucleótido). En esta condición, si el sitio de especificidad está ocupado por dATP o ATP, la enzima se vuelve específica para los ribonucleótidos pirimidínicos (UDP y CDP). Si está ocupado por dTTP, la especificidad es hacia GDP; y si la ocupación es por dGDP, la especificidad es hacia ADP. De esta manera se consigue un balance purinas/pirimidinas fundamental en la biosíntesis de DNA.

8.7.2 Producción de timina

La **figura 8.13** nos muestra esquemáticamente las reacciones de producción de desoxinucleótidos de timina.



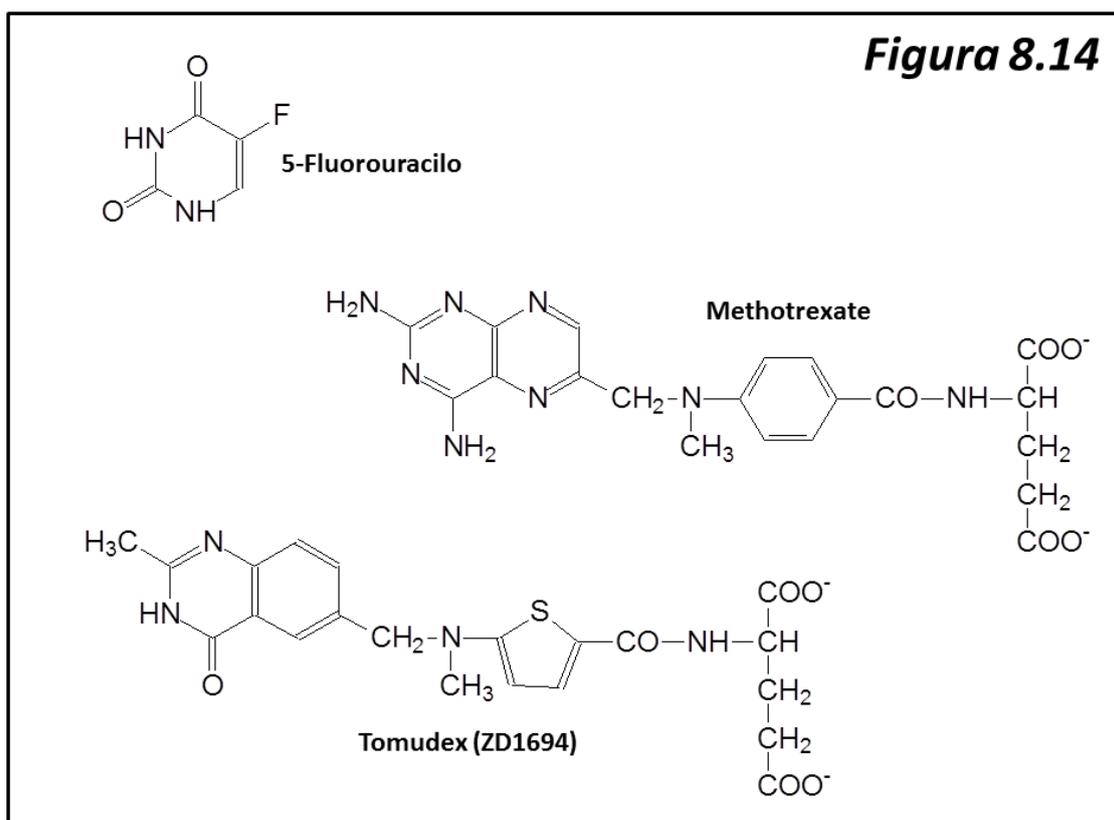
El sustrato para esta conversión es desoxiuridina 5'-monofosfato (dUMP). La ribonucleótido reductasa produce previamente dUDP que pierde hidrolíticamente un fosfato y da lugar a dUMP. Éste también puede producirse por desaminación hidrolítica de dCMP.

La **timidilato sintasa** (EC 2.1.1.45) cataliza la transferencia de un fragmento monocarbonado desde el portador metileno-THF (metileno tetrahidrofolato) hacia la posición 5 del anillo pirimidínico de uracilo, dando lugar a timina. En el proceso tetrahidrofolato es oxidado a dihidrofolato.

El cofactor THF se regenera mediante la **dihidrofolato reductasa** (EC 1.5.1.3) a expensas de NADPH como dador electrónico; a continuación vuelve a formar metilen-THF por acción de la enzima **serina hidroximetil transferasa** (EC 2.1.2.1) que ya hemos visto a propósito del metabolismo de aminoácidos.

8.7.3 Farmacología asociada a la síntesis de desoxinucleótidos

Dado que la síntesis de desoxinucleótidos es específica para la síntesis de DNA, el proceso de producción de éstos es una diana muy adecuada para inhibir el proceso de división celular, por lo que muchos agentes quimioterápicos antineoplásicos se centran en la inhibición del proceso de producción de desoxinucleótidos ([figura 8.14](#))



Así, **5-fluorouracilo** es un análogo de timina que el metabolismo celular convierte en el nucleótido 5-fluoro desoxiuridilato, que es un poderoso inhibidor competitivo de la timidilato sintasa.

Methotrexate y **Tomudex** (ZD1694) son análogos de las coenzimas folínicas e inhiben fuertemente a la dihidrofolato reductasa. Cualquiera de estos tres fármacos rompen el ciclo mostrado en la figura 8.x para la producción de desoxinucleótidos de timina.

8.8 Metabolismo de porfirinas

Con el nombre de **tetrapirroles** conocemos una serie de biomoléculas consistentes en la unión de cuatro núcleos pirrólicos. Encontramos **tetrapirroles cíclicos**, en los que los cuatro núcleos están formando un anillo y **tetrapirroles lineales**, en los cuales los cuatro pirroles aparecen unidos sin formar anillo.

A lo largo de la evolución química, los tetrapirroles han surgido estrechamente unidos a todas las facetas del metabolismo aeróbico. Así, un tipo de tetrapirroles cíclicos son las **clorofilas** (ver cap. 1), pigmentos encargados de la captación de luz en los centros fotosintéticos. Otros, que son los que estudiaremos en este capítulo, son las **porfirinas**, que aparecen tanto en transportadores de oxígeno como mioglobina y hemoglobina como en transportadores electrónicos como los citocromos y las peroxidasas. Otros, no relacionados en principio con el metabolismo aeróbico, son las **cobalaminas** o **coenzimas corrinoides** (vitamina B₁₂). En el centro de los tetrapirroles cíclicos suele aparecer un ion metálico coordinado a los cuatro nitrógenos pirrólicos. Así, encontramos un ion magnesio en las clorofilas, un ion cobalto en las cobalaminas y un ion de hierro en las porfirinas; cuando la porfirina está coordinada a un ion de hierro, suele denominarse **hemo**. A lo largo de este curso hemos visto hemos de distintos tipos (a, b, y c, por ejemplo). Aquí estudiaremos el metabolismo del **hemo b**, grupo prostético característico de la hemoglobina y de la mioglobina, que en el organismo de mamíferos constituye el contingente cuantitativamente más importante de porfirinas.

En cuanto a los tetrapirroles lineales, veremos en este capítulo los productos de degradación metabólica del hemo, particularmente la **biliverdina** y la **bilirrubina**.

Todos los organismos (y por supuesto, los mamíferos) son capaces de sintetizar tetrapirroles. En los animales, el proceso es parcialmente mitocondrial y parcialmente citoplásmico.

Asociadas a la biosíntesis del hemo existen una serie de enfermedades congénitas, las **porfirias**, que a pesar de su baja frecuencia han merecido una gran atención, tanto por los personajes históricos aquejados de las mismas (el rey Jorge III de Inglaterra, bajo cuyo reinado tuvo lugar la independencia de los Estados Unidos) como por las leyendas populares nacidas a partir de los individuos afectados; en particular, las leyendas en torno a vampiros.

8.8.1 Biosíntesis del grupo hemo

Los primeros experimentos con marcadores radioactivos mostraron que los cuatro nitrógenos pirrólicos del grupo hemo proceden del aminoácido glicina, mientras que los carbonos proceden tanto de glicina como de succinato.

La ruta de biosíntesis del hemo se presenta esquemáticamente en la **figura 8.15**. Podemos considerar que consiste en tres procesos sucesivos: (a) Formación de porfobilinógeno; (b) condensación de cuatro moléculas de éste para formar hidroximetil bilano, un tetrapirrol lineal; y (c) ciclización, isomerización y captación de un ion de hierro para formar el hemo.

La primera enzima en la ruta biosintética del hemo es la **δ -aminolevulinato sintasa** (EC 2.3.1.37), que cataliza la unión de glicina y succinil-CoA con pérdida de CO₂ y CoA-SH. El producto es el δ -aminolevulinato (5-aminolevulinato, abreviadamente ALA). Esta reacción tiene lugar en la mitocondria.

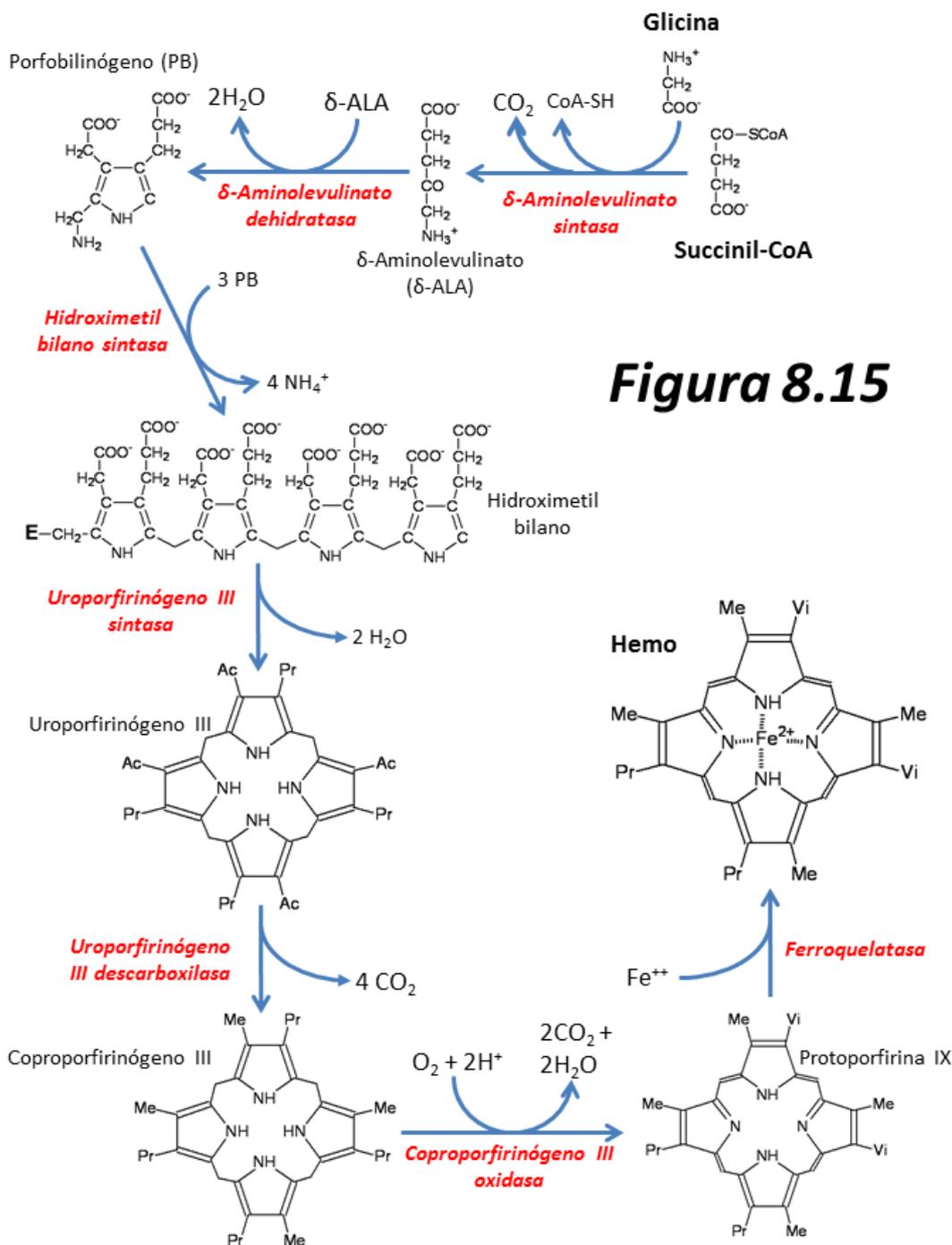


Figura 8.15

Dos moléculas de 5-aminolevulinato se condensan con pérdida de agua para formar porfobilinógeno, en un proceso catalizado por la **5-aminolevulinato deshidratasa** (EC 4.2.1.24). Porfobilinógeno es un pirrol sustituido por acetato, propionato y metilnamina. La reacción tiene lugar en el citosol. Esta enzima aparece inhibida en la **intoxicación por plomo**.

A continuación, cuatro moléculas de porfobilinógeno se condensan con pérdida de 4 moléculas de NH₃, para formar hidroximetil bilano, reacción catalizada por la **hidroximetilbilano sintasa** (EC 2.5.1.61). También es una reacción citosólica. La carencia de esta enzima da lugar a la **porfiria aguda intermitente**.

Hidroximetilbilano se cicliza gracias a la acción de la siguiente enzima, la **uroporfirinógeno III sintasa** (EC 4.2.1.75, llamada también cosintasa) para dar uroporfirinógeno III. Si esta enzima no funcionara, hidroximetilbilano se cicliza espontáneamente a uroporfirinógeno I, que no tiene ninguna actividad. Una y otra molécula se diferencian en la disposición de los sustituyentes en torno al anillo porfirínico. En el III, son Ac-Pr-Ac-Pr-Ac-Pr-Pr-Ac mientras que en el I son Ac-Pr-Ac-Pr-Ac-Pr-Ac-Pr (Ac es acetato, $-\text{CH}_2\text{-COO}^-$, y Pr es propionato, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-COO}^-$). La carencia de esta enzima, con la consiguiente acumulación de uroporfirinógeno I, produce la enfermedad conocida como **porfiria eritropoyética**. La reacción se lleva a cabo en el citosol.

Uroporfirinógeno III sufre la descarboxilación de sus cuatro grupos acetato, con desprendimiento de 4 CO_2 , para formar coproporfirinógeno III. La reacción está catalizada por la **uroporfirinógeno III descarboxilasa** (EC 4.1.1.37). Esta reacción es mitocondrial.

El siguiente paso consiste en la descarboxilación oxidativa de los residuos de propionato sustituyentes de los anillos A y B del coproporfirinógeno III, que pasan a ser grupos vinilo ($\text{CH}_2=\text{CH}-$) en la reacción catalizada por la **coproporfirinógeno III oxidasa** (EC 1.3.3.3). el producto es protoporfirina IX, la porfirina propia del grupo hemo de hemoglobina y mioglobina. Al igual que la anterior (y la siguiente), esta reacción tiene lugar en la mitocondria.

Por último, la **ferroquelatasa** (EC 4.99.1.1) incorpora un ion ferroso (Fe^{2+}) al anillo porfirínico dando lugar al hemo b.

8.8.2 Catabolismo del grupo hemo

La hemoglobina es degradada fundamentalmente en los órganos del sistema retículo-endotelial, y particularmente en el bazo. La degradación del hemo se presenta en la **figura 8.16**.

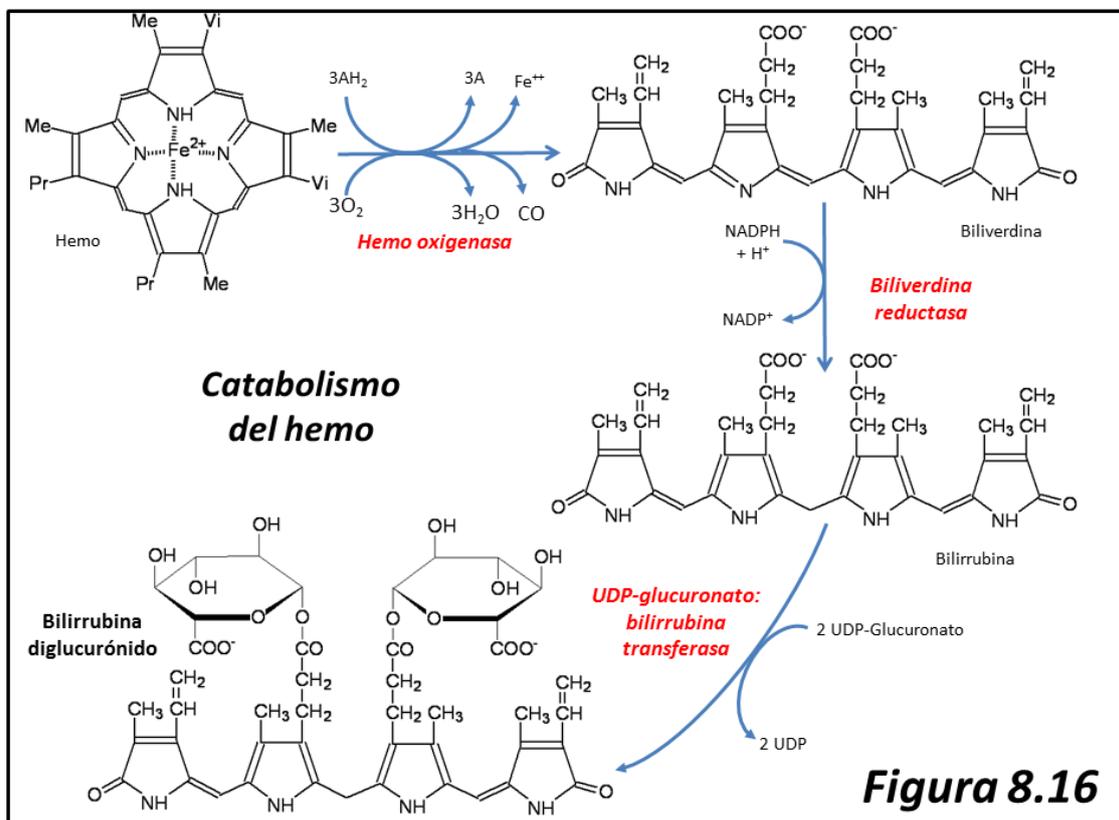
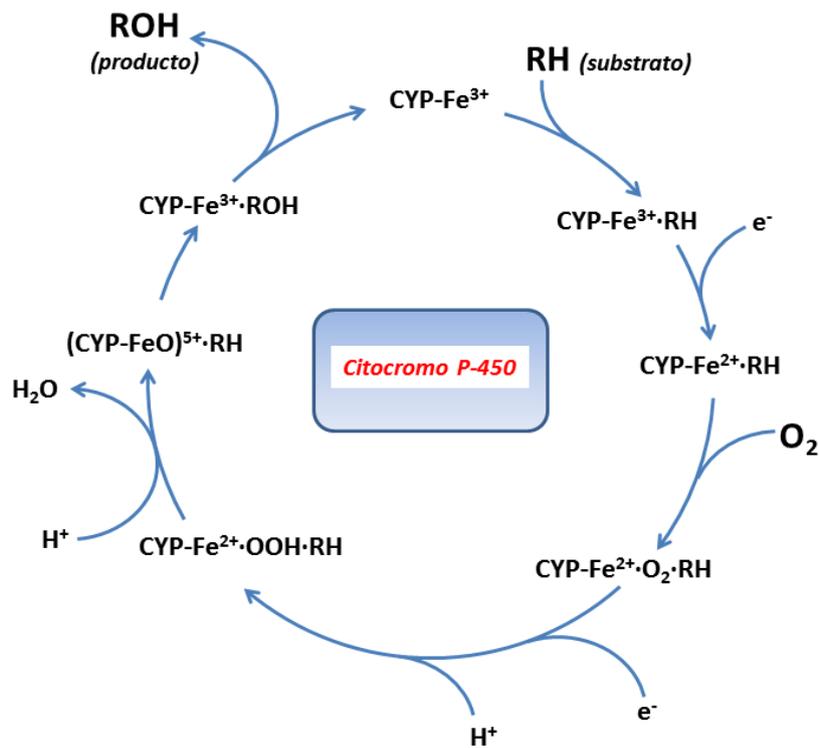


Figura 8.16

El anillo del grupo hemo se rompe mediante la reacción catalizada por **Hemo oxigenasa** (EC 1.14.99.3) que produce el tetrapirrol lineal biliverdina. La biliverdina es a continuación reducida por la **biliverdina reductasa** (EC 1.3.1.24) a bilirrubina.

La bilirrubina circula por la sangre unida reversiblemente a la seroalbúmina, y en el hígado es destoxificada produciendo primero el monoglucurónido y después el diglucurónido mediante una **glucuronato transferasa** (EC 2.4.1.17) que destoxifica muchos otros compuestos (ver cap. 9). El diglucurónido de bilirrubina pasa a la secreción biliar y se excreta en las heces.

CAPÍTULO 9: Metabolismo de Xenobióticos



9.1 Generalidades

9.1.1 Introducción

Con el nombre de **xenobióticos** conocemos todos aquellos compuestos extraños al metabolismo normal que sin embargo entran de alguna manera en el organismo. Esta definición incluye, pues, fármacos, drogas, fitosanitarios, cosméticos, contaminantes ambientales, aditivos alimentarios y tóxicos. Como veremos, existen rutas metabólicas encargadas de la transformación y eliminación de estos compuestos; y el estudio de las mismas es hoy por hoy un capítulo imprescindible para la comprensión de muchos procesos; desde el diseño de pautas terapéuticas con fármacos hasta la evaluación de riesgos medioambientales pasando por el estudio del modo de acción de tóxicos en el organismo. El metabolismo de xenobióticos cobra una importancia enorme en el momento actual de la civilización humana, expuesta a compuestos y productos químicos tanto de origen sintético

como procedentes de otros seres vivos pero extraños al metabolismo humano. Compuestos que están presentes en alimentos, en fármacos y drogas, en el medio ambiente y prácticamente en cada faceta de la vida humana moderna.

El estudio de estos mecanismos tiene un enorme interés en la Medicina actual. No solamente en el diseño de pautas terapéuticas farmacológicas, sino también debido al desarrollo de **resistencias a tratamientos**, tanto de enfermedades infecciosas como en la quimioterapia del cáncer; o bien en el desarrollo de interacciones indeseables entre distintos medicamentos.

El metabolismo es capaz de hacer frente a estos compuestos mediante una serie de mecanismos enzimáticos concretos que serán el objeto de estudio de este capítulo. En principio, estos mecanismos consisten fundamentalmente en incrementar la hidrosolubilidad del xenobiótico en particular, de modo que pueda ser fácilmente eliminado por la orina o por otros medios. Estos mecanismos fueron inicialmente conocidos como **Mecanismos de Destoxificación**. Hoy sin embargo, preferimos hablar de **Metabolismo de Xenobióticos**, denominación que incluye no sólo a tóxicos, sino también a muchos otros compuestos extraños al organismo no necesariamente tóxicos. Una denominación alternativa consiste en hablar de **Mecanismos de Biotransformación**, siendo éste quizá un concepto más inclusivo, puesto que alude también a la eliminación de productos del metabolismo normal tóxicos o potencialmente tóxicos. Así, dentro de la biotransformación, por ejemplo, incluimos el metabolismo de la bilirrubina, producto normal de la degradación del hemo que sin embargo puede resultar neurotóxico en determinados momentos de la vida.

Cabe preguntarse cómo ha surgido evolutivamente el metabolismo de xenobióticos, máxime cuando consideramos que muchos substratos del mismo son compuestos con los que el organismo humano jamás había tenido un contacto previo, lo que ocurre con todos los nuevos productos derivados de la investigación farmacéutica o de la industria química. La respuesta, probablemente, tiene que ver con la producción de los llamados **metabolitos secundarios** por parte de una gran cantidad de seres vivos, en particular aquéllos que viven fijos al substrato, como hongos y plantas. La defensa biológica de estos organismos consiste en la producción de compuestos que pueden resultar tóxicos para el predador que los ingiere o el patógeno que los ataca (como, por ejemplo, las **fitoalexinas** y alcaloides producidos por plantas o los antibióticos producidos por hongos). Y como en el mundo viviente no hay acción sin reacción, los organismos predadores han desarrollado a su vez mecanismos con los cuales combatir dichos tóxicos. Las fitoalexinas son compuestos antimicrobianos producidos por plantas. Desde el punto de vista químico, suelen ser alcaloides, terpenos, glicósidos esteroideos, flavonoides, cumarinas y estilbenos. Sus acciones son extremadamente variadas sobre las células diana, desde la destrucción de la pared celular hasta inhibición de la reproducción del organismo patógeno.

En el metabolismo normal estudiamos normalmente reacciones enzimáticas altamente específicas hacia su(s) substrato(s). En el metabolismo de xenobióticos, sin embargo, veremos que el concepto de especificidad es bastante relativo, dado que los mecanismos metabólicos de biotransformación son normalmente comunes a una gran cantidad de compuestos, muy diversos desde el punto de vista químico. Ahora bien, esta falta de especificidad se acompaña de una eficiencia catalítica bastante menor que la observada en el metabolismo endógeno, lo cual se traduce en que los xenobióticos presentan vidas medias de horas, de días o incluso meses o años (p.e., las dioxinas)

9.1.2 Sinopsis del metabolismo de xenobióticos

La clave central del metabolismo de xenobióticos radica en que en su gran mayoría, los compuestos susceptibles de biotransformación son de naturaleza hidrofóbica. Esto es así porque la barrera de permeabilidad que supone la membrana plasmática de la célula no permite el paso de moléculas polares a no ser que existan sistemas específicos de transporte, los cuales obviamente no existen para moléculas ajenas o extrañas al metabolismo. Por el contrario, las moléculas hidrofóbicas difunden libremente a través de las membranas y pueden entrar en la célula donde vayan a ejercer su actividad. Por tanto, la forma más común de biotransformación de xenobióticos consiste en la introducción de grupos polares en su molécula, seguida de su conjugación a grupos aún más polares, lo que incrementa enormemente su solubilidad, facilitando así su excreción urinaria y dificultando su captación por la célula. Asimismo, se impide la acumulación de xenobióticos en el tejido adiposo. De esta manera, en el metabolismo de xenobióticos se distinguen las siguientes fases:

Fase I (modificación)

Consiste en la introducción de grupos polares en la molécula del xenobiótico. Quizá la modificación más frecuente consiste en la introducción de grupos hidroxilo –OH en enlaces C-H, llevada a cabo por el sistema del **citocromo P-450** en una reacción monooxigenásica que utiliza O₂ y NADPH como correductor. Hay además otras muchas reacciones de modificación, aunque no tan importantes cuantitativamente.

Fase II (conjugación)

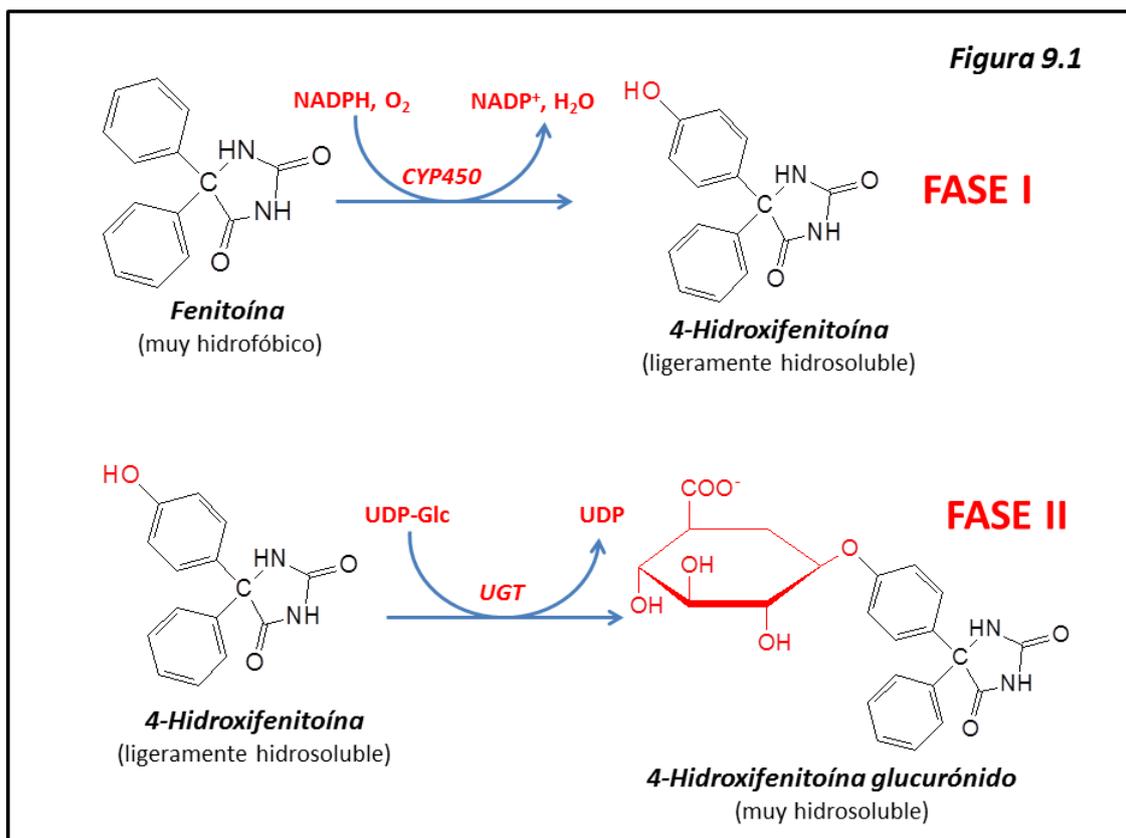
Consiste en la unión del xenobiótico modificado a un grupo molecular que presenta carga eléctrica (por lo general negativa), como **ácido glucurónico, glutatión, sulfato o glicina**. Esto incrementa en gran medida la hidrosolubilidad, siendo el compuesto resultante fácilmente excretable por la orina o por la bilis al tiempo que se impide su paso a través de la membrana celular. Este paso está catalizado por **transferasas** de especificidad muy amplia.

Fase III (transporte al exterior celular)

Las transformaciones de fase I y fase II dan lugar a compuestos polares que pueden quedar atrapados en el interior de la célula, en la que pueden seguir ejerciendo su actividad. Las reacciones de la fase III consisten en expulsar de la célula la molécula resultante de las dos fases anteriores. En líneas generales, el grupo aniónico introducido en las dos fases anteriores va a ser reconocido por determinados sistemas de transporte, como la MRP (*Multidrug Resistance Protein*) encargados de su transporte al medio extracelular.

Un ejemplo de la biotransformación en fases I y II aparece en la **figura 9.1** para el fármaco fenitoína*¹.

¹ Al final de este capítulo, en el Apéndice, hay una breve descripción de los compuestos que aparecen marcados con asterisco (*).



9.1.3 Características generales del metabolismo de xenobióticos

Dentro del proceso general de biotransformación de xenobióticos, podemos citar las siguientes características:

1. La biotransformación modifica la actividad del xenobiótico. Algunas veces el metabolito resultante es inactivo; en otras ocasiones, ocurre al contrario: es el metabolito la molécula realmente activa. El metabolismo de xenobióticos no debe ser concebido únicamente como una vía de *inactivación* de compuestos activos. Antes al contrario, en muchos casos, y en particular en el metabolismo de drogas y fármacos, es el metabolito resultante de la transformación el que realmente ejerce el efecto tóxico o farmacológico.
2. La Fase I de biotransformación da lugar, por lo general, a moléculas más polares y menos lipofílicas. La Fase II suprime por lo general toda actividad biológica del xenobiótico e incrementa aún más la polaridad de la molécula resultante. La Fase III consiste en la eliminación del conjugado hacia el medio extracelular.
3. Los órganos activos en biotransformación son, en principio, todos los del organismo. No obstante, están situados preferentemente en los órganos gastrointestinales (en especial el hígado, pero también en las mucosas del intestino); también se encuentran en las vías respiratorias, en el riñón, en la piel y, en menor medida, en el corazón, el músculo e incluso el cerebro.

4. Dentro de la célula, los sistemas enzimáticos de biotransformación se encuentran en su mayoría asociados a las membranas del **retículo endoplásmico**, por lo que en un fraccionamiento celular típico sedimentan con la **fracción microsomal**. Otros son de localización citosólica o mitocondrial.

5. Muchos sistemas enzimáticos de biotransformación son **inducibles**. Su actividad aumenta tras la administración de determinados fármacos. Un ejemplo clásico es la inducción enzimática por **fenobarbital***, un fármaco antiepiléptico. Estos efectos, a veces muy complejos, tienen lugar a nivel de la transcripción genética (ver sección 9.5).

6. Los sistemas enzimáticos son **saturables**. Esto significa que su actuación, ante concentraciones crecientes del xenobiótico, llega a un punto por encima del cual no pueden actuar más rápidamente. Frecuentemente esto ocurre por agotamiento de cofactores.

7. Los sistemas enzimáticos varían según la edad, el sexo y la especie; es obvio que existe una determinación genética. Para muchos xenobióticos se puede distinguir entre *metabolizadores rápidos* y *metabolizadores lentos*, dependiendo de polimorfismos en los sistemas enzimáticos implicados. Igualmente, pueden verse afectados por factores ambientales exógenos.

8. Los sistemas enzimáticos de biotransformación, en muchas ocasiones, están formados por elementos de superfamilias de enzimas relacionadas genéticamente, existiendo en el genoma una notable cantidad de genes relacionados con cada actividad en particular. Así, encontramos en el organismo humano unas 60 isoformas de citocromo P-450; 6 de flavin monooxigenasas; 19 genes que codifican por glucuronil transferasas; 11 isoformas de sulfottransferasas; 20 de glutatión S-transferasas; dos genes para N-acetil transferasas y 3 para metiltransferasas. Esta enorme variedad surge a través de mecanismos de duplicación genética, *splicing* alternativo de genes en el momento de la transcripción y además, por la existencia de polimorfismos en muchas de las enzimas en particular.

9. Los mecanismos de biotransformación no se ocupan únicamente de xenobióticos. Están asimismo relacionados con el metabolismo de compuestos endógenos de carácter lipofílico, como esteroides, retinoides, calciferoles, etc. En particular, la producción de ácidos biliares y de hormonas esteroides a partir de colesterol se lleva a cabo a través de sistemas de biotransformación como hidroxilasas ligadas al citocromo P-450 y su eliminación mediante enzimas de glucurono- o sulfoconjugación.

9.2 Fase I del metabolismo de xenobióticos

Comprende las reacciones primarias de modificación que experimenta un xenobiótico. Como se señaló anteriormente, tienen por objeto la introducción de grupos polares en moléculas que por lo general son hidrofóbicas. El principal contingente de reacciones está constituido por **monooxigenaciones**, y entre éstas, la mayor parte está catalizada por sistemas ligados al **citocromo P-450 (CYP)**. Otras monooxigenaciones, no ligadas al citocromo P-450 son llevadas a cabo por **flavin monooxigenasas (FMO)**. En la Fase I del metabolismo de xenobióticos podemos encontrar asimismo deshidrogenaciones, oxidación de aminas, reducciones, hidrólisis, hidratación de epóxidos, deshalogenaciones y reducción de quinonas.

9.2.1 Los citocromos P-450

9.2.1.1 Generalidades y estructura

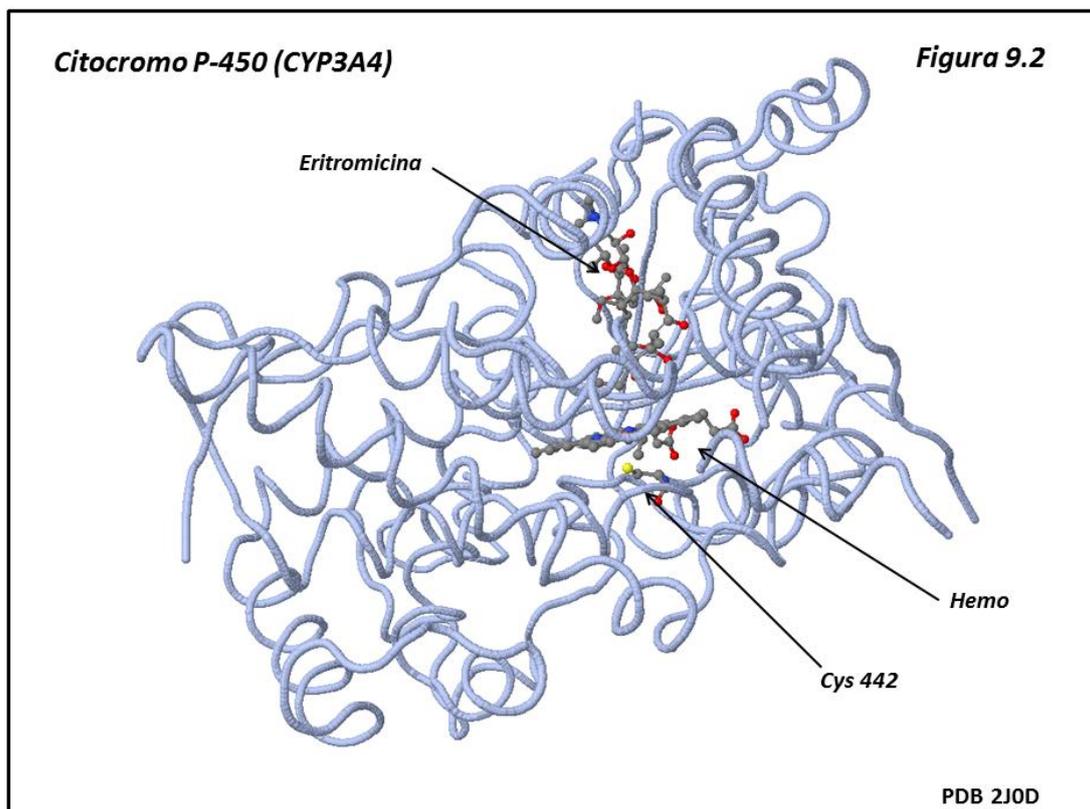
El citocromo P-450 (abreviadamente, **CYP**) no es una única proteína. En realidad se trata de una superfamilia que comprende más de 200 proteínas conocidas, divididas en familias y subfamilias. Todas ellas contienen un grupo prostético **hemo b** (como la hemoglobina y la mioglobina) fundamental para el proceso catalítico. Su espectro de absorción visible se caracteriza por una banda prominente de absorción a 450 nm, de donde le viene el nombre. Este espectro de absorción varía con los distintos estados de oxidación por los que pasa el ion central de hierro.

Los más de 200 isotipos de la superfamilia citocromo P-450 se clasifican en 28 familias (más de 40 % de similitud secuencial), que se distinguen mediante números árabes o romanos (1-28, I-XXVIII). Dentro de cada familia hay subfamilias (compartiendo más del 55 % de la secuencia) que se distinguen por letras mayúsculas del alfabeto (A-Z). Los elementos individuales de cada subfamilia se distinguen por números arábigos 1 →. Así, por ejemplo, si nos referimos a CYP2A4, se trata de un citocromo P-450, familia 2, subfamilia A, proteína 4.

Desde el punto de vista estructural, el hemo CYP difiere del grupo hemo de hemoglobina y mioglobina en que la quinta posición de coordinación del hierro está ocupada por un átomo de azufre de cisteína (en hemoglobina y mioglobina lo está por el nitrógeno de una histidina). Todos los CYP presentan la secuencia consenso [FW]-[SGNH]-x-[GD]-{F}-[RKHPT]-{P}-**C**-[LIVMFAP]-[GAD]. La cisteína marcada en negrita es la que se une a la quinta posición de coordinación del hierro en el hemo. Se trata de proteínas asociadas a membrana que aparecen en el retículo endoplásmico (por lo cual sedimentan con la fracción microsomal de los tejidos) o en la membrana interna de la mitocondria. Se encuentran muy ampliamente distribuidas a lo largo de toda la escala filogenética. En bacterias encontramos típicamente unas 20 isoformas; en el organismo humano, unas 60; en las plantas, centenares.

De los CYP humanos, unos 15 están implicados en el metabolismo de xenobióticos; 14 participan en el metabolismo de esteroides; 4 en la oxidación de retinoides (vitamina A) y calciferoles (vitamina D); y otros 9 en el metabolismo de ácidos grasos y eicosanoides, desconociéndose por el momento la función de los restantes. Los CYP implicados en la producción de ácido biliares a partir de colesterol tienen, a diferencia del resto, una especificidad muy marcada hacia el sustrato y no participan en el metabolismo de xenobióticos.

La **figura 9.2** muestra la estructura del CYP3A4, el citocromo P-450 más abundante en el organismo humano y que contribuye al metabolismo de un 50 % de xenobióticos en el mismo, siendo también responsable de la mayor parte de interacciones farmacológicas indeseables. La estructura muestra la proteína en representación esquemática con el grupo hemo b y la cisteína 442 que se fija a la quinta posición de coordinación del hemo. Aparece también una molécula del antibiótico eritromicina* (inhibidor) fijada a la proteína.



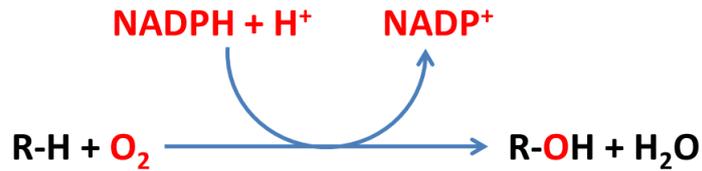
El órgano responsable de la biotransformación es mayoritariamente el hígado; tomando su actividad como 100, veríamos otros órganos como riñón (15), pulmón (10), corazón (5), músculo y cerebro (1).

Los CYP que metabolizan xenobióticos pueden modificar a un gran número de éstos. Esto es debido tanto a la existencia de distintas isoformas como a la capacidad de un CYP concreto para metabolizar compuestos químicamente muy distintos. Igualmente, un mismo compuesto puede ser modificado por distintos CYP, aunque a diferentes velocidades. Además un mismo CYP puede modificar una molécula en diferentes posiciones. Esta falta de especificidad se hace a expensas de una velocidad mucho más lenta de transformación que en otras enzimas más específicas; mientras que un fármaco puede tener una vida media entre 3 y 30 horas, los metabolitos endógenos la tienen en el orden de segundos o a lo sumo en minutos.

Tanto la falta de especificidad, como la multiplicidad de acciones de los CYP, así como el fenómeno de inducción enzimática (ver sección 9.5), son la causa de la mayor parte de interacciones medicamentosas no deseadas en la Terapéutica. Así, la administración conjunta de dos fármacos metabolizados por un mismo CYP puede resultar en una competición que prolonga la vida media (y la toxicidad potencial) de uno, de otro o de ambos; o bien uno de ellos puede ser inhibidor del que metaboliza al otro; o también uno se puede comportar como inductor del sistema enzimático que inactiva (o activa en algunos casos) al otro. Todo esto obliga a que la aprobación para el uso terapéutico de un determinado fármaco requiera hoy día una gran cantidad de experimentación y de estudios de campo.

9.2.1.2 Reacciones del citocromo P-450

La reacción más común catalizada por los citocromos P-450 es la propia de **monooxigenasas u oxidasas** de función mixta (también llamadas hidroxilasas):



Que en realidad es una reacción bastante complicada, según se aprecia en la [figura 9.3](#).

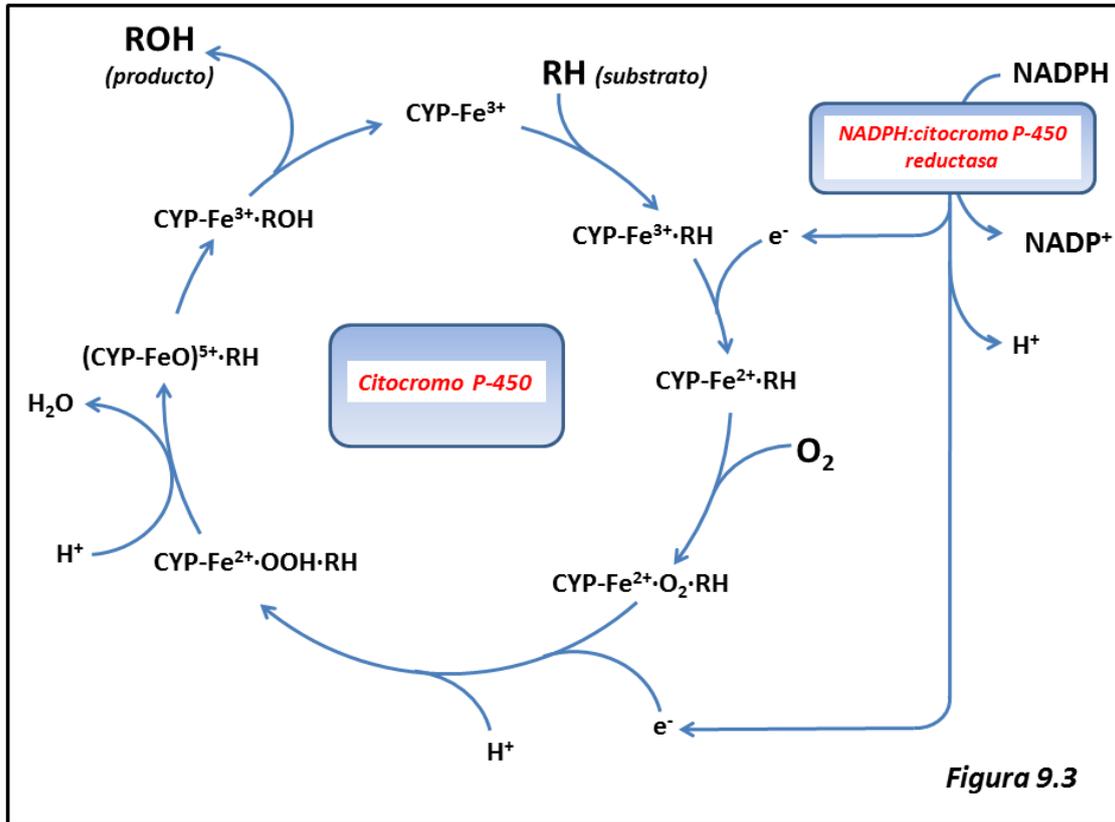


Figura 9.3

La reacción requiere dos sistemas enzimáticos. Uno, ligado al citocromo P-450 (abreviadamente CYP) cuyo ion de hierro central pasa por distintos estados de oxidación (ferroso Fe^{2+} , férrico Fe^{3+} , ferrilo Fe^{4+} e incluso perferrilo Fe^{5+}) dependiendo de la captación de electrones procedentes de NADPH, gracias a la enzima **NADPH: citocromo P-450 reductasa (EC 1.6.2.4)** Esta reductasa es una flavoproteína que contiene FAD y FMN. Los electrones pueden asimismo proceder de la enzima **NADH: citocromo b₅ reductasa (EC 1.6.2.2)**, que opera en la desaturación de ácidos grasos (ver cap. 6, [figura 6.20](#)). Al tratarse de una reacción muy compleja, existe la posibilidad de producción de especies reactivas de oxígeno (ERO, ver cap. 5) como el anión radical superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$) si se interrumpe alguno de los pasos.

Tanto el citocromo P-450 como la reductasa están ligados al retículo endoplásmico, por lo cual siempre se encuentran en la **fracción microsomal**, fundamentalmente de hígado; pero también se encuentran en la misma fracción de pulmón, cerebro, piel, mucosa gastrointestinal, etc. En el retículo endoplásmico las dos enzimas aparecen asociadas, y es necesario el fosfolípido de membrana para que las reacciones tengan lugar. El sustrato tiene que ser necesariamente lipofílico para poder entrar al interior de la membrana del retículo endoplásmico donde se encuentran las enzimas.

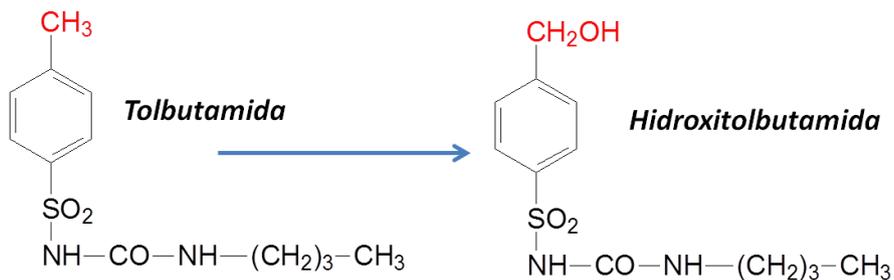
Lo que sigue es una enumeración (no exhaustiva) de reacciones ligadas al citocromo P-450. Se debe tener en cuenta que algunas de estas reacciones pueden ser catalizadas por otros sistemas no ligados al citocromo P-450 microsomal; se estudian en la sección 9.2.2

1. Oxidación alifática

Consiste en la introducción de un grupo hidroxilo en un grupo alifático:

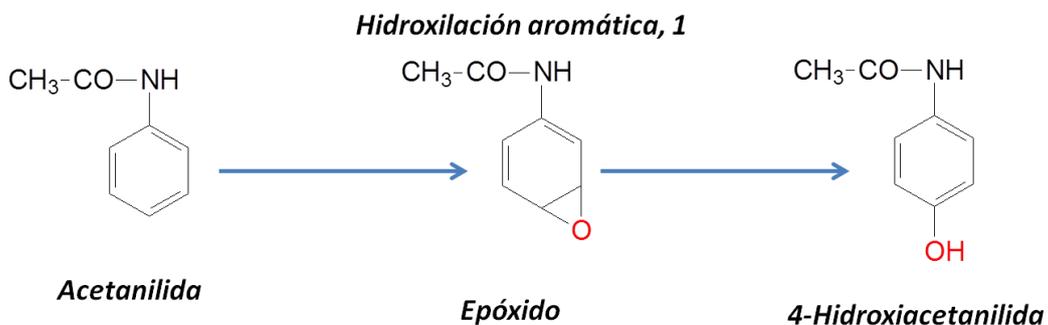


Como ejemplo de la misma, tenemos la biotransformación del antidiabético oral tolbutamida*:

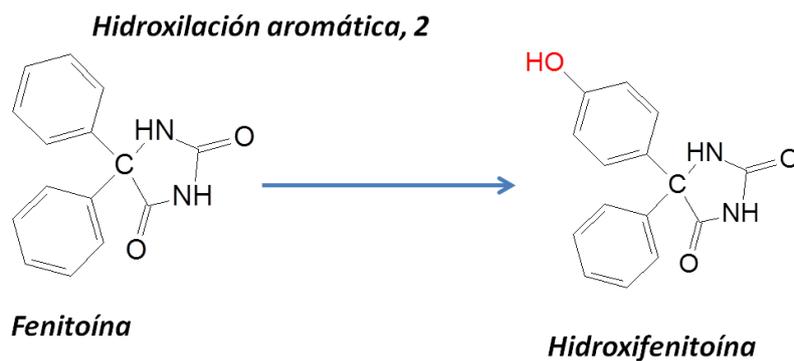


2. Oxidación aromática

El grupo hidroxilo se introduce en un sistema aromático, generalmente con un epóxido intermediario:



Encontramos otro ejemplo en la biotransformación de fenitoína*:

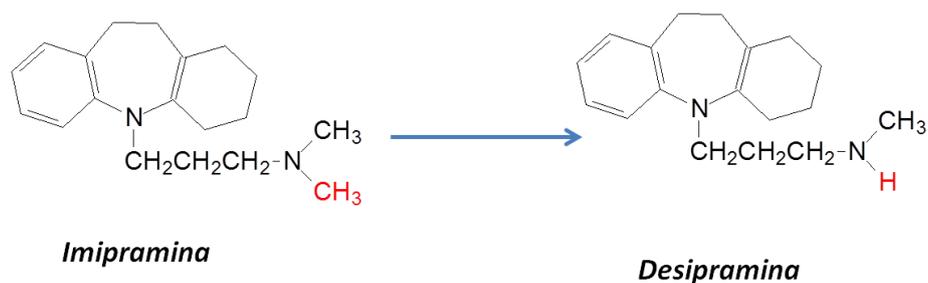


3. N-Dealquilación

Consiste en la eliminación de un grupo alquil (metilo, p.e.) que sustituye a un nitrógeno previa oxidación, con liberación de formaldehido:

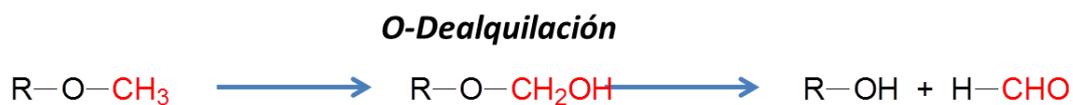


Podemos ver un ejemplo en la biotransformación de imipramina*:

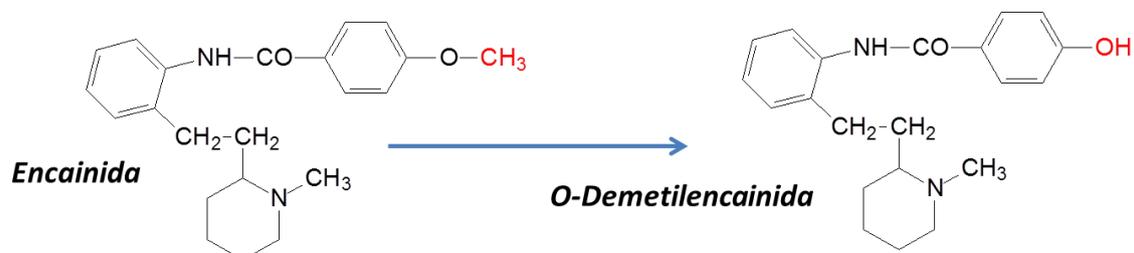


4. O-Dealquilación

El grupo alquil eliminado (como formaldehido) sustituye previamente a un oxígeno:



Es el caso de la biotransformación del antiarrítmico encainida*:



5. S-Demetilación

Se elimina como formaldehido un grupo metilo sustituyendo a un azufre, dando lugar a un tiol:

S-Demetilación



Esta reacción se observa sobre 6-metiltiopurina dando 6-mercaptopurina*:

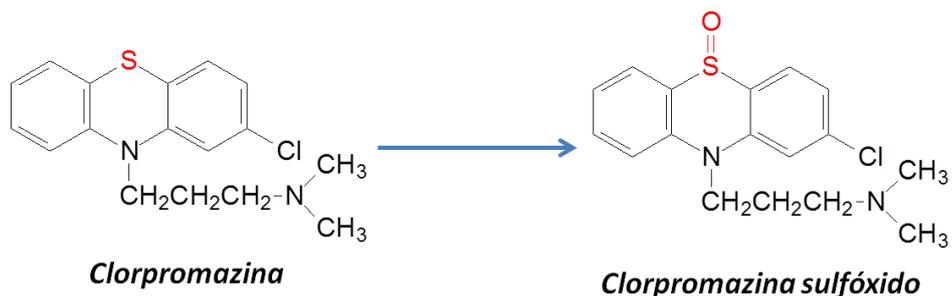


6. S-Oxidación

Se forma un grupo sulfóxido a partir de un sulfuro:

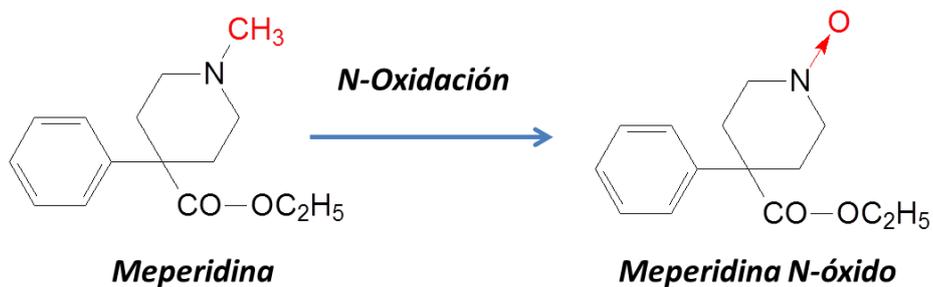


Es el caso de la biotransformación de clorpromazina*:



7. N-Oxidación

El grupo oxigenado se introduce sobre un nitrógeno amínico; como ejemplo, la biotransformación de meperidina*:



8. N-Hidroxilación

Introduce un grupo hidroxilo en un nitrógeno amínico:



Por ejemplo, en la biotransformación de acetaminofluoreno* (AAF):

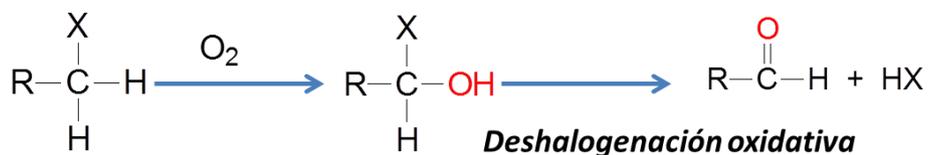


Acetaminofluoreno (AAF)

N-hidroxi AAF

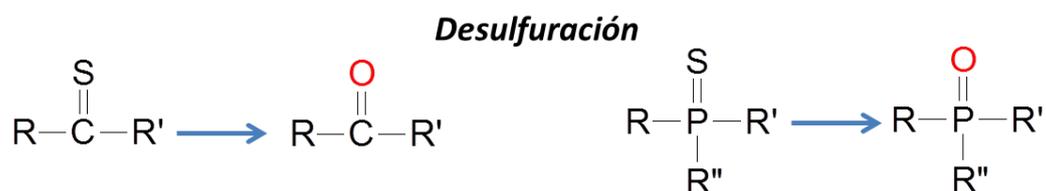
9. Deshalogenación oxidativa

Reemplaza un halógeno (X) por oxígeno:

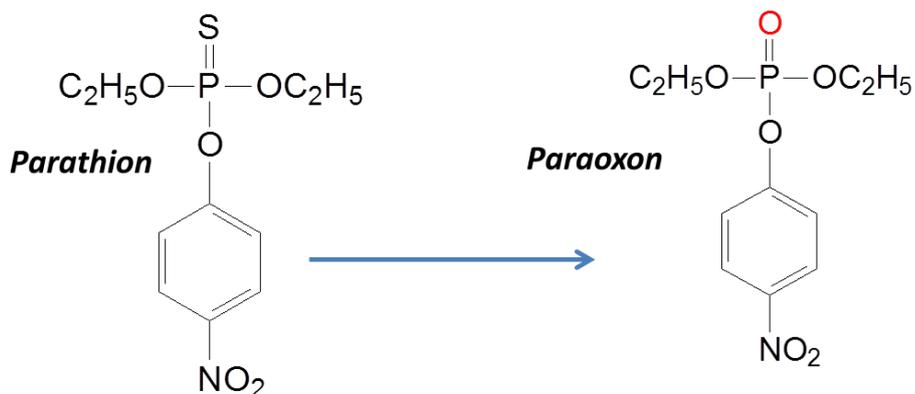


10. Desulfuración

Reemplaza un grupo =S por un grupo =O, bien sobre carbono o sobre fósforo:



Así, la biotransformación del insecticida parathion*:



9.2.1.3 Inhibidores del citocromo P-450

El sistema CYP puede ser inhibido de varias maneras:

1. Inhibición competitiva. Se da cuando dos xenobióticos compiten por la misma molécula de citocromo P-450. Por ejemplo, omeprazol* y diazepam* compiten de tal manera que la administración conjunta de los mismos prolonga la vida media plasmática de diazepam. Este mecanismo es una de las principales causas de interacción medicamentosa no deseable.
2. El ligando de coordinación CO (monóxido de carbono) es un potente inhibidor de los citocromos P-450, al ocupar irreversiblemente la sexta posición de coordinación del ion de hierro.
3. Inhibición competitiva cuando el inhibidor no es sustrato normal del citocromo P-450. CYP2D6 metaboliza dextrometorfano*. La quinidina* se fija al mismo e impide la biotransformación del dextrometorfano. Este mecanismo es infrecuente.
4. Inhibición suicida. El propio citocromo P-450 transforma la molécula del inhibidor en una especie muy reactiva que reacciona con la propia molécula del citocromo, inactivándola. Un ejemplo es la metirapona*, inhibidor de la biotransformación de esteroides.
5. Algunos componentes del zumo de pomelo (naringina, furanocumarinas) son inhibidores muy potentes del CYP3A4, que como hemos visto, es el citocromo P-450 más abundante y el que metaboliza un mayor número de xenobióticos. Es un hecho a tener en cuenta en la dosificación de antihipertensivos, inmunosupresores, antidepresivos, antihistamínicos y estatinas.

9.2.2 Otras reacciones de Fase I

1. Flavin monooxigenasas (FMO)

Son enzimas que introducen grupos oxigenados en el sustrato diferentes del citocromo P-450. Constituyen asimismo una superfamilia de enzimas. Al igual que los CYP, las FMO se expresan preferentemente en el hígado y aparecen ligadas al retículo endoplásmico (fracción microsomal). Pero a diferencia de aquéllos, las FMO no son inducibles ni tampoco inhibidas fácilmente, por lo que no suelen estar implicadas en interacciones medicamentosas. Por ello, en la investigación de nuevos fármacos se buscan moléculas con sitios potenciales de oxidación por FMOs, ya que no están sujetos a los mismos problemas que los metabolizados por CYPs.

Hay seis familias de FMO, siendo FMO3 la más abundante. FMO3 metaboliza, por ejemplo, los antagonistas al receptor de histamina H₂ ranitidina* y cimetidina*.

Dentro de este grupo podemos incluir las enzimas que operan en la inactivación de neurotransmisores (dopamina, adrenalina, noradrenalina, serotonina) o sus análogos.

Catalizan, en general, la desaminación de aminas alifáticas a aldehídos. Un producto de la reacción es peróxido de hidrógeno H₂O₂.

Desaminación oxidativa

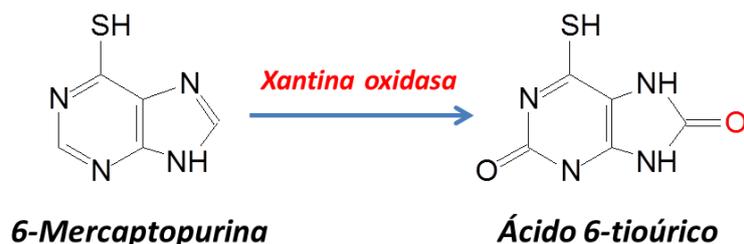


Un representante característico de estas enzimas es la monoaminoxidasa (MAO, EC 1.4.3.4), de localización mitocondrial, encargada de la biotransformación de catecolaminas y serotonina en el sistema nervioso. Los inhibidores de esta enzima se emplean para potenciar el efecto de estas aminas biogénicas, en tratamientos antidepresivos.

Como ejemplo, tenemos la inactivación de anfetamina*:

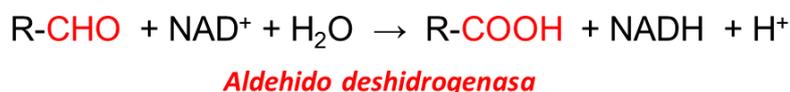
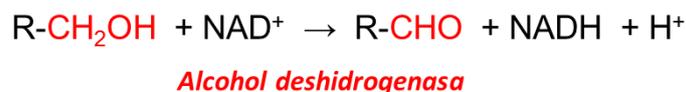


Otras reacciones oxidásicas (como la xantina oxidasa, EC 1.17.3.2) pueden participar en el metabolismo de xenobióticos. Así, el agente antineoplásico 6-mercaptapurina* es oxidado a ácido 6-tioúrico:

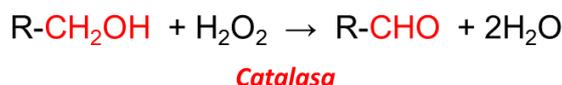


2. Oxidación de alcoholes y aldehídos

Llevadas a cabo por alcohol deshidrogenasa (EC 1.1.1.1) y aldehido deshidrogenasa (EC 1.2.1.3) en el citosol:



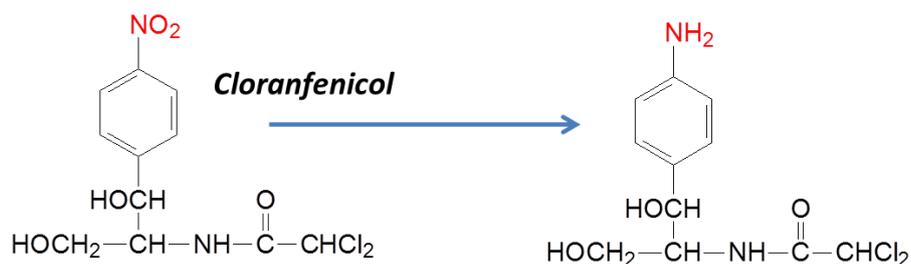
Y por catalasa (EC 1.11.1.6) en los peroxisomas:



Estas reacciones pueden también ser llevadas a cabo por el sistema del citocromo P-450.

3. Reducción

Algunos xenobióticos sufren una biotransformación por reducción. Tal es el caso del cloranfenicol* (nitro reducción):

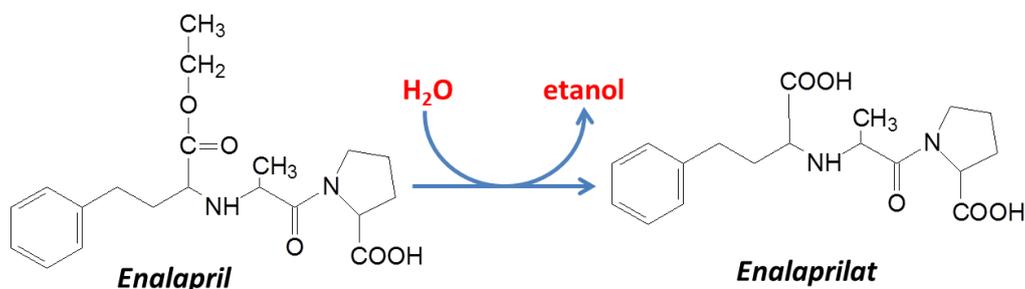


5-Fluorouracilo* (agente antineoplásico) puede ser reducido por la enzima dihidropirimidina deshidrogenasa (EC 1.3.1.2) a 5-fluorodihidouracilo:



4. Hidrólisis

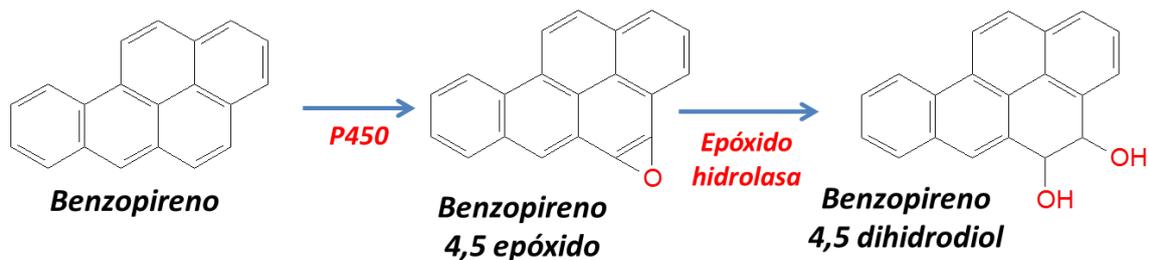
Esta biotransformación emplea enzimas hidrolíticas (p.e., carboxilesterasas y amidasas) en el metabolismo de xenobióticos, aunque su función principal es la inactivación de neurotransmisores endógenos como la acetilcolina. Son de localización microsomal o citosólica. Tomamos como ejemplo la hidrólisis de enalapril* para dar enalaprilat, que en este caso es el metabolito activo:



5. Hidrólisis de epóxidos

Las epóxido hidrolasas (EC 3.3.2.9) añaden una molécula de agua a un epóxido (previamente formado por los CYP). Existen dos formas de esta enzima, una de ellas citosólica y la otra microsomal. Los epóxidos son reactivos electrofílicos que pueden causar daños graves a moléculas nucleofílicas como los ácidos nucleicos y las proteínas.

Como ejemplo tenemos la biotransformación del carcinógeno benzopireno*:



En este caso, la molécula transformada (dihidrodíol) es el compuesto realmente activo en la carcinogénesis inducida por benzopireno.

6. Deshalogenaciones no mediadas por el citocromo P-450

Tenemos un ejemplo en la biotransformación del insecticida DDT (dicloro difenil tricloroetano) mediante deshalogenasas citosólicas. Otras deshalogenaciones, incluida la del DDT, pueden ser catalizadas por el citocromo P-450.



9.3 Fase II del metabolismo de xenobióticos

La Fase II del metabolismo de xenobióticos consiste en la conjugación de moléculas modificadas en la fase I a grupos moleculares polares, generalmente con carga electronegativa. Por lo general, estos conjugados se excretan fácilmente. Las reacciones de conjugación requieren energía, que normalmente es suministrada por la molécula donadora (UDP-glucurónico, PAPS, S-adenosilmetionina, coenzima A, etc.). Muchas enzimas de fase II son inducibles, y las reacciones se llevan a cabo en el citosol, con excepción de la glucuronidación, que tiene lugar en el lado luminal del retículo endoplásmico.

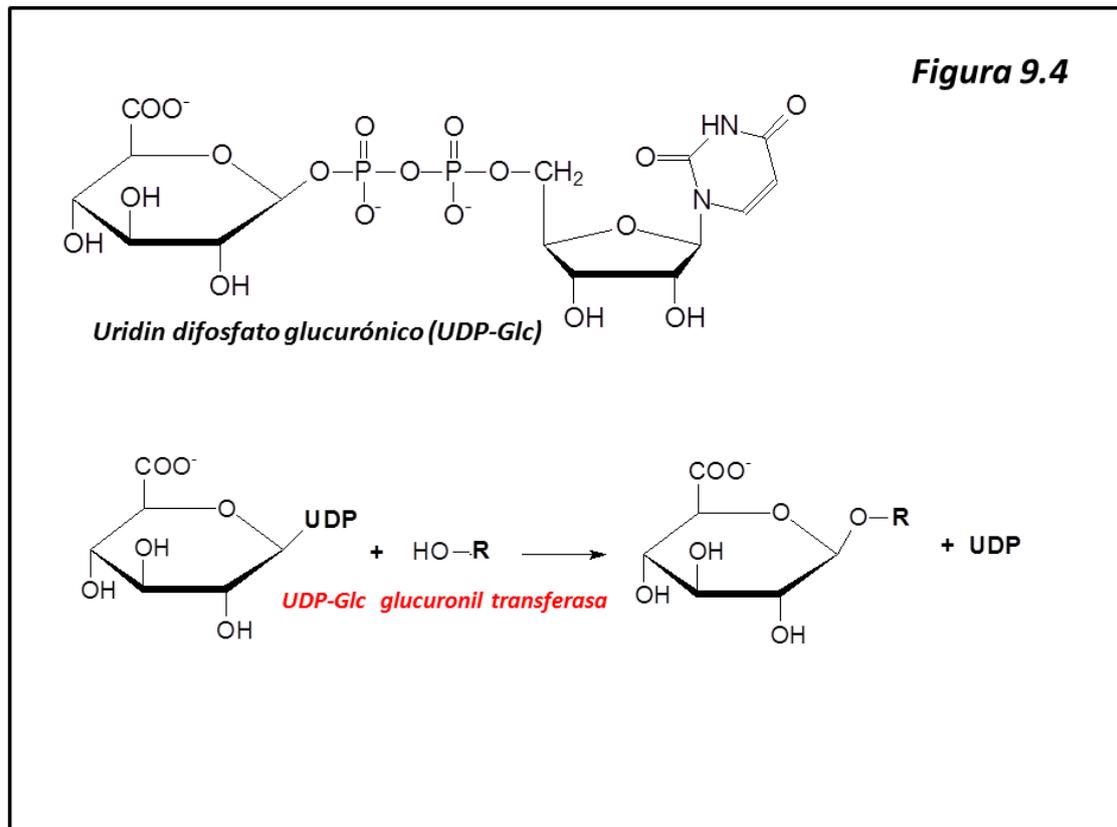
En general, todas estas enzimas actúan mucho más rápidamente que los CYP u otros sistemas de fase I. Por ello, si un fármaco es metabolizado por CYP y posteriormente conjugado por enzimas de fase II, su vida media dependerá sobre todo de la velocidad de la fase I.

9.3.1 Glucuronidación

Es la conjugación a ácido glucurónico, y probablemente el grupo de reacciones cuantitativamente más importantes de la Fase II.

El ácido glucurónico reacciona con grupos OH, -COOH, -NH₂, -SH y -C-C-. La molécula dadora de ácido glucurónico es UDP-glucurónico (Uridin difosfato glucurónico, UDP-Glc) y la reacción está catalizada por la UDP-glucuronil transferasa (EC 2.4.1.17), enzima de localización microsomal (figura 9.4) capaz de glucuronidar una gran cantidad de sustratos. En hígado de rata se han descrito dos familias genéticas, UGT1 y UGT2, que dan lugar a al menos cuatro enzimas distintas. En el hombre se han descrito hasta 6 productos distintos de la familia UGT1. Se

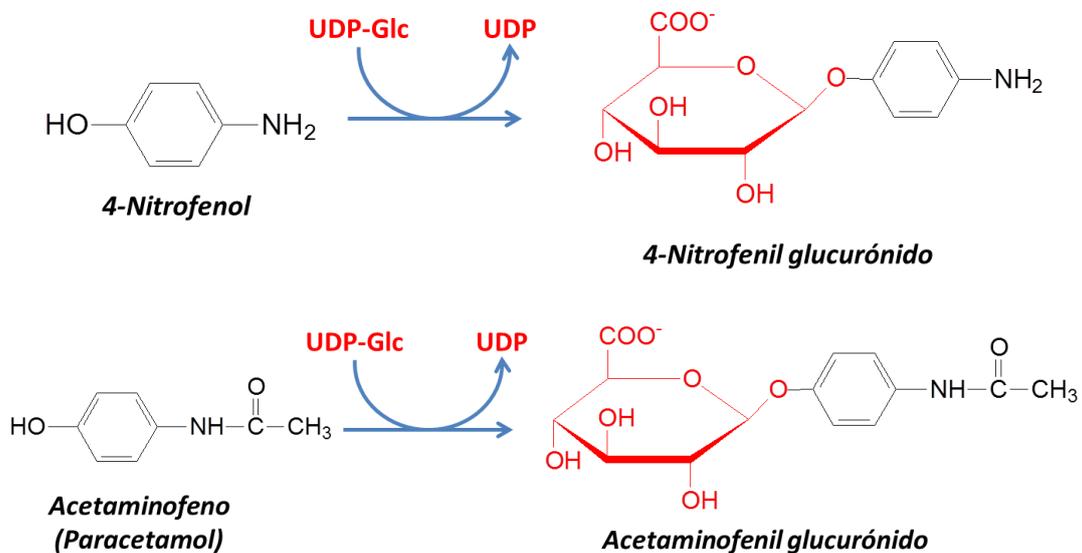
producen por *splicing* alternativo de UGT1 en el exón 1 permaneciendo constantes los exones 2-5.



En la rata, las UGT1 son inducibles por ligandos de AHR (receptor de aril hidrocarburos) como 3-metilcolantreno, fenobarbital* y clofibrato*.

Una gran cantidad de substratos pueden ser utilizados por este sistema: fenol, alcohol, ácidos carboxílicos, hidroxilaminas, sulfonamidas. La glucuronidación es asimismo la forma de detoxificación de la bilirrubina endógena.

Como ejemplos, tenemos la conjugación de nitrofenol y acetaminofeno* (paracetamol):



Los productos de reacción pueden ser: éteres O-glucurónidos (de hidroxilos fenólicos o alifáticos); ésteres O-glucurónidos (de ácidos carboxílicos); N-glucurónidos, S-glucurónidos y C-glucurónidos. Los glucuronoconjugados se pueden excretar tanto por vía urinaria como por vía biliar. En este último caso, muchos glucuronoconjugados son hidrolizados en la luz intestinal (incluso por enzimas de la flora bacteriana) y reabsorbidos (circulación enterohepática), hecho que se debe tener en cuenta en la dosificación de fármacos.

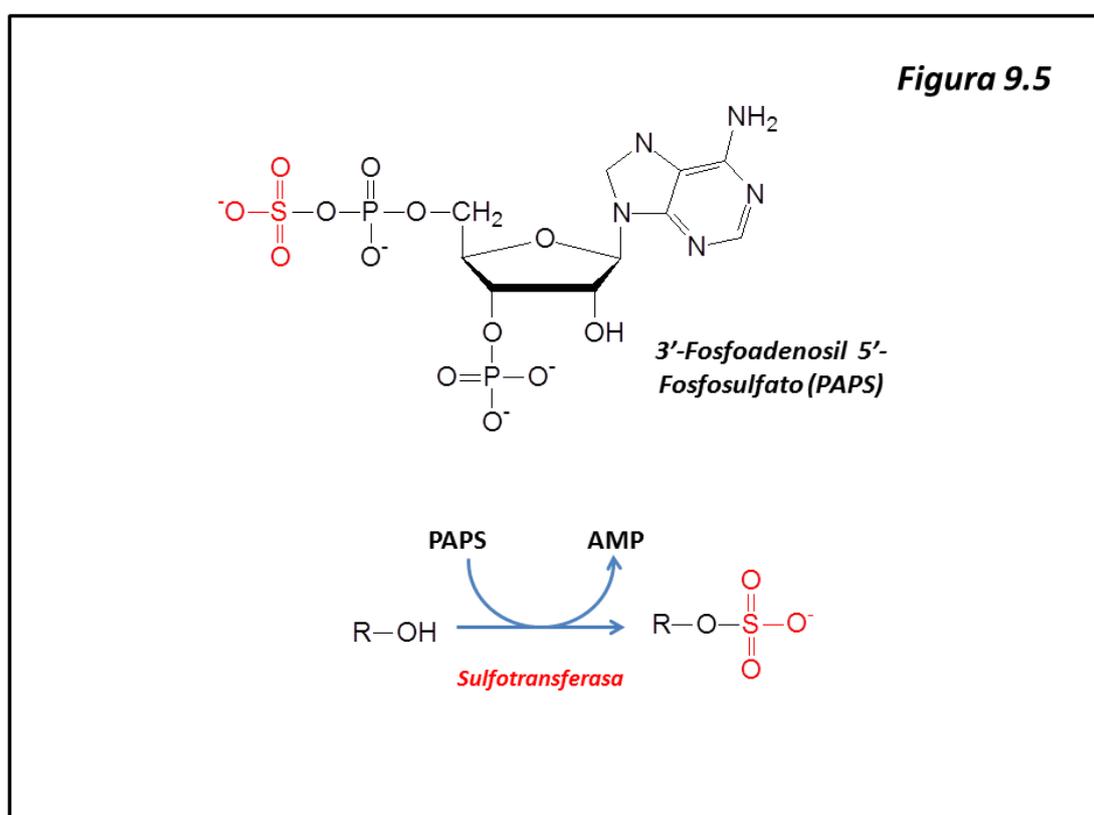
La glucuronidación es un sistema de baja afinidad y alta capacidad, que actúa preferentemente ante altas concentraciones de sustrato.

9.3.2 Conjugación a sulfonato

También conocida (incorrectamente) como sulfatación o conjugación a sulfato.

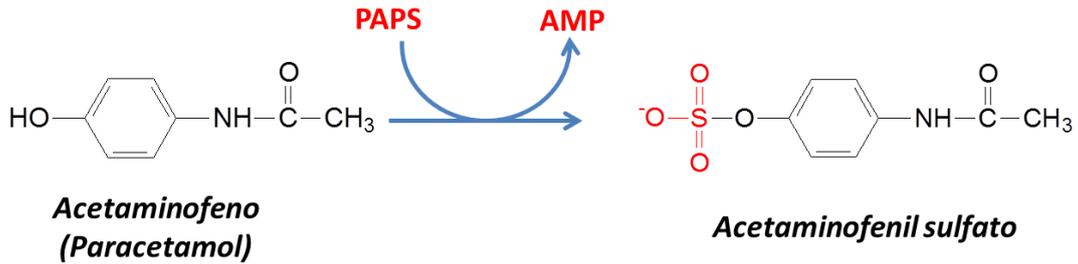
Implica la transferencia de sulfonato (SO_3^-) y no sulfato (SO_4^{2-}) desde el donador PAPS (3'-fosfoadenosina 5'-fosfosulfato) al xenobiótico; los productos de reacción son tioéteres o tioésteres.

Sulfonato reacciona con fenoles, alcoholes y aminas aromáticas. La molécula donadora es el PAPS (figura 9.5). Las enzimas implicadas son sulfotransferasas (EC 2.8.2.1-3), de localización citosólica. Es también una superfamilia de enzimas, conocidas como SULT 1, SULT 2 y SULT 3.



La conjugación a sulfonato es importante también en la biotransformación de hormonas esteroideas, catecolaminas y hormonas tiroideas. Colesterol sulfato es un metabolito esencial en el normal desarrollo de los queratinocitos cutáneos.

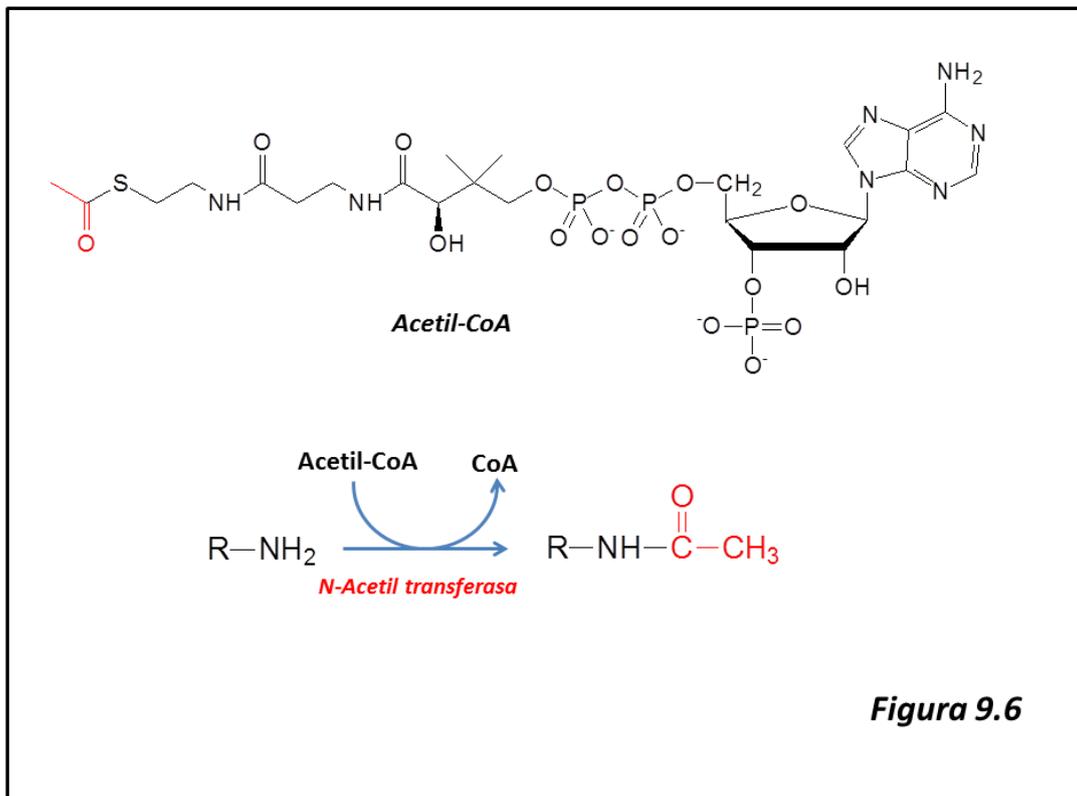
La sulfonación es un sistema de alta afinidad y baja capacidad, que actúa sobre todo ante bajas concentraciones de sustrato. Así, ante sustratos que pueden experimentar glucuronidación y sulfonación (como acetaminofeno*, p.e.), predomina esta última ante bajas concentraciones y aquélla sobre altas. Como ejemplo:



Normalmente la concentración de sulfato en la célula es limitante. El grado de sulfonación aumenta si se añaden sulfato inorgánico, cisteína o metionina.

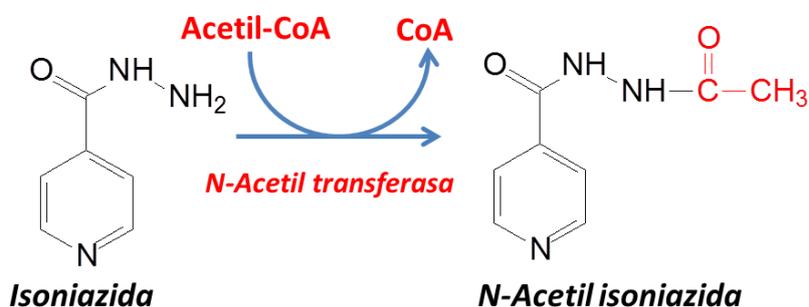
9.3.3 Acetilación

La molécula donadora de grupos acetilo es Acetil-CoA. Las enzimas que intervienen se conocen como N-acetiltransferasas (NAT, EC 2.3.1.x), presentes en el citosol (figura 9.6). Los sitios reactivos son normalmente: -NH₂, -SO₂NH₂, -OH. Los sustratos preferentes son aminas.



La acetilación normalmente resulta en el enmascaramiento de un grupo amino con un acetilo no ionizable, lo que reduce la hidrosolubilidad del conjugado.

En el organismo humano hay dos enzimas, NAT1 y NAT2, y ambas presentan una gran cantidad de polimorfismos genéticos. Así, en la población humana distinguimos acetiladores rápidos y lentos en base a la velocidad de acetilación de isoniazida*. Los lentos derivan de polimorfismos en NAT2, y son proclives a toxicidad por isoniazida* y dapsona*. La reacción es:



Esta enzima también acetila colorantes arilamina como bencidina, 4-aminobifenilo y o-toluidina.

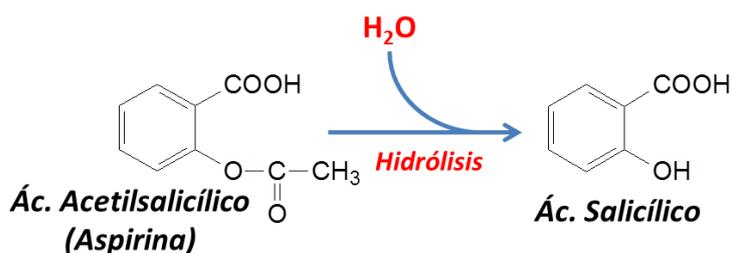
9.3.4 Conjugación a aminoácidos (glicina)

Requiere la activación inicial del xenobiótico a derivado acil-CoA que reaccionará a continuación con el aminoácido (AcilCoA: glicina aciltransferasa, EC 2.3.1.192). El aminoácido más frecuente es glicina, pero también pueden actuar taurina y glutamina.

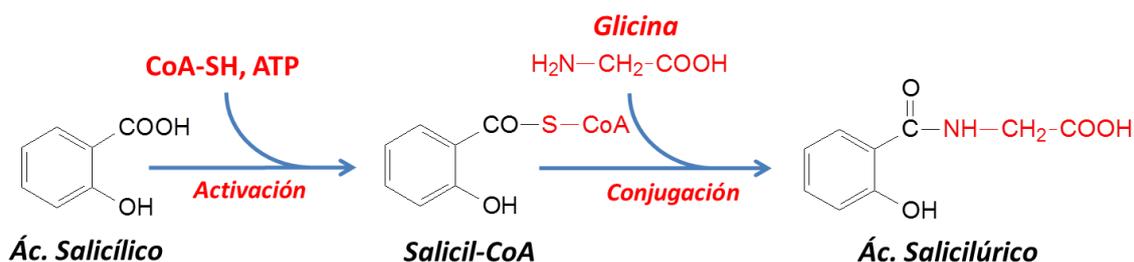
Las enzimas implicadas son: Acil-CoA: glicina transferasa (citósol). La reacción tiene lugar sobre xenobióticos con grupos carboxilo -COOH; Los substratos son derivados -CoA de dichos ácidos carboxílicos.

Tenemos un importante ejemplo en la biotransformación de aspirina* (ácido acetilsalicílico):

En primer lugar, es hidrolizada a ácido salicílico:



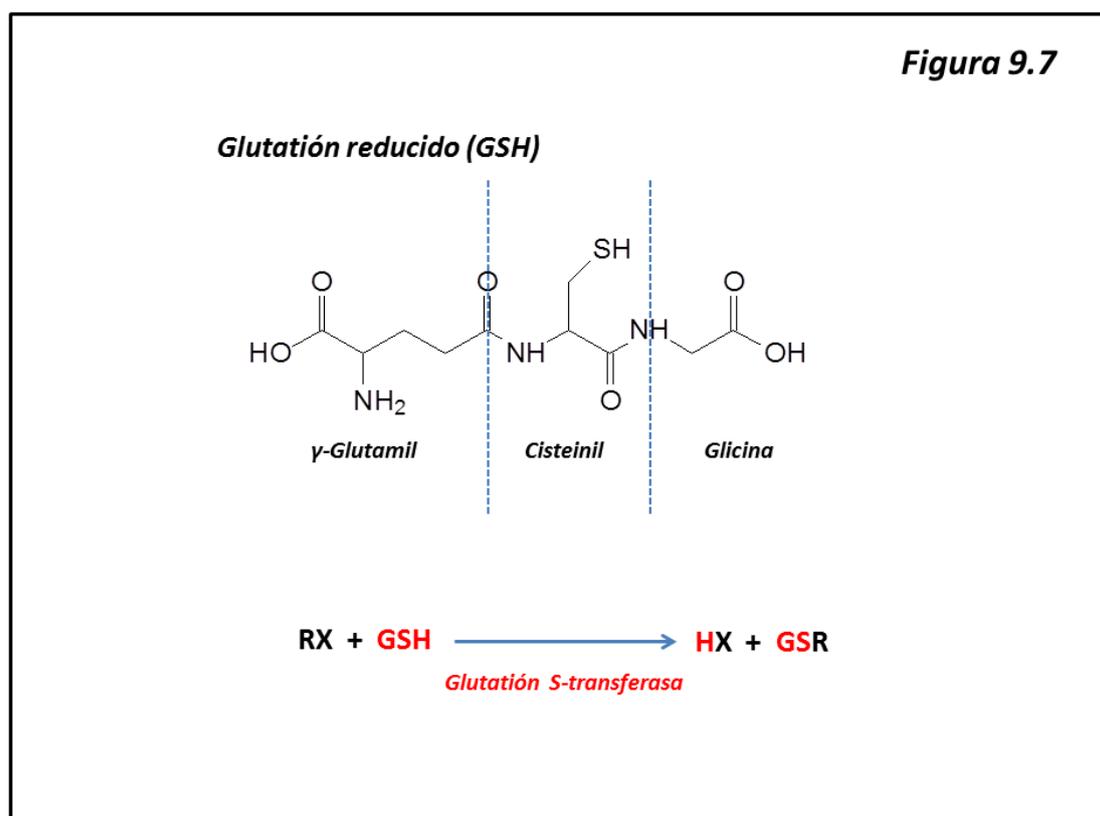
a continuación, el ácido salicílico es activado por CoA y ATP para dar salicil-CoA, que se transfiere entonces a glicina para dar ácido salicílico:



Esta ruta supone el 75 % del metabolismo de la aspirina. Otras vías de biotransformación son la formación de acil-glucurónido y fenol-glucurónido, así como los hidroxiderivados en el ciclo, ácido gentísico y su conjugado de glicina, ácido gentisúrico.

9.3.5 Conjugación a glutatión

La enzima glutatión S-transferasa (GST, EC 2.5.1.18, citosólica) utiliza como dador glutatión reducido (GSH, γ -glutamil-cisteinil-glicina, [figura 9.7](#)).

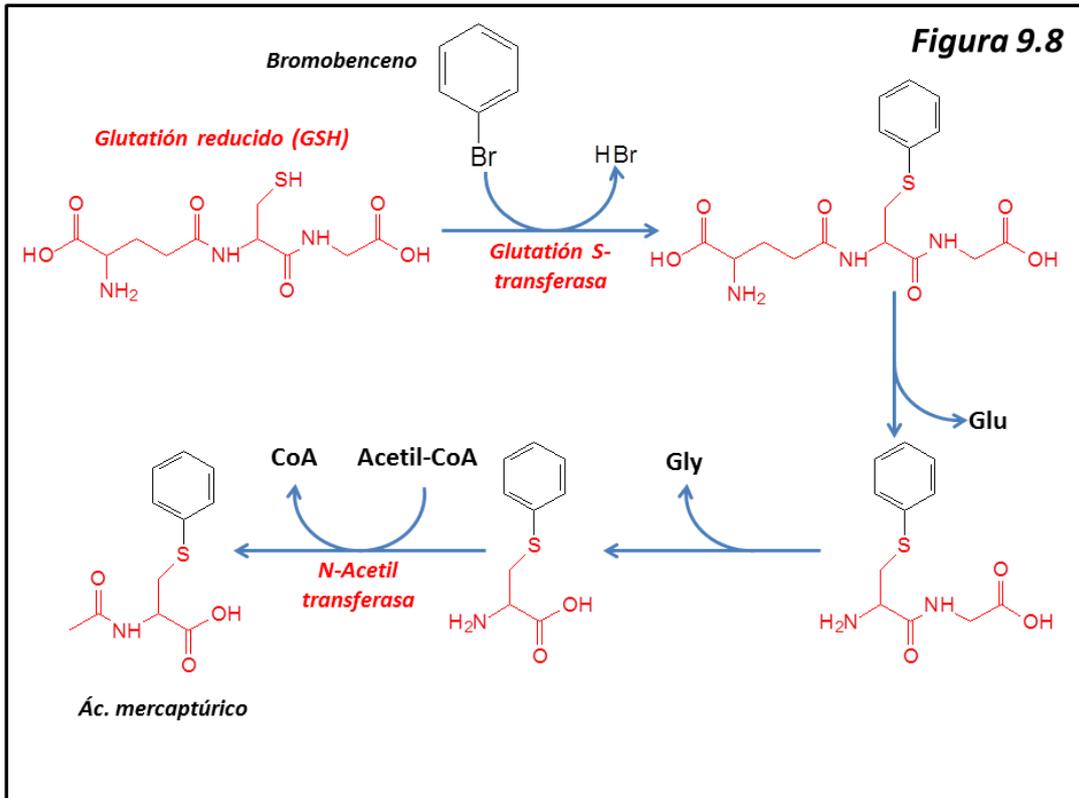


Reemplaza un grupo electrofílico del sustrato con dicho compuesto. Los grupos reactivos son epóxidos, halocompuestos, nitrocompuestos, hidroxilaminas. Se han identificado hasta 20 isoformas de GST, divididas en dos familias (microsomal y citosólica). Las microsomales actúan sobre todo con metabolitos endógenos (eicosanoides, p.e.) mientras que las citosólicas son las que operan preferentemente en el metabolismo de xenobióticos.

El producto puede ser excretado directamente, pero por lo general da lugar a un ácido mercaptúrico. Tras la conjugación a glutatión se eliminan hidrolíticamente de forma sucesiva ácido glutámico y glicina, seguida de acetilación del residuo cisteínico mediante una N-acetiltransferasa. Los conjugados N-acetilcisteinil del sustrato reciben genéricamente el nombre de **ácidos mercaptúricos**. En la [figura 9.8](#) se presenta como ejemplo la detoxificación del bromobenceno.

Es importante recordar aquí que el glutatión es una molécula importantísima para eliminar EROs (especies reactivas de oxígeno); de ahí su elevada concentración en el medio intracelular (del orden de 10 mM) así como la abundancia de las GST. Esta abundancia, por otra parte, es capaz de interferir con los tratamientos antineoplásicos. Muchos fármacos utilizados en la terapéutica anticancerosa operan induciendo apoptosis de las células. Una elevada

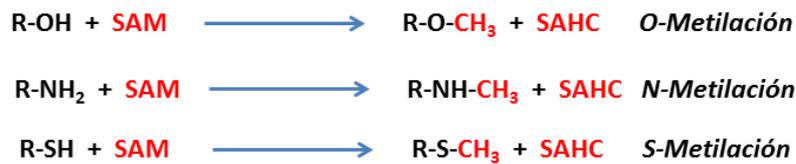
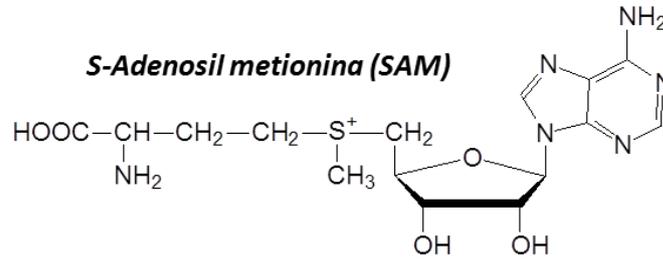
concentración de glutatión es un factor inhibitorio de la apoptosis, y por tanto, puede interferir con el efecto del fármaco en cuestión.



9.3.6 Metilación

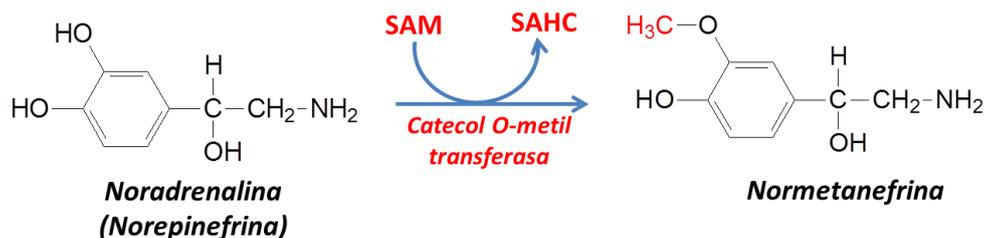
La introducción de grupos metilo también forma parte de la fase II del metabolismo de xenobióticos. Las enzimas implicadas reciben el nombre genérico de transmetilasas, de localización citosólica, y utilizan como donador la S-adenosil metionina (figura 9.9).

Figura 9.9



SAHC: *S*-Adenosil homocisteína

Así, las enzimas citosólicas catecol-O-metil transferasas (COMT; EC 2.1.1.6) y feniletanolamina N-metil transferasa (EC 2.1.1.28), aparecen implicadas en el metabolismo de neurotransmisores. Los sitios susceptibles de metilación son los grupos -OH, -SH, -NH₂, produciendo respectivamente derivados O-metilados, S-metilados y N-metilados. Los substratos pueden ser fenoles, aminas y catecolaminas. Como ejemplo tenemos la O-metilación de noradrenalina:



Otras transmetilasas son la fenol O-metil transferasa (POMT), tiopurina S-metil transferasa (TPMT), tiol metiltransferasa (TMT) y nicotinamida N-metil transferasa (NNMT)

La metilación es un procedimiento común pero menor del metabolismo de xenobióticos. La metilación, por lo general, reduce la hidrosolubilidad y enmascara grupos funcionales susceptibles de otros tipos de conjugación de la fase II. Sin embargo, las metilaciones que producen amonios cuaternarios o las que producen iones sulfonio cargados aumentan la solubilidad.

9.3.7 Transulfuración

Es una ruta muy limitada pero muy importante, ya que lleva a cabo la biotransformación del ion cianuro (tóxico) mediante la enzima rhodanasa (tiosulfato sulfotransferasa, EC 2.8.1.1). El ion tiosulfato reacciona con ion cianuro para dar iones tiocianato y sulfito:



9.4 Fase III del metabolismo de xenobióticos

La biotransformación ulterior de xenobióticos (tras fase I y fase II) recibe el nombre de fase III. Un ejemplo puede ser el procesado que hemos visto en los conjugados de glutatión que terminan como conjugados de acetilcisteína (ácidos mercaptúricos). Pero por lo general nos referiremos a la fase III como los mecanismos que expulsan del interior de la célula el xenobiótico modificado. El sistema mejor caracterizado es el de la **P-Glicoproteína 1** (Pgp, P por permeabilidad), ya que es responsable de ciertas resistencias a antibióticos y antineoplásicos, por lo que también es conocido como **MDR-1** (*Multidrug Resistance Protein*).

9.4.1 P-Glicoproteína 1 (Pgp)

Pertenece a la familia de transportadores ABC B1 (*ATP-binding cassette*, subfamilia B, proteína 1) y participa en el transporte de una gran cantidad de sustratos a través de la membrana celular en ambas direcciones, aunque nuestro interés en este contexto es su papel en el eflujo (expulsión) de xenobióticos desde el interior al exterior celular. Se expresa en los hepatocitos, en los epitelios intestinales, en el túbulo proximal renal y en células endoteliales responsables de la barrera hematoencefálica.

Desde el punto de vista estructural, la Pgp es un monómero con dos dominios transmembrana y otros dos dominios fijadores de ATP. Se trata de una estructura común a muchos transportadores de la misma familia que se expresan tanto en procariotas como en eucariotas.

La fijación de sustrato tiene lugar simultáneamente a la de ATP, colocándose el sustrato en la posición correcta para ser expulsado de la célula. La liberación de fosfato tiene lugar al mismo tiempo que la translocación del xenobiótico.

Reconoce sustratos catiónicos o neutros. Entre las moléculas transportadas por la Pgp encontramos colchicina*, quinidina*, doxorubicina*, vinblastina*, digoxina*, inmunosupresores y antirretrovirales VIH (inhibidores de proteasa y los inhibidores no nucleotídicos de retrotranscripción).

Entre sus funciones destacan las siguientes:

1. Regulación de distribución y biodisponibilidad de xenobióticos. La Pgp expresada en las células intestinales puede reducir la absorción intestinal de xenobióticos. Asimismo, puede reducir la concentración de antineoplásicos en células tumorales, dando lugar a resistencias al tratamiento.

2. Eliminación de metabolitos tóxicos mediante su transporte a la orina, bilis o a la luz intestinal.

3. Transporte de moléculas a nivel de la barrera hematoencefálica, impidiendo su ingreso en el sistema nervioso central.

4. Protección de las células hematopoyéticas de la médula ósea contra tóxicos.

En la actualidad, los transportadores ABC, como la Pgp, son una importante diana en los tratamientos antineoplásicos. Existen muchos tumores que son capaces de expresar esta proteína y por lo tanto se hacen resistentes a los tratamientos habituales. Aunque se han intentado muchos inhibidores de bajo peso molecular de la Pgp, no se han obtenido resultados significativos. La aproximación terapéutica más prometedora para la inhibición de la Pgp radica en el uso de RNAs de interferencia (iRNA)

9.5 Inducción enzimática

9.5.1 Generalidades

Los xenobióticos pueden influir en su propio metabolismo a través del fenómeno de inducción enzimática, consistente en el aumento de síntesis de las enzimas encargadas de su biotransformación o la de otros xenobióticos.

El fenómeno de inducción enzimática se conoce desde 1960, y fue descubierto al estudiar la dosificación en terapéuticas antiepilépticas. Un antiepiléptico muy utilizado es el fenobarbital*. Su administración prolongada determina una tolerancia que fue rápidamente interpretada al comprobar que su metabolismo, al igual que el de otros antiepilépticos (fenitoína*, valproato*, etc.) se acelera a medida que se prolonga el tratamiento, lo cual obliga a incrementar progresivamente las dosis. Esta aceleración se debe al aumento del nivel de síntesis de citocromos P-450. Con posterioridad, se ha comprobado que muchos otros xenobióticos son inductores enzimáticos, particularmente el etanol, y no sólo de CYPs, sino también de otros sistemas enzimáticos de biotransformación. Este fenómeno debe por lo tanto ser tenido en cuenta al diseñar pautas terapéuticas por posibles interacciones medicamentosas no deseadas. Hoy día el catálogo de inductores enzimáticos xenobióticos es muy amplio y sigue en aumento.

La acción inductora se ejerce a nivel de transcripción genética, mediante la interacción del xenobiótico con “receptores xenobióticos” o “xenosensores”. Estos receptores incluyen miembros de la superfamilia de receptores nucleares, como CAR (receptor constitutivo de androstano), PXR (receptor pregnano X), PPAR (receptores peroxisomales activados por proliferación) y AHR (receptor de aril hidrocarburos). Como ejemplos, podemos ver que fenobarbital* actúa a través de CAR; rifampicina*, mediante PXR; clofibrato*, por PPAR; y las dioxinas* y omeprazol*, por AHR. La tabla I muestra alguno de estos receptores.

Tabla I

Receptores nucleares implicados en la inducción enzimática por xenobióticos

RECEPTOR	INDUCTORES
----------	------------

Receptor de aril hidrocarburos (AHR)	Dioxinas*, Omeprazol*
Receptor constitutivo de androstano (CAR)	Fenobarbital*
Receptor pregnano-X (PXR)	Rifampicina*
Receptor farnesoide X (FXR)	Ácidos biliares
Receptor de vitamina D	Vitamina D
Receptor peroxisomal de proliferación (PPAR)	Fibratos (p.e., clofibrato*)
Receptor de ácido retinoico (RAR)	Ácido <i>todo-trans</i> retinoico
Receptor retinoide-X (RXR)	Ácido <i>9-cis</i> retinoico

En general, hay tres dominios funcionales en los receptores: (1) Fijación de ligando/dimerización; (2) fijación a DNA y (3) transactivación. El dominio de fijación a ligando es donde el xenobiótico se une al receptor, lo que resulta en un cambio conformacional del mismo. Muchos receptores nucleares requieren heterodimerización con el receptor retinoide-X RXR. El dominio de fijación a DNA reconoce la secuencia específica del correspondiente elemento de respuesta en el promotor del gen concreto. El dominio de transactivación dirige el reclutamiento de correguladores transcripcionales.

9.5.2 Inducción del citocromo P-450

Al igual que otros sistemas de biotransformación (incluyendo fase II y fase III), la síntesis de los distintos isotipos de citocromo P-450 es inducible por determinadas drogas y fármacos. Esto quiere decir que la administración de dichos xenobióticos induce la síntesis de los distintos CYP, lo cual acelera su biotransformación o bien la de otros xenobióticos que puedan ser administrados al mismo tiempo al organismo.

Las distintas familias de CYP responden en general a diferentes inductores. Así, CYP1 es inducido por hidrocarburos aromáticos policíclicos; CYP2B por fenobarbital*; CYP2E por etanol; CYP3, por esteroides.

Por estas razones, la expresión de los diferentes CYP difiere en gran medida de un individuo a otro, dependiendo de hábitos dietarios o de exposición ambiental, así como de los diversos polimorfismos que se encuentran en las moléculas de los CYP individuales. Esto hace que la respuesta de los diferentes organismos ante los xenobióticos pueda ser muy diferente, así como la frecuente inadecuación de modelos animales para su estudio, dadas las variaciones interespecíficas.

Apéndice

Acetaminofeno (ver Paracetamol)

Acetaminofluoreno (AAF)

Es un compuesto mutágeno y carcinógeno derivado del fluoreno. La acción carcinogénica se debe a su derivado N-hidroxi, producida por la biotransformación mediante CYP.

Acetanilida

Tiene numerosos usos industriales (barnices, caucho, sulfonamidas, etc.) y fue utilizado antiguamente como analgésico y antipirético (Antifebrina) pero su uso terapéutico fue prohibido al demostrarse su alta toxicidad ya que produce metahemoglobinemia. Su biotransformación da lugar a paracetamol, de donde derivan sus propiedades analgésicas y antipiréticas.

Anfetamina

La amfetamina es la α -metil fenetilamina. Sus acciones se deben a que modula el efecto de ciertos neurotransmisores como dopamina, serotonina y noradrenalina en circuitos neuronales de "recompensa", de donde deriva su acción euforizante y su naturaleza muy altamente adictiva, por lo que se considera droga de abuso (*speed*). Sus acciones simpatomiméticas (taquicardia, midriasis, sequedad de boca, vasoconstricción periférica y conducta hiperactiva pueden llegar a provocar convulsiones, coma y muerte.

Aspirina

La aspirina o ácido acetilsalicílico, de dispensación libre, es un fármaco de uso universal como analgésico y antipirético debido a su acción eminentemente antiinflamatoria debida a la inhibición que ejerce sobre la ciclooxigenasa COX-1 (y en menor medida, COX-2). A través de la inhibición de la síntesis de tromboxanos, la aspirina es también un inhibidor de la agregación plaquetaria, teniendo por tanto un efecto anticoagulante. Su principal efecto adverso ante la administración oral es el desarrollo de úlceras gastrointestinales, probablemente debidas a la inhibición que ejerce sobre la vasodilatación inducida por prostaglandinas a este nivel.

Benzopireno

Es un hidrocarburo aromático policíclico componente de carbones vegetales y humo de tabaco; se produce en grandes cantidades con la grasa que cae sobre las brasas en barbacoas y similares. Su carácter policíclico hace que el benzopireno sea un agente intercalante en el DNA, con efectos carcinógenos (en particular su epóxido, producido por CYP1A1).

Cimetidina

Se trata de un antagonista de receptores histamínicos H_2 , y su principal acción consiste en la inhibición de la secreción ácida del estómago, por lo cual se ha utilizado ampliamente en el tratamiento de las úlceras pépticas. Sus efectos adversos derivan sobre todo de que es un potente inhibidor de muchas isoformas de CYPs, especialmente de CYP3A4. Por ello inhibe el metabolismo de muchos otros fármacos, en particular gestágenos y estrógenos de síntesis utilizados como anticonceptivos, con lo cual se potencia el efecto de éstos. Interfiere también

con el metabolismo de los estrógenos. Estos inconvenientes se han eliminado con la introducción de antagonistas H₂ de acción prolongada, como la ranitidina*.

Clofibrato

Es un agente hipolipémico empleado para controlar los niveles séricos de colesterol y triacilgliceroles. Su acción consiste en aumentar la actividad lipoprotein lipasa del endotelio vascular. Los efectos secundarios del clofibrato, evidentes pero no interpretados de manera satisfactoria, han provocado su retirada del mercado farmacéutico en 2002.

Cloranfenicol

Es el prototipo de los antibióticos de amplio espectro, así llamados por la gran cantidad de agentes patógenos sensibles a su acción, tanto Gram-positivos como Gram-negativos. Su modo de acción (bacteriostático) consiste en la inhibición de la biosíntesis de proteínas a través de su fijación a la subunidad ribosómica 50s, impidiendo la formación de enlace peptídico. Sus efectos tóxicos (ejercidos sobre la médula ósea, llegando a dar anemias aplásticas) han determinado su retirada relativa, aunque se sigue utilizando ampliamente en países del Tercer Mundo debido a su bajo coste y facilidad de síntesis.

Clorpromazina

Es el primer antipsicótico incorporado a la terapéutica (desde 1950) y su uso permitió el abandono progresivo de terapéuticas más agresivas (terapia electroconvulsiva o psicocirugía) y el comienzo de la desinstitucionalización de pacientes psiquiátricos. Es conocido por su nombre comercial **Largactil™**. Su acción se ejerce inhibiendo la acción de una gran variedad de receptores en el sistema nervioso central (colinérgicos, dopaminérgicos, histaminérgicos, adrenérgicos, etc.). Fue el fármaco de elección para el tratamiento de esquizofrenias y trastornos bipolares. Hoy día ha caído en desuso por el desarrollo de antipsicóticos más potentes y con menos efectos secundarios.

Colchicina

Es un alcaloide del cólchico (*Colchicum autumnale*, conocido popularmente como “quitameriendas”) que fue durante mucho tiempo utilizado en el tratamiento de la gota úrica. Su acción consiste en inhibir la polimerización de microtúbulos por su fijación a tubulina, lo que resulta en la interrupción de la mitosis en metafase por su acción sobre el huso mitótico. Su principal uso hoy en día se circunscribe a la detención de la mitosis para estudiar el cariotipo celular.

Dapsona

Es un agente antibacteriano cuyo principal uso, en combinación con rifampicina* y otros fármacos, radica en el tratamiento de la lepra, aunque también se ha utilizado en la neumonía por *Pneumocystis* (secuela del SIDA), en la malaria y en el acné juvenil. Su modo de acción consiste en la inhibición de la síntesis de ácido fólico en bacterias al competir con el ácido 4-aminobenzoico (el mismo mecanismo que las sulfonamidas*). Tiene asimismo propiedades antiinflamatorias, a través de la inhibición de la mieloperoxidasa. Su principal efecto adverso consiste en metahemoglobinemia y hemólisis.

Dextrometorfano

Es un derivado opiáceo no adictivo que se emplea muy ampliamente como antitusivo, debido a su acción depresora sobre el centro respiratorio bulbar, al igual que el resto de los opiáceos,

careciendo sin embargo de efectos analgésicos o adictivos. En dosis muy altas tiene efectos alucinógenos a través de la inhibición de recaptación de serotonina.

Diazepam

Más conocido entre nosotros por su nombre comercial **Valium™**, es el prototipo de los fármacos conocidos como benzodiazepinas, utilizadas en el tratamiento de ansiedad, insomnio, convulsiones, espasmos musculares, etc. Administrado crónicamente puede llegar a ser adictivo. Su acción consiste en la potenciación del efecto del neurotransmisor inhibitorio GABA (ácido γ -aminobutírico) en el sistema nervioso central, por fijación agonística a sus receptores, lo que explica sus efectos depresores sobre el mismo.

Digoxina

Es un glicósido cardiotónico digitálico (extraído de *Digitalis purpurea* o *Digitalis lanata*, conocidas popularmente como “dedalera”) que se emplea en el tratamiento de diversas afecciones cardíacas como fibrilación y *flutter* atrial, así como la insuficiencia cardíaca. Su acción consiste en la fijación a la subunidad α de la bomba Na^+/K^+ en las membranas de los miocitos cardíacos, provocando un exceso de Na^+ en el medio intracelular, lo que a su vez lleva a un aumento del Ca^{2+} libre intracelular, favoreciendo así la contracción muscular. Sus efectos sobre el sistema de conducción eléctrica cardíaca llevan al principal efecto adverso de los digitálicos, que es el desarrollo de arritmias.

Dioxinas

Son productos secundarios industriales altamente tóxicos, y constituyen una importante amenaza medioambiental, entre otras razones, por su persistencia y prácticamente nula biodegradabilidad. Su acción esta mediada por la activación del receptor AHR (ver sección 9.5.1) que estimula la transcripción de un gran número de genes. Entre sus efectos podemos citar inmunotoxicidad, efectos endocrinos (sobre todo tiroideos y estrogénicos), carcinogénicos y mutagénicos. Aunque susceptibles de biotransformación, las dioxinas son metabolizadas muy lentamente con lo que es muy larga su vida media en el organismo (7-8 años), acumulándose en el tejido adiposo. Las principales fuentes de dioxinas son los alimentos grasos de origen animal.

Doxorrubicina

Se trata de un antibiótico antraciclínico utilizado en la quimioterapia antineoplásica, más conocido por su nombre comercial **Adriamicina™**. Su modo de acción es el de actuar como agente intercalante sobre la molécula de DNA, impidiendo de este modo la acción de la topoisomerasa II e inhibiendo en consecuencia los procesos de replicación y transcripción. Se encuentra indicado en neoplasias hematológicas y linfáticas, determinados carcinomas y sarcomas de tejidos blandos. Existen formulaciones de doxorrubicina en forma encapsulada (con liposomas) al objeto de lograr una mayor selectividad en las células diana. En cuanto a sus efectos adversos, tenemos en primer lugar los propios de la quimioterapia antineoplásica (neutropenia, alopecia, trastornos digestivos) y además una marcada cardiotoxicidad que puede llevar a la muerte del paciente.

Enalapril

Es un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (ECA, EC 3.) que impide por tanto la producción de angiotensina II (el vasoconstrictor endógeno más potente que se conoce) a partir de angiotensina I (que no tiene acción vasopresora) y por tanto se emplea en el tratamiento de la hipertensión arterial. En realidad, el principio activo es el producto de

hidrólisis del enalapril, conocido como enalaprilat, producido por una hidrólisis mediada por carboxipeptidasas. Actúa como análogo de estado de transición de la enzima (al igual que el Captopril, ver Enzimología, cap. 6), fijándose a ésta con una enorme afinidad e impidiendo por tanto su acción hidrolítica. Su principal efecto adverso es la hipotensión ortostática (sensación de mareo al ponerse el paciente en pie).

Encainida

Es un fármaco antiarrítmico de la clase I (bloqueantes del canal de sodio) que fue retirado de uso por sus efectos adversos sobre el sistema de conducción cardíaca.

Eritromicina

Se trata de un antibiótico macrólido, así llamado por presentar una estructura cíclica grande, de 14 átomos. Tiene acción bacteriostática (inhibidora del crecimiento bacteriano) y un espectro de acción parecido al de la penicilina. Actúa a través de su fijación a la subunidad 50s del ribosoma, impidiendo la formación de enlace peptídico y la translocación, con lo que queda inhibida la síntesis de proteína. Su principal efecto adverso consiste en la inhibición del CYP3A4, con lo cual interfiere con la administración de muchos otros fármacos. Se emplea sobre todo en los casos de alergia a los antibióticos β -lactámicos.

Fenitoína

Es un fármaco ampliamente utilizado en el tratamiento de la epilepsia, y más conocido por su nombre comercial **Dilantina™**. Actúa reduciendo la conductancia eléctrica entre células nerviosas a través de un bloqueo de los canales de sodio controlados por voltaje. Tiene varios efectos adversos en el sistema nervioso (donde puede llegar a acumularse) y es teratógeno; a pesar de ello, se utiliza muy frecuentemente como primera elección en el tratamiento de ataques epilépticos.

Fenobarbital

Es un barbiturato con propiedades hipnóticas y sedantes, que fue comercializado en principio con el nombre de **Luminal™**. Su empleo como hipnótico ha sido superado por el uso de benzodiazepinas (ver Diazepam*), pero es en la actualidad el fármaco más comúnmente empleado en el tratamiento de la epilepsia. Como todos los barbituratos, actúa como depresor del sistema nervioso central, en forma dosis-dependiente que va desde la sedación suave hasta la anestesia general o incluso la muerte. Sus principales efectos adversos derivan de esta capacidad depresora del sistema nervioso.

Fluorouracilo (5-)

Es un análogo de timina (5-metiluracilo) que opera como inhibidor suicida de la timidilato sintasa, y como tal, inhibe la síntesis de DNA, de donde deriva su principal aplicación como agente antineoplásico. Presenta los mismos efectos adversos que otros fármacos antineoplásicos: hematológicos (neutropenia, pancitopenia), dermatológicos (alopecia) y digestivos (náuseas, vómitos, diarrea, etc.) al actuar sobre aquellas células que experimentan una proliferación rápida (células hematopoyéticas, piel, mucosa intestinal).

Imipramina

Es el prototipo de los antidepresivos tricíclicos, utilizado frecuentemente en el tratamiento de la depresión y de la enuresis nocturna. Es más conocido por su nombre comercial **Tofranil™**. Su acción se ejerce sobre una gran variedad de sistemas de neurotransmisión a través del bloqueo de la recaptación sináptica de neurotransmisores (serotonina, noradrenalina,

dopamina) o de su acción anticolinérgica, con una acción muy moderada sobre algunos receptores opioides. Sus efectos adversos son de tipo neurológico (sensación de mareo), cardiovascular (hipotensión ortostática, taquicardia), renal (retención urinaria) y hematológico (leucopenia y trombocitopenia).

Isoniazida

La isoniazida o hidrazida isonicotínica constituye el principal fármaco de uso en la prevención y tratamiento de la tuberculosis. En la célula bacteriana es transformado a un derivado oxigenado e incorporado a la molécula de NAD⁺ dando lugar a un análogo que inhibe el proceso de síntesis de ácidos grasos, entre ellos el ácido micólico, un compuesto fundamental en la síntesis de las cubiertas celulares de las mycobacterias. Sus efectos adversos van desde las erupciones cutáneas a manifestaciones hematológicas, que pueden controlarse con la administración concomitante de piridoxol (vitamina B₆). Puede tener interacciones con ciertos fármacos como fenitoína*.

Meperidina

También conocida como petidina, es un analgésico opioide sintético indicado en el tratamiento del dolor moderado o severo, con acciones similares a la morfina, aunque más rápidas. Más conocida en nuestro medio por su nombre comercial de **Dolantina™**. Al igual que otros opioides, puede desarrollar adicción, aunque se cree que en menor medida que otros. Su acción tiene lugar como agonista de los receptores opioides μ . Como efectos adversos, podemos citar los de todos los opiáceos: náuseas, vómitos, sedación del SNC y depresión respiratoria. Interacciona de forma peligrosa con los inhibidores de la monoaminoxidasa (IMAO)

Mercaptopurina (6-)

Se trata de un análogo de adenina (6-aminopurina) que interfiere la síntesis de nucleótidos purínicos y su metabolismo, y por tanto, la síntesis de ácidos nucleicos. Se emplea en el tratamiento de neoplasias hematológicas y linfoides, así como en la policitemia vera, artritis psoriática, enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa. Sus efectos indeseables son los propios de este tipo de agentes: hematológicos (leucopenia, pancitopenia), dermatológicos (alopecia) y digestivos (diarrea, náuseas, vómitos). Interfiere con allopurinol (medicación del tratamiento de la gota úrica) dado que este fármaco inhibe a la xantina oxidasa, dando lugar a un incremento de los efectos adversos de la 6-mercaptopurina.

Metirapona

Es un agente que inhibe la esteroide-11 β -hidroxilasa, impidiendo la síntesis de cortisol. Esta inhibición estimula producción hipofisaria de ACTH, por lo cual este fármaco se emplea en el diagnóstico de trastornos del eje hipofiso-adrenal.

Omeprazol

Es un inhibidor de la bomba protónica gástrica, muy utilizado en el tratamiento de dispepsias, úlceras gastroduodenales y reflujo gastroesofágico. Su modo de acción consiste en la inhibición de la H⁺/K⁺ ATPasa en las células parietales (oxínticas) de la mucosa gástrica, y por tanto, suprimiendo la secreción ácida. Es inhibidor competitivo de varios CYPs, interfiriendo en el metabolismo de otros fármacos, como diazepam*, cuyos niveles se ven incrementados ante la administración conjunta con omeprazol. Asimismo interfiere con fármacos que necesiten un pH ácido gástrico para su absorción; o al contrario, incrementa la absorción de aquéllos que sean sensibles a pH ácido, como la eritromicina*.

Paracetamol

También conocido como **acetaminofeno**, es un analgésico y antipirético ampliamente utilizado y de dispensación libre, y que carece de los efectos adversos de la aspirina y otros analgésicos similares. No se conoce con detalle suficiente su modo de acción; se cree que se trata de una inhibición de la ciclooxigenasa COX-2 (y por tanto, de la síntesis de eicosanoides), pero también se postula la acción de sus metabolitos sobre receptores de las vías espinales del dolor. Un derivado del paracetamol, AM404 (acilado con ácido araquidónico) inhibe la recaptación de endocannabinoides endógenos como la anandamida, potenciando por tanto la acción de éstos.

Parathion

Es un compuesto organofosfórico que se emplea ampliamente como insecticida. Es altamente tóxico para todos los organismos y constituye un importante contaminante ambiental. Su modo de acción consiste en la inhibición de la acetilcolinesterasa (y de muchas otras serinenzimas), tras sufrir biotransformación a paraoxon (ver sección 9.2.1.2, 10).

Quinidina

Es un fármaco antiarrítmico de clase I, que actúa por bloqueo del canal de sodio en el potencial de acción cardíaco. Químicamente es un estereoisómero de la quinina. Es inhibidor del CYP2D6, con lo cual puede causar interacciones con otros fármacos, como otros antiarrítmicos, bloqueantes β -adrenérgicos, opiáceos y antidepresivos tricíclicos.

Ranitidina

Es un antagonista de los receptores histamínicos H_2 que inhibe la secreción gástrica, por lo que se utiliza en el tratamiento de úlcera péptica y del reflujo gastroesofágico, siendo su modo de acción más lento y con menos efectos secundarios que su análogo cimetidina*. Es más conocido por su nombre comercial **Zantac™**, y es de prescripción libre en muchos países. Como todos los fármacos similares, al reducir la secreción gástrica disminuye la producción de factor intrínseco, lo que puede dar lugar a una absorción reducida de vitamina B₁₂.

Rifampicina

Es un antibiótico que inhibe a la RNA polimerasa DNA-dependiente bacteriana, y es un fármaco de elección en el tratamiento de infecciones mycobacterianas, como tuberculosis y lepra. Su principal efecto adverso es la hepatotoxicidad, lo que obliga a controlar la función hepática en los tratamientos con este antibiótico. Induce la síntesis de CYP2C9 y CYP3A4, con lo cual interfiere con diversos tratamientos, en particular con los anticonceptivos orales, pudiendo llegar a provocar embarazos no deseados.

Sulfonamidas

Las sulfonamidas fueron los primeros agentes quimioterápicos antibacterianos introducidos en la terapéutica. Es una familia de compuestos bacteriostáticos, también conocidos como sulfamidas, y que han dado lugar a otras familias de medicamentos, como las sulfonilureas (antidiabéticos orales) y los diuréticos tiazídicos. Actúan como inhibidores de la síntesis de ácido fólico en bacterias (el ácido fólico no es sintetizable por el organismo humano) por su analogía estructural con el ácido 4-aminobenzoico. Su principal inconveniente es el desarrollo de reacciones alérgicas (síndrome de Stevens-Johnson y síndrome de Lyell).

Tolbutamida

Es el prototipo de antidiabéticos orales, muy utilizados en el tratamiento de la diabetes tipo II (no tienen efecto en la diabetes tipo I) al promover la secreción de insulina por parte de las células insulares del páncreas. Es una sulfonilurea y está cayendo en desuso por el desarrollo de antidiabéticos orales más efectivos. Su modo de acción consiste en promover la secreción de insulina al bloquear los canales de K^+ de las células β del islote de Langerhans. Este bloqueo causa una disminución del potencial electronegativo intracelular (despolarización) que abre canales dependientes de Ca^{2+} lo que conduce a la secreción de insulina.

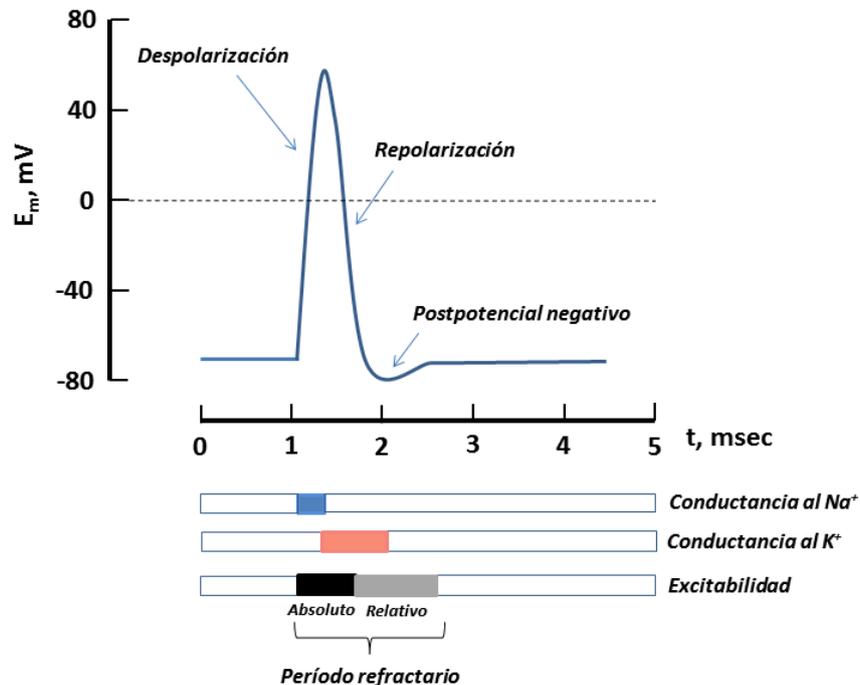
Valproato

Valproato es el anión del ácido valproico. Se utiliza como anticonvulsivante en procesos epilépticos. Su modo de acción consiste en la potenciación de la neurotransmisión por GABA (γ -aminobutirato) a través de la inhibición de la GABA transaminasa, el principal modo de inactivación de dicho neurotransmisor. Se utiliza también en el tratamiento de trastornos bipolares y en la profilaxis de la migraña. Se ha demostrado recientemente que inhibe a la histona desacetilasa, una enzima necesaria para mantener la latencia de la infección por VIH. Su principal inconveniente radica en su carácter teratogénico, en particular por la producción de espina bífida y otros trastornos que posiblemente pueden ser prevenidos mediante dosis elevadas de ácido fólico; se ha demostrado que el valproato es un antagonista del ácido fólico. Otra consecuencia de la ingesta de valproato durante el embarazo puede ser el autismo. Igualmente, el valproato puede producir hepatotoxicidad. Su acción inhibitoria sobre la epóxido hidrolasa produce varias interacciones medicamentosas indeseables.

Vinblastina

Es un alcaloide obtenido de *Vinca rosea*, utilizado en la quimioterapia antineoplásica, al igual que su análogo vincristina. Su modo de acción consiste en la fijación a tubulina, impidiendo la formación normal de microtúbulos e impidiendo así la mitosis celular.

CAPÍTULO 10: Metabolismo de Iones Inorgánicos



10.1 Generalidades

10.1.1 Introducción

Podemos considerar a la célula viviente, en general, como una solución acuosa compartimentada por membranas lipídicas. Los organismos pluricelulares, por su parte, son compartimentos acuosos delimitados por (a) membranas lipídicas o (b) epitelios. El hecho fundamental es que una gran parte del metabolismo tiene lugar en una fase acuosa. Las especiales propiedades del agua (ver Biomoléculas, Introducción) hacen que muchos elementos que forman parte de las estructuras vivientes se presenten como iones con carga eléctrica, bien positiva (**cationes**) o bien negativa (**aniones**). En principio, la composición iónica de los medios biológicos refleja la composición del océano primordial a partir del cual tuvo lugar la evolución de los sistemas de información genética (el medio intracelular) o el

desarrollo de la estructura celular (el medio extracelular). La composición iónica de ambos medios es bastante distinta (ver tabla I) en el ser humano, al que tomamos como representativo de las formas animales pluricelulares.

Tabla I

Composición iónica de los medios corporales humanos (mmoles.L⁻¹)

Iones	Medio Extracelular	Medio Intracelular
Na ⁺	145	10
K ⁺	4	160
Ca ²⁺	5	2*
Mg ²⁺	2	26
Cl ⁻	114	3
HCO ₃ ⁻	31	10
PO ₄ H ²⁻ /PO ₄ H ₂ ⁻	2	100
SO ₄ ²⁻	1	20

(*) Esta concentración del ion calcio representa sobre todo el calcio secuestrado en vesículas del retículo endoplásmico. En realidad, la concentración citoplásmica de calcio iónico en condiciones de reposo celular es muchísimo menor (de 0.2 a 2 μmoles.L⁻¹).

A la cual deberíamos añadir una concentración de iones H⁺ (más propiamente, de iones H₃O⁺) en el entorno de 10⁻⁷ moles.L⁻¹ (pH 7), es decir, la neutralidad ácido base (para el medio extracelular humano, pH 7.4). Las cifras que se presentan son representativas de los animales pluricelulares. En las formas unicelulares de vida, podemos considerar que no varían mucho las cifras para el medio intracelular (lo cual puede también decirse de otros seres pluricelulares, como plantas u hongos), mientras que el extracelular está sometido a enormes variaciones; desde formas que viven en agua dulce hasta células capaces de vivir en salmueras (halófilos) de alta concentración salina o en medios extremadamente ácidos (pH cercano a 0) o alcalinos (pH 14). El hecho significativo radica en la **asimetría** entre la composición del medio intracelular y la del medio extracelular, sea el que fuere. En ese sentido, podemos decir que el metabolismo de estos iones está en principio dirigido al mantenimiento de la composición iónica relativamente constante del medio intracelular; y es obvio que las pautas metabólicas estarán determinadas conforme a la variedad que encontramos en el medio extracelular.

En los animales pluricelulares, la composición iónica del medio intracelular está en gran parte determinada por la del medio extracelular o **medio interno** (atención a la terminología), que a su vez está separado del **medio externo** (el aire en animales terrestres y el agua en animales acuáticos); y que a diferencia de lo que ocurre en seres unicelulares, mantiene una composición extremadamente constante (incluso más que la del medio intracelular). Esta constancia del medio interno u **homeostasis** se mantiene gracias a mecanismos que se desarrollan ante todo a un nivel fisiológico y no serán objeto de estudio en el presente capítulo (se pueden consultar en textos de Fisiología).

En todas las formas de vida encontramos que gracias a esta asimetría entre los medios intra- y extracelulares existen gradientes de concentración entre ambos compartimentos; y dado que los iones presentan carga eléctrica, determinan asimismo la existencia de gradientes eléctricos que se manifiestan en diferencias de potencial, por lo que es más descriptivo hablar de **gradientes electroquímicos** (el medio intracelular, por ejemplo, es electronegativo respecto al extracelular). Estos gradientes suponen la existencia de una energía potencial que las células utilizan para multitud de funciones, desde la señalización hasta la excitabilidad. Como cualquier otra pauta metabólica, estos gradientes son un estado estacionario, y no un equilibrio (ver capítulo 2); y por tanto su mantenimiento requiere un consumo constante de

energía. Podemos apreciar la importancia de este consumo energético por el hecho de que las células invierten entre un 30 % y un 60 % de su producción energética en el mantenimiento de estos gradientes.

10.1.2 Asimetría iónica y potencial de equilibrio

Las fuerzas que mueven a los iones entre dos compartimentos separados por una barrera física (p.e., una membrana) son dos: **difusión** y **campo eléctrico**. Las fuerzas de difusión son las que mueven al ion desde el compartimento de mayor concentración al de menor. El campo eléctrico mueve a los iones en razón al signo de su carga eléctrica determinado por la ley de Coulomb. Los dos iones más significativos a este respecto en los medios biológicos son los cationes sodio (Na^+), potasio (K^+) y calcio (Ca^{2+}); y entre los aniones, el cloruro (Cl^-).

Supongamos dos compartimentos, E e I, separados por una membrana permeable a ambos iones (**figura 10.1**). En el compartimento E las concentraciones de Na^+ y K^+ son ambas de $20 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ y en el compartimento I de $10 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$. Como la membrana es permeable a ambos, los iones fluirán desde E hacia I hasta alcanzar la concentración de equilibrio de $15 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$. En este caso, han operado únicamente las fuerzas de difusión.

Supongamos ahora, partiendo de la misma situación, que la membrana es únicamente permeable al ion K^+ , siendo impermeable al Na^+ (**figura 10.2**). Dada la diferencia de concentración, el ion K^+ tenderá a ir desde E hasta I. Pero como la membrana es impermeable al Na^+ , esta tendencia determina un exceso de carga electropositiva en I, de manera que los iones K^+ encuentran ahora una fuerza eléctrica que tiende a anular su tendencia difusiva. Llega un momento en el cual el campo eléctrico contrarresta exactamente a la fuerza de difusión. El potencial eléctrico de dicho campo es lo que llamamos **potencial de equilibrio del ion K^+** , y podemos calcularlo según se indica en el apartado 10.1.3. Por lo tanto, en el caso de que exista una selectividad en la permeabilidad iónica de la membrana (en el ejemplo, impermeabilidad al Na^+), vemos que el ion permeante se distribuye asimétricamente hasta alcanzar su potencial de equilibrio, y éste será la diferencia de potencial que en ese momento exista entre los compartimentos E e I.

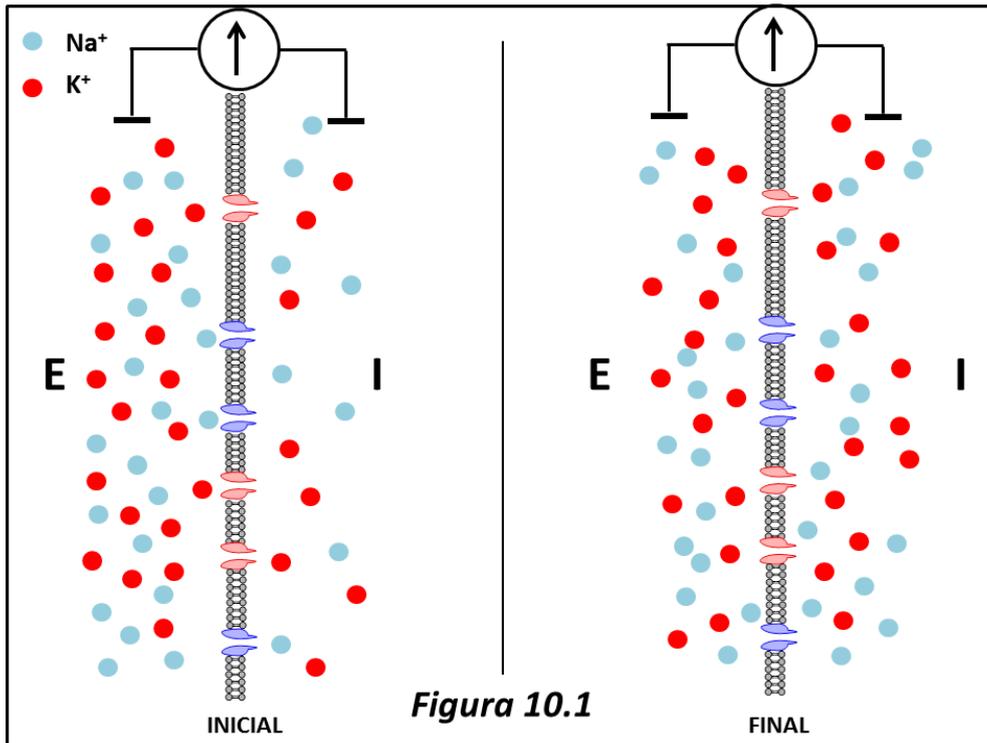


Figura 10.1

Una membrana permeable a iones Na^+ (azul) y K^+ (rojo) separa dos compartimentos E e I. Al alcanzar el equilibrio, las concentraciones de ambos iones será la misma en ambos.

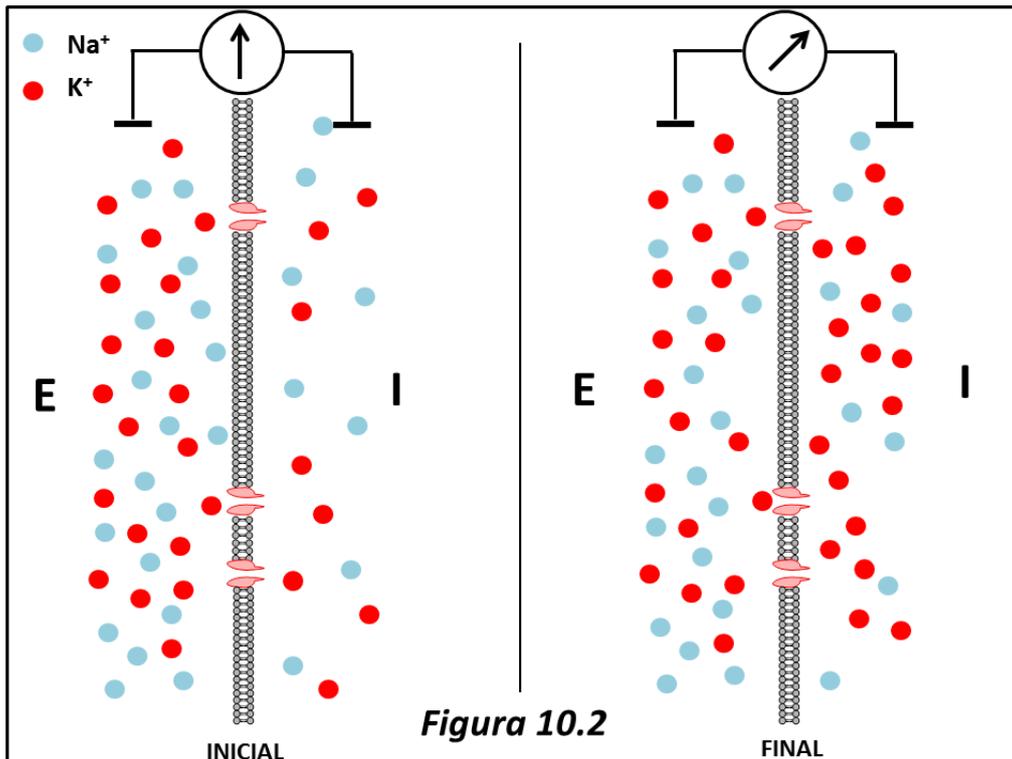
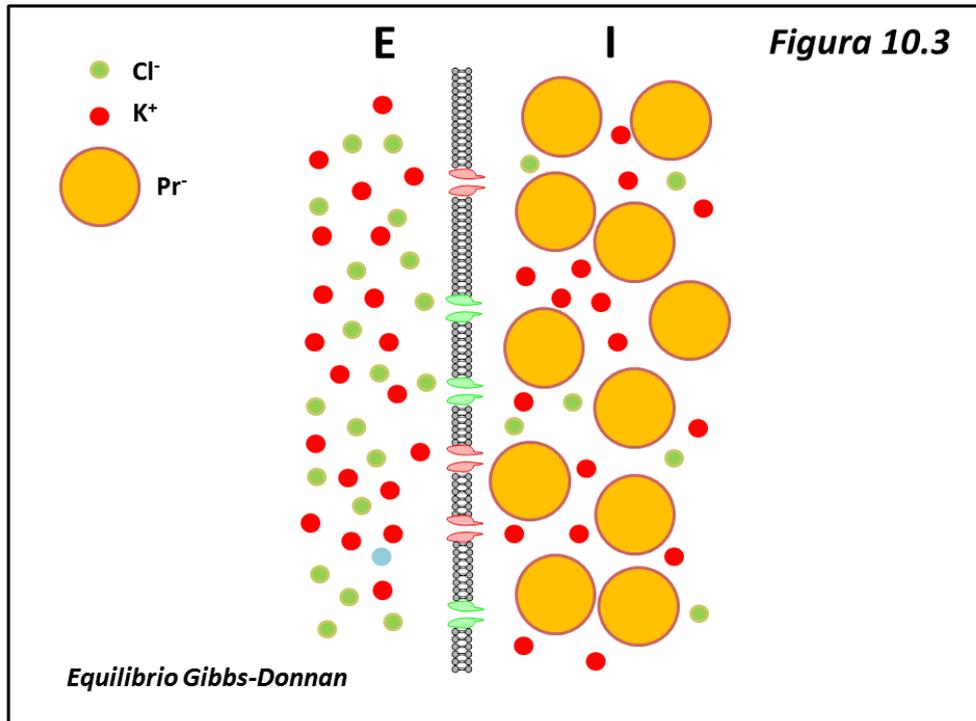


Figura 10.2

Si la membrana fuera solamente permeable al K^+ , se produciría un exceso de éste en el compartimento I. El equilibrio requiere entonces un potencial (electronegativo en E) que contrarreste su tendencia a la difusión (potencial de equilibrio)

Una causa importante en la distribución asimétrica de iones en torno a la membrana celular está causada por el llamado **efecto Gibbs-Donnan**. Este efecto tiene lugar cuando en uno de

los dos compartimentos separados por la membrana hay iones macromoleculares no permeantes (es decir, que no pueden atravesar la membrana) (figura 10.3). Es una situación que se da entre el medio intracelular (rico en proteínas no permeantes, que en su mayoría tienen carga negativa) y el medio extracelular (que a excepción del compartimento plasmático, es pobre en proteína). Igualmente, el efecto Gibbs-Donnan aparece entre el compartimento plasmático (rico en proteínas) y el medio intersticial (pobre en proteínas).



Supongamos una membrana impermeable a las proteínas (Pr^-) y permeable a los iones K^+ y Cl^- que separa los compartimentos E e I. Se supone que Pr^- sólo aparece en el compartimento I y que tiene carga neta electronegativa. Al alcanzar el equilibrio, la actividad de KCl debe ser la misma en ambos compartimentos:

$$[K^+]_E [Cl^-]_E = [K^+]_I [Cl^-]_I$$

Ahora bien, la neutralidad eléctrica exige que

$$[K^+]_E = [Cl^-]_E$$

$$[K^+]_I = [Pr^-]_I + [Cl^-]_I$$

Combinando estas dos ecuaciones con la primera se obtiene

$$\frac{[Cl^-]_E}{[Cl^-]_I} = \sqrt{1 + \frac{[Pr^-]_I}{[Cl^-]_I}}$$

De esta relación se deduce que cuando Pr^- es grande, la asimetría del anión Cl^- será también grande ($[Cl^-]_E > [Cl^-]_I$); cuando, por el contrario, Pr^- es muy pequeña, el término radical tiende a la unidad y las concentraciones en E y en I se igualan.

10.1.3 Cálculo del potencial de equilibrio

Dada una distribución asimétrica de un ion con carga eléctrica z , en torno a una membrana, el potencial de equilibrio de dicho ion es el valor del potencial eléctrico que contrarresta exactamente la tendencia difusiva del ion desde el compartimento de mayor concentración hacia el de menor. El valor del potencial de equilibrio puede ser calculado mediante la ecuación de **Nernst**:

$$E_{eq} = \frac{RT}{zF} \ln \frac{C_E}{C_I}$$

Donde E_{eq} es el potencial de equilibrio del ion considerado (V, voltios); R , la constante universal de los gases ($8.314 \text{ J.K}^{-1}.\text{mol}^{-1}$); T , la temperatura absoluta expresada en °K; z , la carga del ion con su signo; F , la constante de Faraday ($96485 \text{ J.V}^{-1}.\text{mol}^{-1}$); C_E , la concentración del ion en el compartimento E (exterior); y C_I , la concentración del mismo en el compartimento I (interior).

Aplicando esta ecuación a los valores de la tabla I, tendríamos los siguientes potenciales de equilibrio para los iones que se indican (tabla II):

Tabla II

Potenciales de equilibrio entre medios intra- y extracelular (mV)

Ion	E_{eq} , mV, 30 °C
Na ⁺	69.87
K ⁺	-96.38
Ca ²⁺	11.97*
Mg ²⁺	-33.51
Cl ⁻	-95.04

(*) Este potencial sería más positivo aún si tuviéramos en cuenta la concentración intracelular de **calcio iónico**, mucho menor que la que aparece en la tabla I (del orden μM)

El potencial medido en las células es en general electronegativo con respecto al exterior, oscilando entre -30 mV y -100 mV, con -70 mV por término medio. En ese sentido, los iones K⁺ y Cl⁻ (y en menor medida el Mg²⁺) están más cercanos al equilibrio que los demás iones (y en particular que los iones Na⁺ y Ca²⁺). Cuando debido a cualquier circunstancia, este potencial tiende a hacerse más electropositivo, decimos que estamos ante una **despolarización**; por el contrario, si el potencial tiende a hacerse más electronegativo, hablamos de **hiperpolarización** o **repolarización**. El impulso nervioso consiste en la propagación a lo largo de la célula (y en particular de su axón) de una onda consistente en una despolarización seguida de una repolarización, que conocemos con el nombre de **potencial de acción**. El potencial de acción está causado por la apertura y cierre de canales iónicos específicos (ver más abajo). Se observan asimismo potenciales de acción en las células musculares (estriadas, miocárdicas y lisas) y en células secretorias.

10.1.4 Ecuación de Goldman-Hodgkin-Katz

Estos autores derivaron una ecuación que calcula el potencial eléctrico a través de una membrana en función de las distintas permeabilidades iónicas, para un número cualquiera de iones. La ecuación para una membrana que separa iones Na⁺, K⁺ y Cl⁻ es:

$$E_m = \frac{RT}{F} \ln \left(\frac{P_{Na^+}[Na^+]_E + P_{K^+}[K^+]_E + P_{Cl^-}[Cl^-]_I}{P_{Na^+}[Na^+]_I + P_{K^+}[K^+]_I + P_{Cl^-}[Cl^-]_E} \right)$$

Donde R es la constante universal de los gases; T la temperatura absoluta; F, la constante de Faraday; P_{Na^+} , P_{K^+} y P_{Cl^-} las permeabilidades a iones sodio, potasio y cloruro respectivamente; el subíndice E alude a las concentraciones extracelulares, y el subíndice I a las intracelulares. Puede observarse que si sólo se tiene en cuenta un ion; por ejemplo, el K^+ , la ecuación entonces se reduce a

$$E_m = \frac{RT}{F} \ln \left(\frac{[K^+]_E}{[K^+]_I} \right)$$

que es la ecuación de Nernst que vimos más arriba para el potencial de equilibrio de un ion.

Esta ecuación nos permite calcular el potencial ante variaciones en la permeabilidad iónica de la membrana. Tal como veremos más adelante, el potencial de acción de las células excitables viene causado por variaciones en la permeabilidad a los iones Na^+ y K^+ a través de la apertura de **canales dependientes de voltaje**.

La causa principal de las asimetrías iónicas en torno a la membrana celular deriva de las diferentes permeabilidades a los iones. La membrana celular es una bicapa lipídica con casi nula conductancia eléctrica y supone una importante barrera de difusión para todos los iones o moléculas polares, así como a macromoléculas como las proteínas. No obstante, existen complejos supramoleculares de naturaleza proteínica integrados en la membrana, capaces de llevar iones de un lado a otro. Estos complejos son de dos tipos: **bombas iónicas** y **canales iónicos**. Su existencia y selectividad determinan las asimetrías iónicas que se observan entre el medio intracelular y el extracelular. Entre las primeras, y aunque no se trata estrictamente de bombas iónicas, estudiaremos dos **intercambiadores iónicos**, sistemas antiporte encargados de la regulación de las concentraciones iónicas a ambos lados de la membrana celular.

En ningún momento se pretende que esta exposición sea exhaustiva. Más bien se ha preferido tomar unos pocos ejemplos de sistemas relevantes en el metabolismo iónico en general. La cantidad de bombas, canales e intercambiadores conocidos hoy día en el mundo biológico hacen del todo imposible un tratamiento sistemático en una obra como la presente.

10.2 Bombas iónicas

El nombre de “bombas” que otorgamos a determinados sistemas de transporte alude a su capacidad de transportar solutos contra un gradiente de concentración o bien un gradiente eléctrico. Al tratarse de un proceso consumidor de energía, todas ellas requieren la hidrólisis de enlaces anhídrido fosfórico de alta energía, como los que presenta el nucleósido trifosfato ATP (entre los fosfatos β - γ y los fosfatos α - β). Por esa razón, los sistemas de transporte están generalmente relacionados a una actividad enzimática ATPasa (fosfohidrolasas). Veremos a continuación algunas características generales de las ATPasas de transporte y seguiremos con el estudio de algunas bombas iónicas de especial relevancia.

10.2.1 ATPasas de transporte

Son sistemas enzimáticos integrados en membrana capaces de transportar contra gradiente a determinados solutos. En este contexto, nos interesan las ATPasas encargadas de transporte iónico. Reciben su nombre por el hecho de ser capaces de catalizar la hidrólisis del fosfato y de la molécula de ATP para dar ADP al tiempo que se libera energía que es aprovechada en el transporte contra gradiente. Se consideran también ATPasas a los sistemas que catalizan el proceso contrario, es decir, la síntesis de ATP a partir de ADP y Pi aprovechando la energía potencial de un gradiente iónico (por ejemplo, el gradiente de protones establecido en torno a la membrana interna mitocondrial que lleva a cabo el proceso de fosforilación oxidativa, ver capítulo 5).

Las ATPasas de transporte se clasifican en los siguientes tipos:

1. ATPasas tipo P, que se encuentran en una gran cantidad de células tanto pro- como eucarióticas, y cuya función consiste en el transporte contra gradiente de iones. Se llaman de tipo P porque todas ellas presentan en su ciclo catalítico un intermediario fosforilado en forma de aspartil-fosfato. El prototipo es la Na^+/K^+ ATPasa, también conocida como bomba Na^+/K^+ ; a este tipo también pertenecen la Ca^{2+} -ATPasa del retículo sarcoplásmico en la célula muscular y la H^+/K^+ de la mucosa gástrica, encargada de la secreción de iones H^+ hacia la luz gástrica. Hay asimismo ATPasas tipo P encargadas de la expulsión de la célula de iones metálicos como $\text{Cu}^+/\text{Cu}^{2+}$, Ag^+ , Zn^+ , Cd^+ , Pb^{2+} , Co^{2+} , etc.

2. ATPasas tipo V, (vacuolares), que se encuentran en las vacuolas de las células eucarióticas, que catalizan el transporte de iones H^+ hacia el interior de las vacuolas. El prototipo es la bomba protonica del lisosoma, encargada de la acidificación del interior de esta organela. Se conoce un gran número de ATPasas tipo V, todas ellas encargadas de la acidificación del interior de vacuolas intracitoplásmicas. Así, además de la ya mencionada lisosomal, encontramos estos sistemas en la acidificación de las vesículas sinápticas, del acrosoma del espermatozoide, en los osteoclastos y en las células tubulares del riñón.

3. ATPasas tipo F, o ATPasas F_0F_1 , presentes en la membrana interna de mitocondrias y cloroplastos y sus derivados (crestas en la mitocondria, tilacoides en el cloroplasto, etc.) así como en la membrana plasmática bacteriana. La función de estos sistemas es en realidad la síntesis de ATP a partir de ADP y Pi aprovechando la energía potencial de un gradiente protónico generado por la actividad transportadora de electrones.

10.2.2 La bomba sodio/potasio, Na^+/K^+ -ATPasa (EC 3.6.3.9)

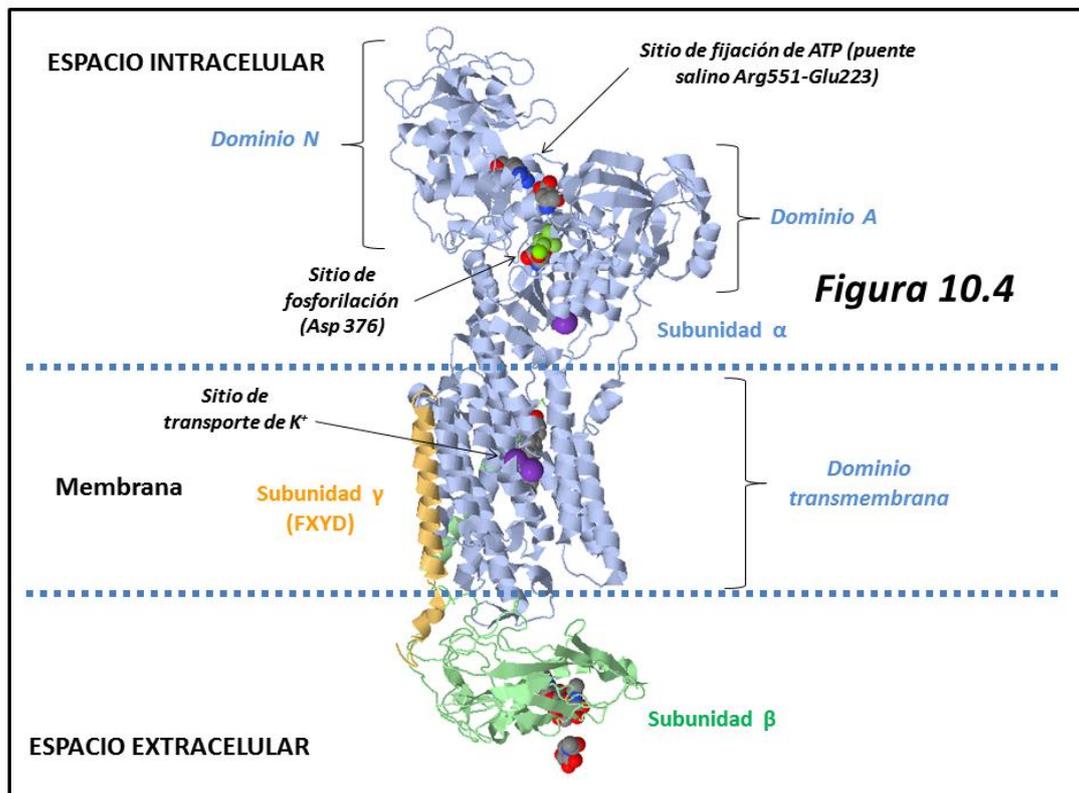
También conocida como Na^+/K^+ ATPasa (EC 3.6.3.9), es un sistema de transporte iónico muy generalizado (está presente en todas las células). Fue descrito por vez primera en 1957 por **J.C.Skou**, por lo cual recibió en 1997 el Premio Nobel de Química.

Es un transporte activo presente en la membrana plasmática que es el principal causante de la asimetría iónica entre el exterior y el interior celular, ya que mantiene una baja concentración de sodio y alta de potasio en el interior frente a la situación contraria (alto Na^+ y bajo K^+) en el exterior. La bomba transporta tres iones Na^+ desde el interior celular hacia el exterior al tiempo que dos iones K^+ son transportados en sentido inverso. En ambos casos se trata de un transporte contra gradiente y por lo tanto requiere energía en forma de ATP. El mantenimiento de esta asimetría iónica representa más de un tercio del consumo energético

total de las células (e incluso más en las células excitables como las neuronas). El hecho de que transporte hacia fuera tres iones Na^+ y hacia dentro dos iones K^+ hace que la bomba sea electrogénica, dado que produce un exceso de carga electropositiva en el exterior celular, y es uno de los principales elementos causantes del potencial de reposo de las células.

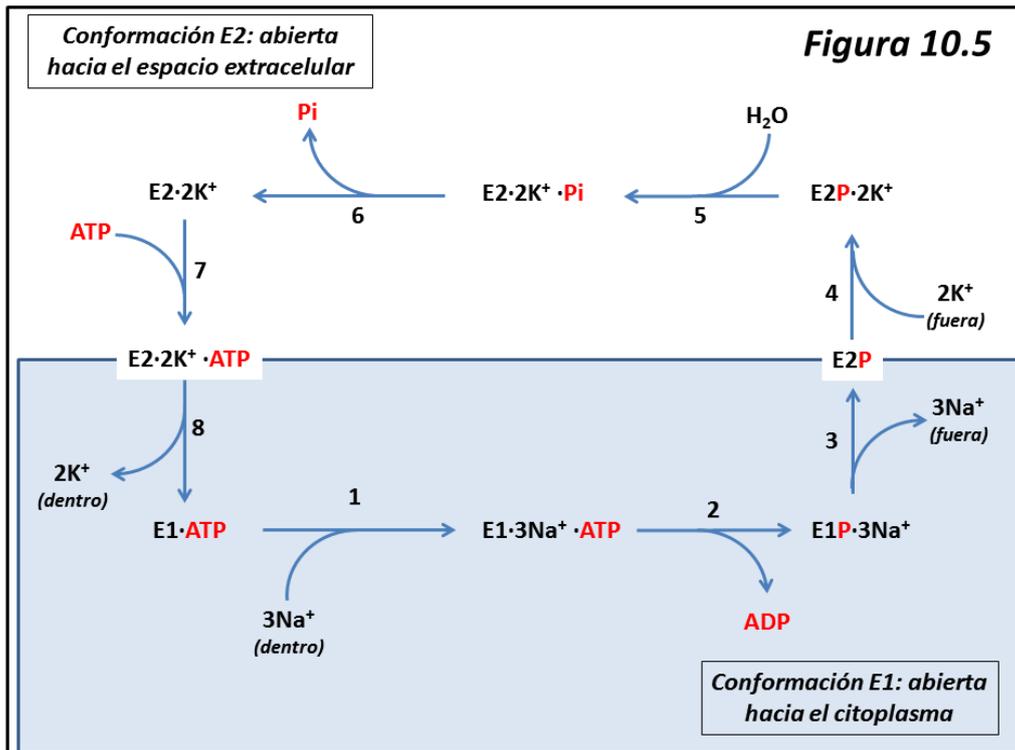
10.2.2.1 Estructura y ciclo catalítico

La bomba Na^+/K^+ es un miembro de la familia de ATPasas tipo P, que son las que presentan un intermediario fosforilado aspartil-fosfato en el ciclo catalítico; otras pertenecientes al mismo grupo son la Ca^{2+} ATPasa del retículo sarcoplásmico y la H^+/K^+ ATPasa de la mucosa gástrica. Desde el punto de vista estructural, es una proteína integral de membrana consistente en una subunidad α catalítica de unos 1100 aminoácidos que presenta diez segmentos transmembrana y una subunidad glicosilada β , de 170 residuos, con un único helicoide transmembrana, que se requiere para su estabilización (figura 10.4), además de una proteína regulatoria FXYD (a veces conocida como subunidad γ), cuya estructura es un único helicoide transmembrana. Se conocen cuatro isoformas de la subunidad α y tres de la subunidad β . Estas isoformas se expresan de manera diferente según el tejido. Por ejemplo, α_2 aparece fundamentalmente en el tejido muscular.



Las proteínas FXYD son un grupo de proteínas pequeñas expresadas de forma específica de tejido, llamadas así por el motivo secuencial constante FXYD en el dominio extracelular. Actúan como reguladoras ajustando las propiedades cinéticas de la bomba a las necesidades particulares de cada tipo celular.

Podemos considerar que el sistema existe en dos estados, denominados E1 y E2, de tal manera que E1 aparece abierto hacia el citoplasma mientras que E2 lo hace hacia el exterior celular; asimismo, el sitio de fijación de iones tiene alta afinidad por Na^+ en el estado E1 y baja por el K^+ , mientras que lo contrario ocurre en el estado E2. El ciclo consiste en (figura 10.5):



(1) Fijación de 3 iones Na^+ en el citoplasma al complejo $\text{E1}\cdot\text{ATP}$; (2) el ATP fosforila un residuo de aspartato, con liberación de ADP; (3) esta fosforilación provoca el cambio conformacional de E1 a E2 de manera que los iones Na^+ salen al exterior; (4) La enzima E2 fosforilada fija en el exterior dos iones K^+ ; (5) Una molécula de agua hidroliza el residuo aspartil-fosfato, quedando el fosfato inorgánico unido al complejo; (6) se libera el fosfato inorgánico; (7) Se une al complejo $\text{E2}\cdot 2\text{K}^+$ una molécula de ATP; (8) esta unión provoca el cambio conformacional de E2 a E1, con lo que se libera K^+ en el interior celular y el sistema queda en el estado $\text{E1}\cdot\text{ATP}$, que puede iniciar nuevamente el ciclo.

La **figura 10.4** nos muestra la estructura molecular de la bomba en el estado $\text{E2}\cdot 2\text{K}^+\cdot\text{Pi}$. No hay en realidad un transporte físico de iones de un lado a otro, sino un cambio conformacional del dominio transmembrana de la subunidad α , que queda abierto hacia el citoplasma, con alta afinidad por el Na^+ en el estado E1 y abierto hacia el espacio extracelular, con alta afinidad por el K^+ , en el estado E2. En el lado citoplásmico, la subunidad α presenta un dominio de fijación a nucleótidos (dominio N), un dominio de fosforilación (dominio P) y un dominio actuador o catalítico (dominio A) encargado del cambio de configuración de la bomba acoplado a la liberación de energía por la hidrólisis de ATP. Esta estructura es común a las ATPasas del tipo P, como la bomba de Ca^{2+} y la bomba H^+/K^+ de la mucosa gástrica (ver más abajo).

10.2.2.2 Funciones de la bomba de sodio

1. Potencial de reposo de la célula. La bomba Na^+/K^+ es el principal elemento responsable del mantenimiento del potencial de reposo celular (de -30 a -100 mV del interior respecto al exterior), aunque no el único (como hemos visto, el potencial de reposo está determinado por las permeabilidades de los distintos iones a través de la membrana, según la ec. de Goldman),

Este potencial de reposo se altera con los potenciales de acción en las células excitables (una despolarización, con inversión del potencial, seguida de una repolarización).

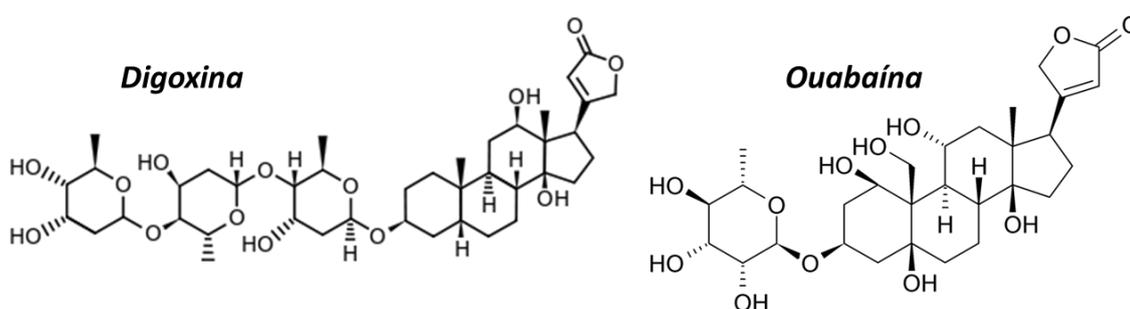
2. Transporte. Existen otros sistemas de transporte basados en la asimetría iónica creada por la bomba Na^+/K^+ . El gradiente de Na^+ que existe entre el exterior y el interior celular constituye una energía potencial que es aprovechada por otras moléculas para ser transportadas contra gradiente; el ejemplo clásico es la absorción de glucosa por las células de la mucosa intestinal. Igualmente, la absorción intestinal de aminoácidos y la reabsorción de glucosa en los túbulos renales.

3. Señalización. La bomba de sodio está también implicada en procesos de señalización intracelular, a través de la actividad **protein tirosin kinasa Src**. Ésta es inhibida por la bomba; por tanto, la inhibición de ésta por **ouabaína** (un glicósido cardiotónico, ver más abajo) da lugar a una fosforilación de proteínas que incluye la MAPK (protein kinasa activada por mitógenos), producción de EROs (especies reactivas de oxígeno) y activación de fosfolipasa C y del receptor a inositol trifosfato (IP3).

4. Control del volumen celular. El volumen celular está principalmente determinado por fuerzas osmóticas. En el interior de la célula hay iones no permeantes (preferentemente proteínas, en su mayor parte con carga electronegativa) que retienen cationes, lo que tiende a producir un exceso osmótico en el interior celular, con la consiguiente entrada de agua. La bomba Na^+/K^+ , al expulsar un exceso de cationes (tres Na^+ frente a dos K^+) contrarresta esta tendencia. En sentido contrario, dado que los iones K^+ pueden “escaparse” a través de los canales de goteo (ver más abajo) con pérdida de agua, la actividad de la bomba repone la situación basal.

10.2.2.3 Inhibición

La bomba Na^+/K^+ puede ser inhibida por los **glicósidos cardiotónicos**. Éstos son moléculas glicosídicas cuya aglicona es un esteroide, y que se obtienen a partir de diversas plantas (*Digitalis* sp., *Strophantus* sp.) e incluso de animales (sapos del género *Bufo*), como por ejemplo la **digoxina** y la **ouabaína**.



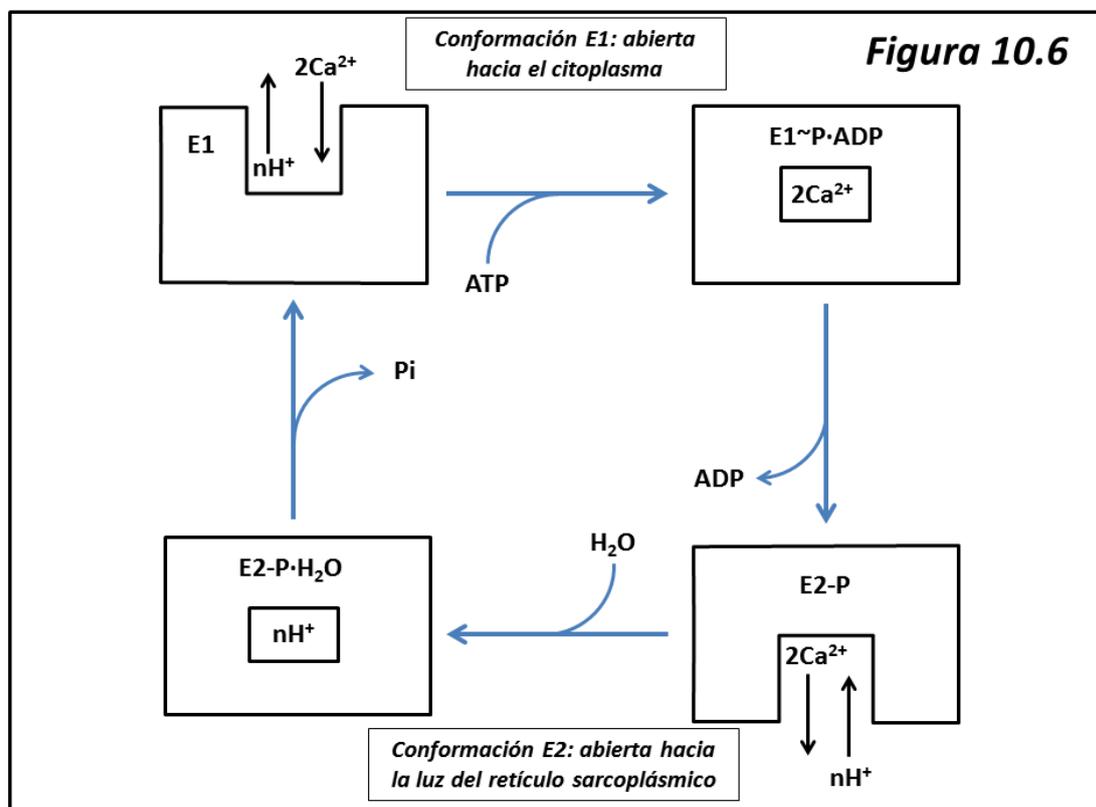
Sobre el músculo cardíaco ejercen una acción inotrópica positiva, es decir, incrementan la fuerza contráctil, por lo que su principal indicación terapéutica es la insuficiencia cardíaca. Su acción inotrópica se debe a que, al inhibir la acción de la bomba Na^+/K^+ , afectan indirectamente al intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (ver sec. 10.2.5) y a la bomba de calcio del retículo sarcoplásmico, elevándose los niveles intracelulares de Ca^{2+} , lo que favorece la contractilidad.

10.2.3 La Bomba de Calcio, Ca^{2+} -ATPasa (EC 3.6.3.8)

Una de las funciones más notables del ion Ca^{2+} es operar como señal desencadenante de multitud de funciones celulares; por ejemplo, la contracción muscular, la exocitosis de vesículas sinápticas y la activación de diversas actividades enzimáticas. En el caso del músculo, cuando la célula recibe la señal para contraerse, se liberan grandes cantidades del ion Ca^{2+} a partir de vesículas del retículo sarcoplásmico, donde se almacena durante la inactividad muscular. Para que el músculo se relaje, es necesario eliminar el Ca^{2+} liberado previamente al citoplasma y almacenarlo nuevamente en el retículo sarcoplásmico. Esta función es llevada a cabo por el sistema de transporte activo conocido como Bomba de Calcio o también Ca^{2+} -ATPasa (EC 3.6.3.8). Esta misma bomba opera en todas aquellas circunstancias en las que la célula vuelve a su estado de reposo tras una activación por Ca^{2+} . Se conocen tres tipos de Ca^{2+} -ATPasas; una propia de la membrana plasmática, otra en la membrana del retículo sarcoplásmico y una tercera en *Saccharomyces cerevisiae*. Todas ellas son ATPasas del tipo P, al igual que la Na^+/K^+ -ATPasa, que se caracterizan por presentar en su ciclo catalítico un intermediario fosforilado de alta energía aspartil-fosfato. Se trata de un antiporte que intercambia iones Ca^{2+} por protones H^+ (2 o 3); en el caso de la Ca^{2+} -ATPasa del retículo sarcoplásmico, la translocación es de dos iones Ca^{2+} por ATP hidrolizado; en las otras dos, de uno.

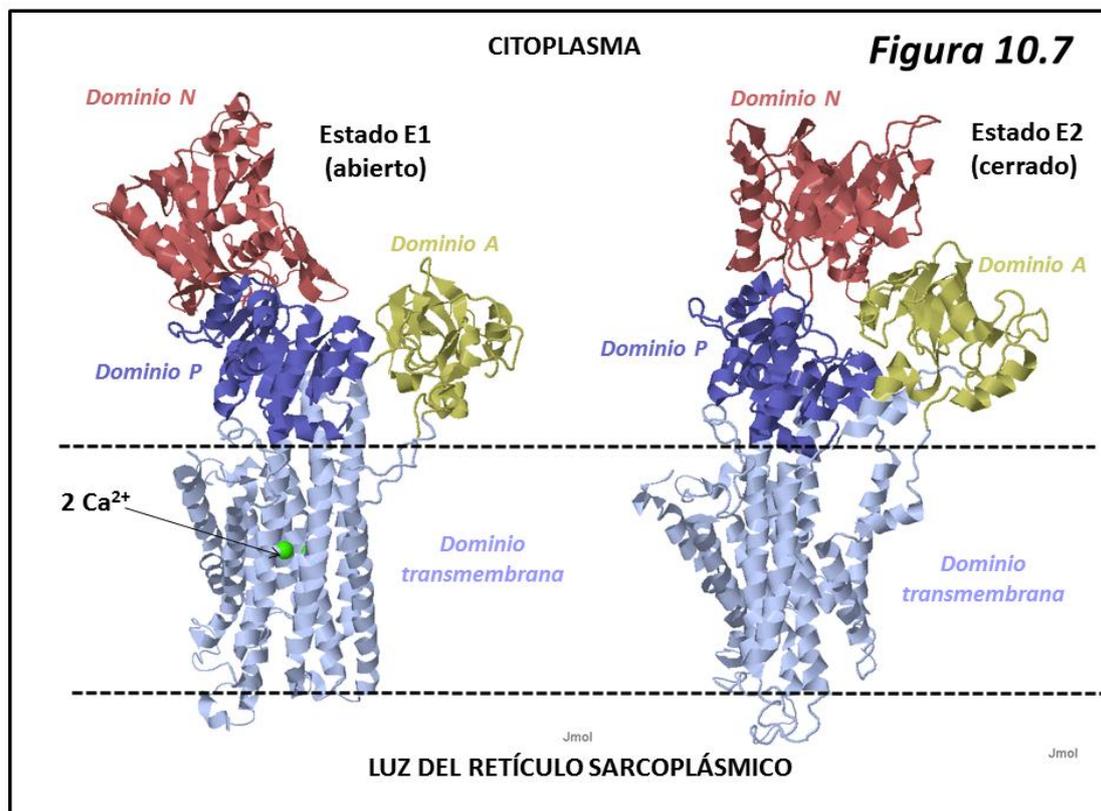
10.2.3.1 Estructura y ciclo catalítico

En la [figura 10.6](#) aparece el ciclo catalítico de la bomba de calcio del retículo sarcoplásmico.



Al igual que en el caso de la bomba de sodio, el sistema pasa por dos estados distintos E1 y E2, estando E1 abierto hacia el citoplasma y E2 hacia la luz de la vesícula del retículo sarcoplásmico o al espacio extracelular. En la conformación E1 dos iones Ca^{2+} se fijan a un sitio específico situado en las hélices transmembrana. En este estado, ATP se fija al dominio N y fosforila a un residuo de aspartato presente en el dominio P, dando lugar a un intermediario aspartil-fosfato de alta energía de hidrólisis, momento en el cual los dos iones Ca^{2+} quedan ocluidos en la estructura de la bomba (complejo $\text{E1}\sim\text{P}\cdot\text{ADP}$). A continuación se libera ADP y el enlace fosfato pasa a ser de baja energía, al tiempo que cambia la configuración de E1 a E2 (complejo E2-P) que queda abierta hacia la luz de retículo sarcoplásmico, al cual se liberan los dos iones Ca^{2+} y se fija un cierto número de iones H^+ (2-3). El paso siguiente consiste en la hidrólisis del enlace fosfato, quedando los iones H^+ ocluidos en la estructura de la bomba (complejo $\text{E2-P}\cdot\text{H}_2\text{O}$). La liberación de fosfato inorgánico es concomitante al paso de conformación E2 a conformación E1, con lo que puede volver a iniciarse el ciclo, y se liberan los iones H^+ al citoplasma.

La [figura 10.7](#) nos muestra la estructura de la bomba de calcio en sus estados E1 y E2 (que según se puede apreciar tienen un notable parecido estructural a la bomba Na^+/K^+ , [figura 10.4](#)).



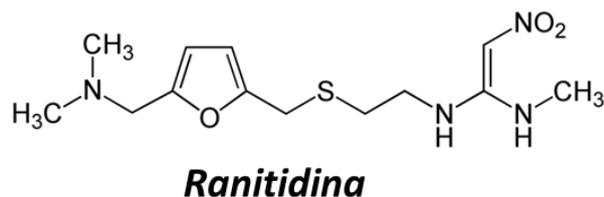
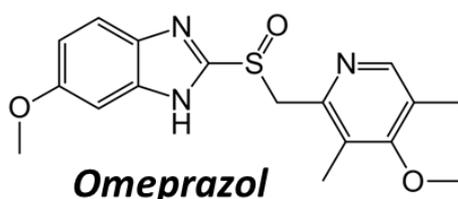
Se trata de un único polipéptido de 994 aminoácidos, con un dominio constituido por 10 hélices transmembrana en el interior del cual se fijan los iones Ca^{2+} , y un amplio segmento intracitoplásmico estructurado en tres dominios globulares conocidos como N (de fijación a nucleótido), P (de fosforilación) y A (actuador o catalítico).

10.2.4 La bomba H^+/K^+ , H^+/K^+ -ATPasa (EC 3.6.3.10)

Se trata de un antiporte que bombea contra gradiente iones H^+ desde el interior de las células parietales (también llamadas oxínticas) de la mucosa gástrica hacia la luz del estómago, intercambiándolos con iones K^+ que, también contra gradiente, son bombeados en sentido contrario. Este sistema es el encargado de la secreción de ácido por parte de la mucosa gástrica.

Se trata de una ATPasa de tipo P, de la que aún no se conoce su estructura tridimensional, pero por estudios de secuencia se cree que es bastante parecida a las ATPasas Na^+/K^+ y Ca^{2+} . Se trata de un heterodímero, con una subunidad α de unos 1000 aminoácidos y una subunidad β de alrededor de 300 con un dominio extracelular glicosilado.

Su función consiste en el transporte de un ion H^+ hacia la luz del estómago en intercambio por un ion K^+ . Al ser el sistema responsable de la secreción ácida gástrica, hay muchas intervenciones terapéuticas que buscan la inhibición del mismo. Hay dos grupos de fármacos directamente implicados en la inhibición de este sistema. Uno, cuyo prototipo es el **omeprazol**, actúa por fijación directa a la estructura de la bomba. Otro está constituido por los inhibidores de los receptores histamínicos H_2 , como **ranitidina** y **cimetidina**, los cuales actúan en el sistema de activación de la H^+/K^+ ATPasa. Se emplean unos y otros en el tratamiento de la úlcera péptica y el reflujo gastroesofágico, así como de muchas otras enfermedades que cursan con hiperacidez gástrica (p.e., el síndrome de **Zollinger-Ellison**).

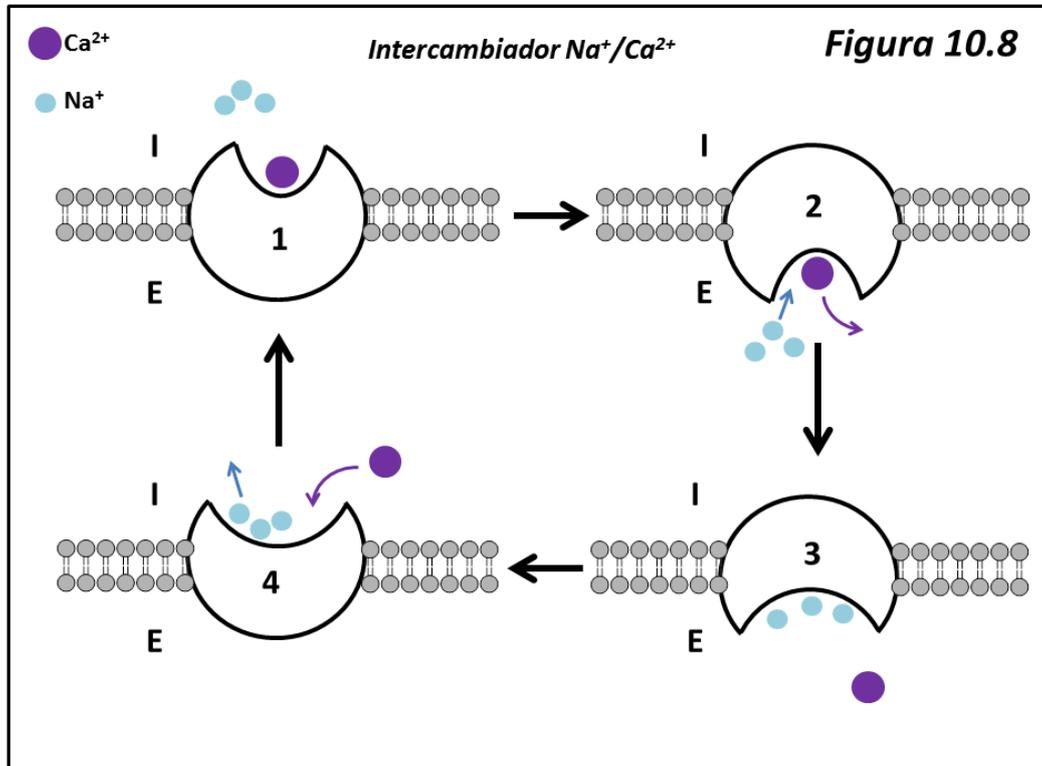


10.2.5 El intercambiador Na^+/Ca^{2+}

Se trata de un antiporte presente en la membrana plasmática de la célula cuya función es mantener a un nivel muy bajo la concentración intracelular de Ca^{2+} , y que no ha de ser confundido con la bomba de calcio (ATPasa Ca^{2+} -dependiente, ver sección 10.2.3). El ion Ca^{2+} opera como segundo mensajero en una gran cantidad de procesos de señalización celular, como la contracción muscular, la exocitosis de vesículas sinápticas, la activación de numerosas enzimas, estímulos transcripcionales y muchos otros. Por lo general, el estado de reposo celular se caracteriza por una baja concentración de Ca^{2+} mientras que el de actividad coincide con una alta concentración intracelular del mismo. Por esa razón, la vuelta de una célula a su estado basal requiere la eliminación del Ca^{2+} presente en el citoplasma. Esta función es en parte llevada a cabo por el intercambiador, y en parte por la bomba de calcio (o Ca^{2+} -ATPasa, ver sección 10.2.3).

El intercambiador consiste en un proceso de transporte activo secundario, dado que aprovecha la energía potencial del gradiente de Na^+ creado por la bomba Na^+/K^+ para la expulsión del ion Ca^{2+} (figura 10.8). De esta forma un ion calcio es bombeado hacia el espacio extracelular al tiempo que tres iones Na^+ entran hacia el citoplasma a favor de su gradiente de concentración. Esto hace que el intercambiador sea (a) electrogénico, puesto que induce un aumento de carga electropositiva en el citoplasma (intercambia dos cargas positivas hacia fuera por tres positivas hacia dentro), lo que hace tender a la célula hacia la despolarización; y

(b), dado su carácter reversible, ante una despolarización acentuada de la célula, puede funcionar en sentido inverso, llevando Ca^{2+} al interior de la misma y Na^+ hacia el exterior. Este mecanismo parece tener importancia en la **excitotoxicidad**, proceso que daña las células nerviosas cuando son estimuladas excesivamente por algunos neurotransmisores como el glutamato.



Asimismo, la inhibición de la bomba Na^+/K^+ inducida por glicósidos cardiotónicos (ver sección 10.2.2.3), al incrementar la cantidad de Na^+ intracelular, determina una menor actividad del intercambiador, con el consiguiente aumento de la concentración intracelular de Ca^{2+} , lo que favorece la contractilidad de las células cardíacas (efecto inotrópico positivo).

10.2.6 Intercambiadores aniónicos

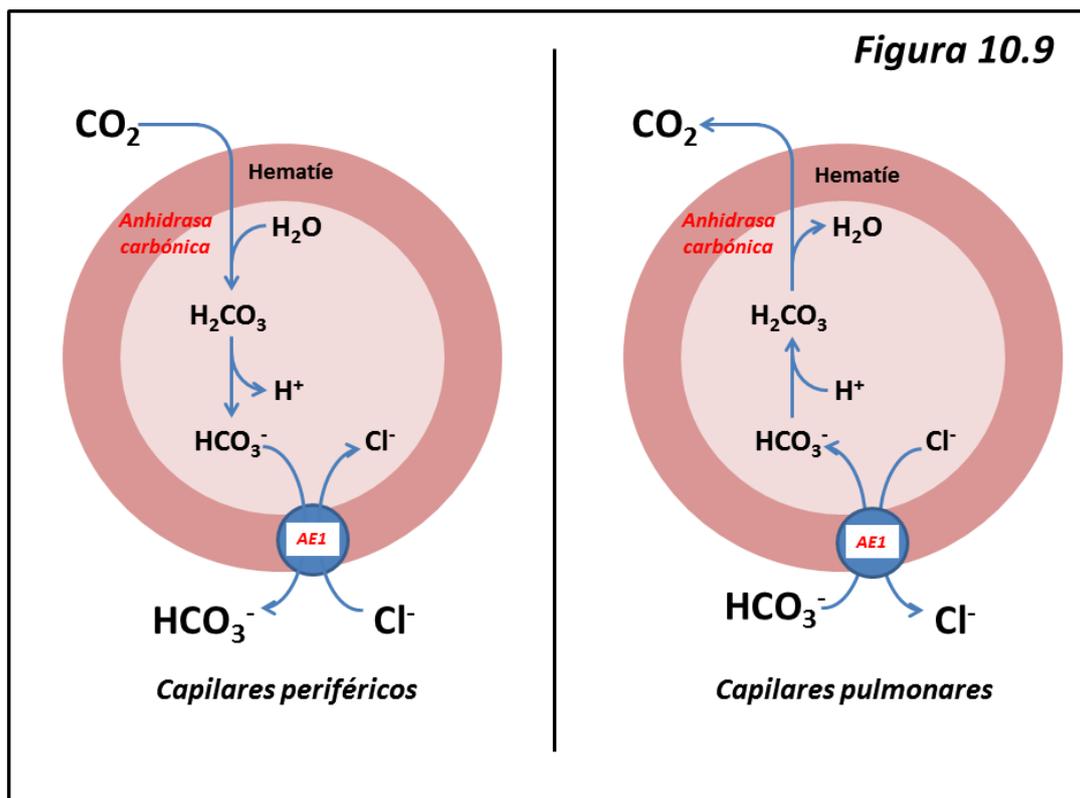
Existe una gran variedad de sistemas antiporte encargados del intercambio aniónico en general. Como ejemplo de los mismos, estudiaremos el Intercambiador aniónico 1 (AE1), también conocido como Banda 3 (término que significa la banda electroforética donde aparece en las proteínas del hematíe, en donde es muy abundante) y que tiene una gran importancia en el transporte de gases en sangre (CO_2) y en la regulación del pH urinario que se lleva a cabo en el túbulo colector de la nefrona.

No se trata de una bomba iónica, ya que no utiliza energía. Lleva a cabo el intercambio de cloruro Cl^- por bicarbonato HCO_3^- , siendo este proceso de gran importancia en el hematíe, en donde AE1 es una de las proteínas más abundantes, llegando a ocupar el 25 % de la superficie de la membrana. Este intercambio es electroneutro (cambia un anión por otro anión).

Cuando el hematíe circula por los tejidos periféricos, con una alta presión parcial de CO_2 , éste penetra en la célula donde por acción de la **anhidrasa carbónica** (EC 4.2.1.1) se hidrata dando lugar a anión bicarbonato y un protón:



El bicarbonato es intercambiado por un ion Cl^- presente en el medio plasmático, de manera que aquél pasa a formar parte del mismo mientras que el interior del hematíe se enriquece en Cl^- . De esta manera, al disminuir la concentración intracelular de CO_2 , se favorece la difusión de éste desde las células hacia el hematíe. El proceso contrario ocurre en el pulmón; la baja concentración de CO_2 impulsa al anión bicarbonato a entrar en intercambio por Cl^- en el hematíe, donde por reversión de la reacción anteriormente mencionada se produce CO_2 que es liberado hacia las vías respiratorias (figura 10.9).



En el hematíe esta proteína (AE1, banda 3) tiene que ver también con el mantenimiento de la forma normal de la célula (disco bicóncavo) dado que algunos defectos genéticos en esta proteína son causa de **esferocitosis hereditaria**.

Este mismo intercambiador aniónico aparece en las células de los túbulos colectores en la nefrona, donde participa en el proceso de acidificación de la orina a través del intercambio de cloruro extracelular por el bicarbonato producido por la anhidrasa carbónica (el protón es excretado hacia la orina). Los defectos congénitos en esta proteína son causa de **acidosis tubular renal** al no poder acidificarse convenientemente la orina.

10.3 Canales iónicos

10.3.1 Generalidades

Son estructuras supramoleculares integradas en las membranas biológicas, formadas por subunidades o dominios dispuestos en torno a un poro central, de tal manera que a su través pueden pasar iones y otros componentes polares que en principio no pueden atravesar la membrana dado su carácter polar o hidrofílico. Están presentes en todas las membranas conocidas, tanto en la interfase célula-medio (membrana plasmática) como en las que rodean a los distintos compartimentos intracelulares (mitocondrias, lisosomas, retículo endoplásmico, etc.). En líneas generales, los canales iónicos pueden ser **activos**, esto es, controlados por señales externas (ingl. *gated*), que pueden estar abiertos o cerrados según la naturaleza del control, o **pasivos** (que permanecen siempre abiertos); y también suelen ser **selectivos**, es decir, que permiten sólo el paso de un determinado ion. Los canales iónicos controlados determinan una permeabilidad selectiva hacia iones que es determinante en el potencial de membrana o de reposo; y además, la apertura y cierre controlados de canales iónicos es lo que produce las alteraciones eléctricas ligadas a los procesos de excitabilidad celular (potenciales de acción). Todas estas razones hacen que los canales iónicos sean una diana preferente tanto en acciones farmacológicas como en el modo de acción de muchas toxinas producidas como defensas por los seres vivos para atacar canales iónicos de otros.

Tal como vimos en el capítulo 3, el transporte a través de canales es un transporte no mediado (y por tanto, no saturable) y el flujo iónico, una vez abierto el canal, depende linealmente del gradiente de concentración y de una constante de difusión característica del canal.

10.3.2 Clasificación

La clasificación más operativa de los canales iónicos (de los que se conocen casi 400 tipos distintos) alude a su forma de control. De esta manera, podemos distinguir entre (1) Canales controlados por voltaje; (2) Canales controlados por ligando; (3) Canales pasivos que permanecen siempre abiertos, aunque su permeabilidad pueda a veces estar modulada por las circunstancias exteriores; (4) Canales controlados por otras variables físicoquímicas, como temperatura, *stress* mecánico, luz, etc.

En el primer caso, la apertura o cierre del canal depende del valor instantáneo del potencial de membrana; por ejemplo, una despolarización del mismo conduce a la apertura selectiva de canales de sodio, lo que a su vez determina el potencial de acción de células excitables. En el segundo, un ligando en interacción estereoespecífica con el dominio extracelular del canal determina la apertura o cierre de éste. Por ejemplo, el canal catiónico del receptor colinérgico nicotínico (permeable a Na^+ y K^+) se abre cuando el ligando **acetilcolina** interacciona con su receptor. Los canales pasivos, por su parte, permanecen siempre abiertos por lo que a veces reciben el nombre de canales de “pérdida” o de “goteo” (ingl., *leakage*).

Además de estos tres grupos, podemos mencionar la existencia de canales sensibles a otros estímulos físico-químicos; por ejemplo, existen canales mecanosensitivos, sensibles a fuerzas mecánicas como la tensión, presión o estiramiento, presentes, por ejemplo, en los corpúsculos cutáneos responsables del sentido del tacto (corpúsculos de Meissner); canales termosensitivos sensibles a la temperatura, y canales fotosensitivos sensibles a la luz.

La estructura de los canales iónicos sigue una pauta más o menos regular. Todos ellos están constituidos por una agrupación circular de subunidades o de dominios, normalmente pentamérica o tetramérica, que rodean a un poro central hidrofílico del que depende la selectividad del canal. Las subunidades que forman el poro reciben por lo general el nombre de subunidades α . Muy a menudo, en torno a esta estructura básica aparecen otras subunidades auxiliares, que suelen denominarse como β , γ , etc. La luz del poro suele ser lo suficientemente estrecha como para dejar pasar los iones de uno en uno. La estructura e hidratación de los aminoácidos que aparecen en la superficie del poro es lo que determina la selectividad del mismo.

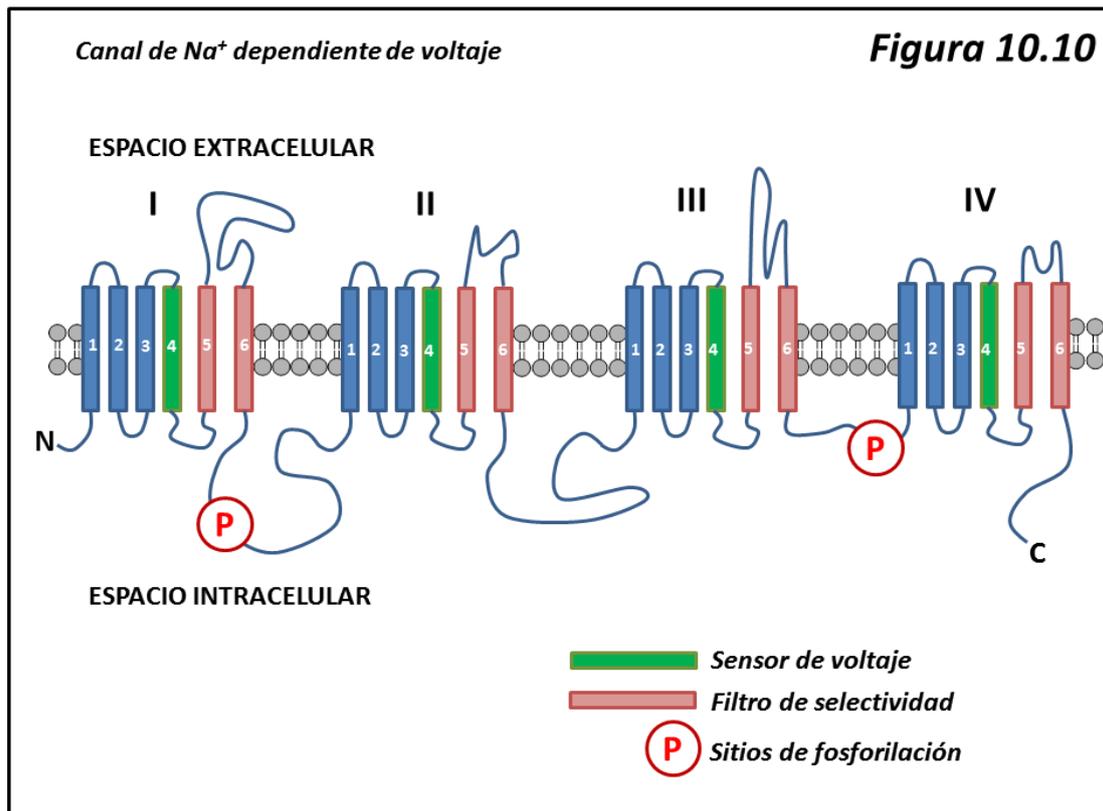
En lo que sigue no se pretende hacer una revisión exhaustiva sobre todos los canales iónicos conocidos, sino únicamente una descripción sucinta de aquéllos de mayor relevancia conocida en el organismo humano en lo que respecta al metabolismo iónico.

10.3.3 Canales regulados por voltaje

10.3.3.1. Canales de sodio regulados por voltaje

Son uno de los principales responsables de la generación y propagación del potencial de acción en células excitables; en concreto, de la fase ascendente del potencial de acción (despolarización).

Los canales de sodio regulados por voltaje (conocidos como **canales NaV**) constan de una subunidad α plenamente funcional. Consiste en un polipéptido grande (más de 1000 aminoácidos) que presenta cuatro dominios (**figura 10.10**), cada uno de los cuales presenta seis heliocides transmembrana conocidos como S1-S6.

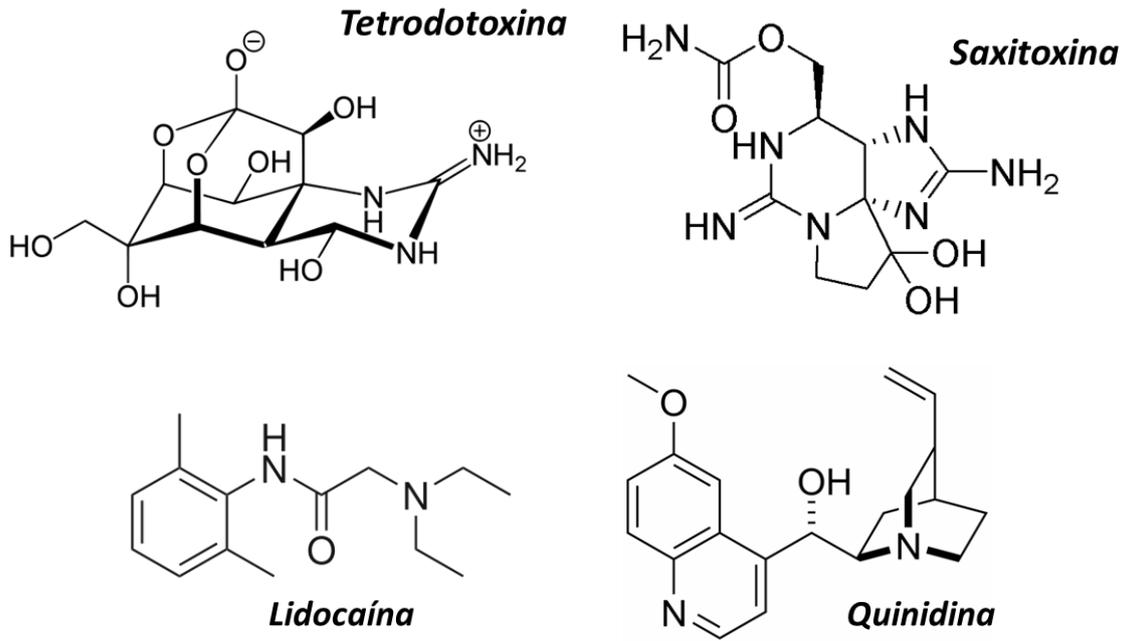


S4 está muy conservado en todos los canales NaV y parece ser que su función es la sensibilidad al voltaje. Esta sensibilidad se consigue gracias a la presencia de residuos electropositivos (Lys, Arg) localizados cada 4 posiciones en la proteína. En el momento en que hay un cambio despolarizador en la membrana, este segmento S4 se mueve hacia el lado extracelular del complejo abriendo el canal y haciéndolo permeable selectivamente al ion Na⁺. La selectividad, a su vez, depende de la estructura de la zona entre S5 y S6. Las zonas de la molécula comprendidas entre los cuatro dominios pueden estar fosforiladas en sus porciones intracelulares y glicosiladas en las extracelulares. Tanto el N-término como el C-término son intracelulares. Se conocen hasta nueve miembros de la familia de canales NaV, con una homología de secuencia superior al 50 %, y que se distribuyen de forma específica de tejido u órgano.

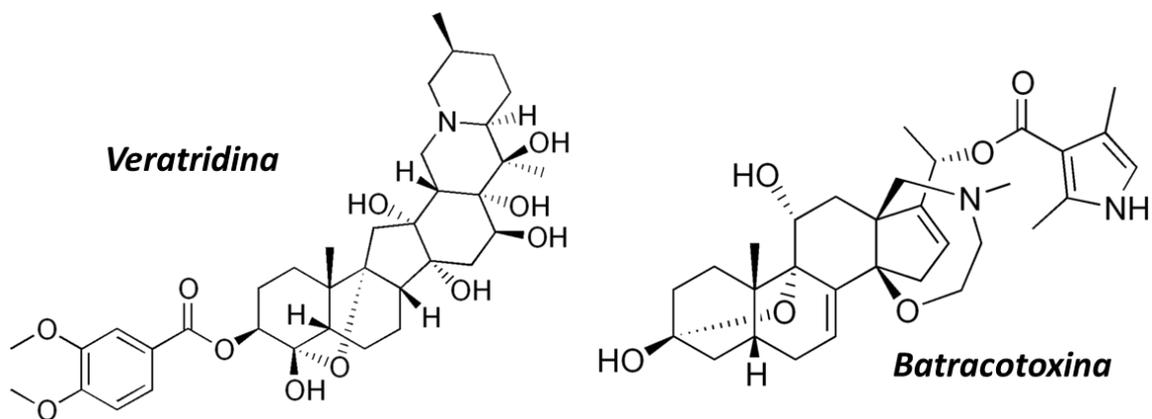
Las subunidades β son glicoproteínas transmembrana y no muestran homología con las correspondientes β de otros canales (Ca²⁺ y K⁺), estando más bien relacionadas con proteínas de adhesión celular (CAM, *Cell adhesion molecules*). En el interior de la célula interactúan con proteínas del citoesqueleto y en exterior con moléculas de la matriz extracelular. Se conocen cuatro tipos distintos de subunidad β, cuya función estriba en modular la actividad del canal.

El canal puede existir en tres estados distintos: (1) **desactivado** (cerrado); (2) **activado** (abierto); y (3) **inactivado** (cerrado). El estado desactivado consiste en un bloqueo del lado intracelular que puede suprimirse en el momento que la célula recibe un estímulo despolarizador, pasando el canal al estado abierto. El estado inactivado es el que resulta inmediatamente después de la despolarización, dando lugar al llamado período refractario absoluto, en el que el canal no responde a ningún tipo de estímulo. Progresivamente (a lo largo del llamado período refractario relativo) el canal va pasando al estado desactivado, de modo que puede responder a un nuevo estímulo.

La actividad del canal de sodio puede ser bloqueada por muchas toxinas y alcaloides. Algunos actúan desde el exterior celular como la **tetrodotoxina** (TTX, producida por el pez globo) y la **saxitoxina** (STX, producida por dinoflagelados responsables de las llamadas “mareas rojas” que pasan al hombre a través del consumo de moluscos bivalvos). Otros bloqueantes actúan desde el interior celular. Entre ellos destacan los anestésicos locales (p.e., **lidocaína**), los antiarrítmicos de clase I (p.e., **quinidina**, **procainamida**) y algunos agentes antiepilépticos (p.e., **carbamazepina**)



Otros agentes, por el contrario, activan constitutivamente los canales NaV, de modo que quedan en estado abierto de forma continua. Por ejemplo, la **aconitina** (producida por plantas del género *Aconitum*), la **veratridina** (de *Veratrum album*) y la **batracotoxina** (presente en determinadas especies de anfibios); todos ellos, en particular esta última, muy tóxicos.

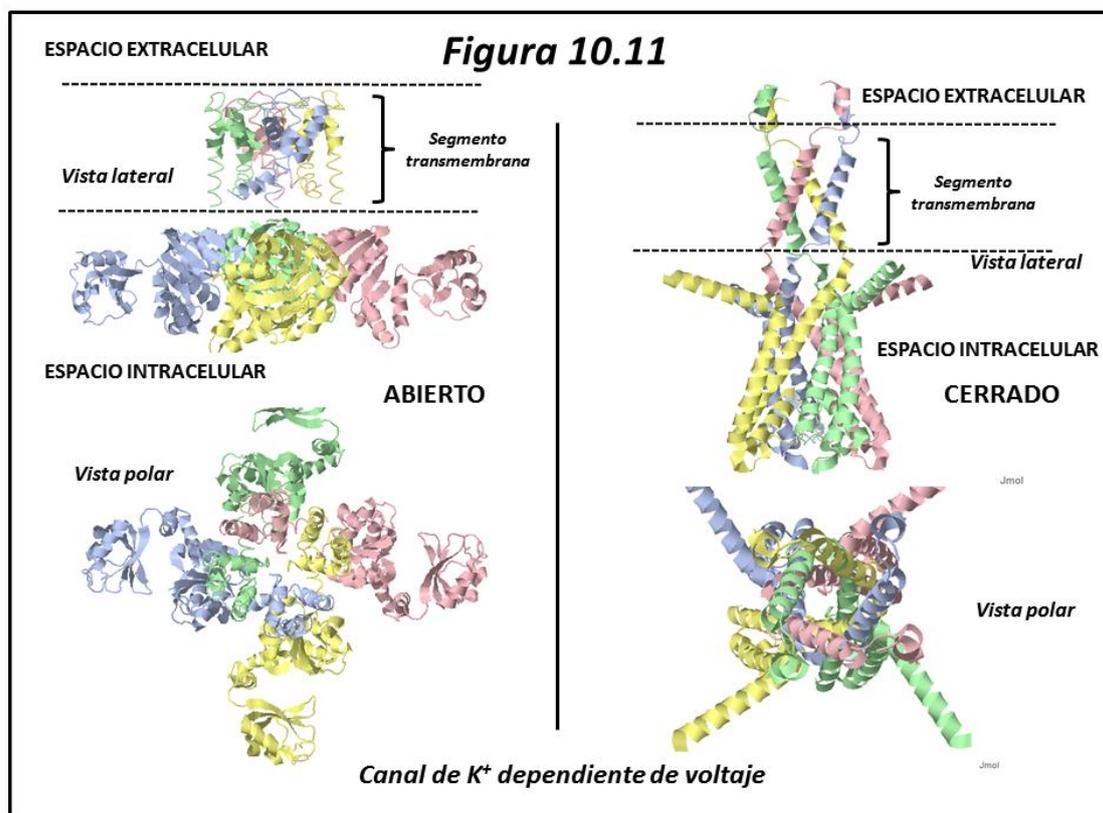


10.3.3.2 Canales de potasio regulados por voltaje

Existe una gran abundancia y variedad de canales de potasio en todo tipo de célula viviente, tanto pro- como eucariota. De todos ellos nos interesan en este momento únicamente los canales de potasio regulados por voltaje (KV).

La función principal de los canales de potasio regulados por voltaje consiste en determinar la repolarización que sigue a una despolarización desencadenada previamente por la activación de canales de sodio en el potencial de acción; en otras palabras, son responsables de la fase descendente de dicho potencial.

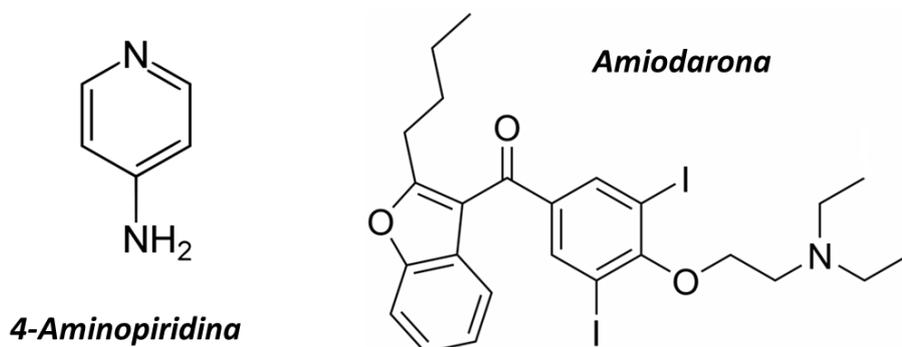
Los KV consisten en un tetrámero de subunidades α idénticas, existiendo 12 clases diferentes de las mismas, y cuatro subunidades auxiliares β ; ambas forman un anillo incrustado en la membrana plasmática, en torno a un conducto selectivo a iones K^+ . Cada una de las subunidades está formada por seis segmentos α -helicoidales transmembrana de carácter hidrofóbico, cuya estructura ha sido resuelta por difracción de rayos X (figura 10.11).



La selectividad del canal está ligada a secuencias TVGYG presentes en el poro. El canal de potasio funciona eliminando el agua de solvatación del ion de manera que éste interacciona directamente con los grupos carbonilo del esqueleto proteico del canal, cuyo diámetro de apertura es tal que en él cabe un ion K^+ no solvatado. El ion Na^+ , que es más pequeño y en principio podría pasar a través del canal, no lo hace puesto que no pierde su agua de solvatación y de esa manera no puede atravesar el poro.

De manera muy parecida al canal de sodio, el canal de potasio puede existir en dos formas cerradas (**desactivado** e **inactivado**) y una forma **abierto**. En la forma desactivada, el canal puede abrirse si el potencial de membrana se hace electropositivo en el interior. Una vez abierto, al cerrarse de nuevo adquiere una forma inactiva en la cual el canal no puede abrirse aun cuando persista el carácter electropositivo del potencial de membrana. Posteriormente pasan de nuevo al estado desactivado.

Los canales KV pueden ser bloqueados por toxinas animales como la **dendrotoxina** (producida por las serpientes mamba, *Dendroaspis*) y compuestos sintéticos como la **4-aminopiridina** y el catión **tetraetilamonio**. También actúan sobre los canales KV los antiarrítmicos de clase III (p.e., la **amiodarona**). Existen también activadores constitutivos de los canales KV, como la **retigabina**, utilizado como antiepiléptico.

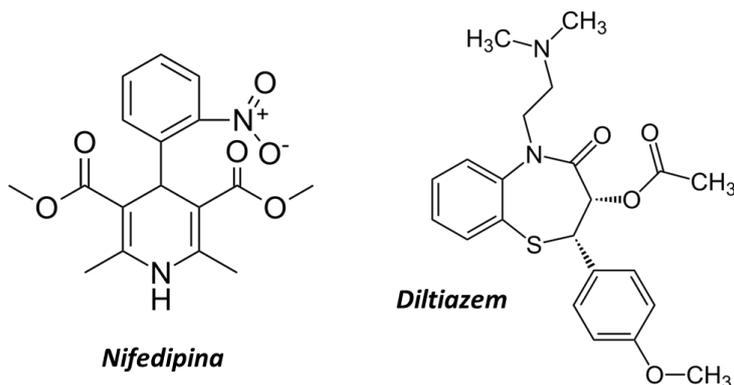


10.3.3.3 Canales de calcio regulados por voltaje

Los canales de calcio regulados por voltaje (CaV) regulan procesos intracelulares de suma importancia, como por ejemplo la contracción muscular, la transmisión sináptica, la transcripción genética y la secreción hormonal, entre otras muchas funciones. En condiciones de reposo celular, tal como hemos visto, la concentración de ion Ca^{2+} en el interior de la célula es muy baja (del orden μM), estando la mayor parte del Ca^{2+} secuestrado en vesículas del retículo endoplásmico. La apertura de canales CaV en estas estructuras provoca la entrada masiva de Ca^{2+} desde el espacio extracelular hacia el citoplasma, y a través de su interacción con proteínas específicas, como la **calmodulina** o su análoga **troponina C** muscular, desencadenan las acciones pertinentes.

Inicialmente los CaV fueron clasificados conforme a criterios farmacológicos o electrofisiológicos. Así, se distinguen entre los **activados por alto voltaje** (HVA, *High voltage-activated*), que entran en funcionamiento a partir de una despolarización celular que llegue al menos a -30 mV, y que producen corrientes intensas de Ca^{2+} (*large*) y de larga duración, por lo que son conocidos como de **tipo L**; y los **activados por bajo voltaje** (LVA, *Low voltage-activated*), que se activan a voltajes muy negativos (-70 mV), y producen corrientes muy pequeñas (*tiny*) y de corta duración, por lo que se denominan de **tipo T**.

Por su parte, los canales tipo L pueden ser bloqueados por antagonistas como las dihidropiridinas (cuyo prototipo es la **nifedipina**), fenilalquilaminas (como el **verapamil**) y benzotiazepinas (p.e., el **diltiazem**), compuestos todos ellos de amplia utilización farmacológica. Estos canales (tipo L) se encuentran en muchos tejidos: músculo esquelético, corazón, cerebro, ganglios de la raíz dorsal medular y glándulas endocrinas. En el corazón contribuyen al potencial de acción y a la función marcapasos del nódulo sinoatrial. También se conocen como **receptores dihidropiridina**.



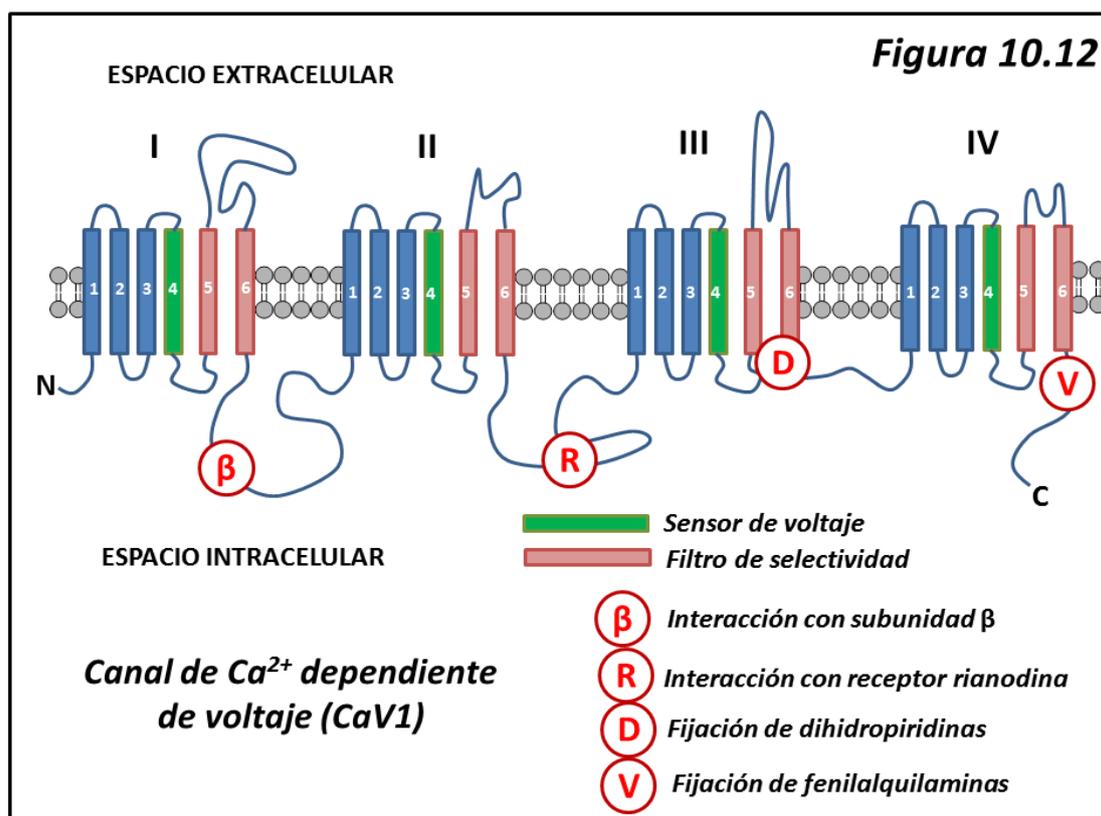
No se han encontrado hasta el momento agonistas o antagonistas *específicos* de los canales tipo T. Las anomalías en los mismos se traducen en episodios convulsivos (epilepsia). En el cerebro se ha encontrado otro tipo de canales, de características intermedias entre los L y los T, que fueron inicialmente denominados canales **tipo N**, y con posterioridad subdivididos en tipos N-, P/Q- y R-, todos ellos de localización neuronal, dependiendo de su sensibilidad a diferentes toxinas animales. Por ejemplo, los del tipo N se bloquean por la **ω -conotoxina**, y los de tipo P/Q por la **ω -agatoxina**.

Hoy día se ha generalizado la nomenclatura siguiente: los canales tipo L reciben el nombre de CaV1 (cuatro tipos distintos); los de tipos N, P/Q y R, CaV2 (tres tipos distintos); y los de tipo T, como CaV3 (tres tipos distintos).

Desde el punto de vista estructural, los CaV son complejos heterooligoméricos de proteínas que presentan un máximo de 5 subunidades. La subunidad principal recibe el nombre de α 1, proteína de 200-250 kDa. En esta subunidad está el poro, el filtro de selectividad, el sensor de voltaje y los sitios de fijación de agonistas y antagonistas. Consta de cuatro dominios homólogos (I-IV) conteniendo cada uno seis segmentos transmembrana α -helicoidales, de forma muy parecida a los canales NaV ([figura 10.12](#)).

El poro está formado por el tramo entre los segmentos 5 y 6, que es extracelular, y determina la conductancia y selectividad iónica. En los segmentos S4 hay un aminoácido electropositivo (Arg o Lys) que representa el sensor de voltaje. Asimismo la subunidad α 1 contiene varios sitios de fosforilación sensibles a protein quinasa A, protein quinasa C y a protein quinasa dependiente de Ca^{2+} -calmodulina, así como sitios de interacción con proteínas G. Esto nos indica que los canales CaV están sometidos a muchos tipos de señalización celular.

Las subunidades auxiliares son β , α 2 δ y ocasionalmente γ . La subunidad β está en el lado citoplásmico del canal. α 2 δ es en parte extracelular (α 2) y en parte integral de membrana (δ). Estas subunidades auxiliares modulan la actividad de la subunidad principal α 1.



Es importante no confundir los CaV con un tipo especial de canal de calcio activado por el propio ion Ca^{2+} presente en las vesículas del retículo sarcoplásmico y también en las células pancreáticas secretoras de insulina; y que por tanto, se trata de un canal activado por ligando y no por voltaje. Estos canales reciben el nombre de **receptores rianodina** (por el bloqueo que experimentan con este compuesto). Están íntimamente acoplados a los **receptores dihidropiridina** (es decir, CaV1, tipo L, que hemos visto en este apartado) en el proceso de contracción muscular, y son los canales cuantitativamente más importantes en la liberación de Ca^{2+} desde el retículo sarcoplásmico en la contracción muscular. Son los principales responsables de la liberación de Ca^{2+} inducida por Ca^{2+} (*CICR*, *Calcium-induced calcium release*), que se observa en el músculo y en tejidos secretorios, como por ejemplo los islotes de Langerhans del páncreas.

10.3.4 Canales regulados por ligando

Se conocen también con el nombre de receptores ionotrópicos. Se abren en respuesta a la fijación de un ligando específico a la estructura del canal, provocando su apertura a través de un cambio conformacional. Los mejor conocidos son el receptor colinérgico nicotínico, el receptor $GABA_A$ (al neurotransmisor inhibitorio central γ -aminobutírico, GABA), los receptores ionotrópicos de glutamato, el receptor a glicina (que opera como neurotransmisor inhibitorio a nivel espinal), los receptores purinérgicos, y algunos receptores a serotonina. Estudiaremos aquí los dos citados en primer lugar.

10.3.4.1 El receptor colinérgico nicotínico

Generalidades

La acetilcolina fue el primer neurotransmisor conocido y caracterizado, tanto en la unión neuromuscular como en las terminaciones del nervio vago. Las sinapsis que responden a acetilcolina (entre ellas, la unión neuromuscular), reciben el nombre de **sinapsis colinérgicas**. En insectos, estas sinapsis aparecen únicamente en el sistema nervioso central; en mamíferos las encontramos tanto en el sistema nervioso central como en el periférico, así como en las sinapsis preganglionares del sistema nervioso autónomo y en las postganglionares de la división parasimpática de este último. La mejor estudiada es, sin embargo, la unión neuromuscular; es decir, la sinapsis existente entre las motoneuronas y las fibras musculares inervadas por éstas. Una unión neuromuscular modificada, de funcionamiento colinérgico, es el órgano eléctrico de algunos peces óseos, como la anguila eléctrica (*Electrophorus electricus*), o de peces cartilaginosos como el torpedo (*Torpedo californica*, *Torpedo marmorata*), que ha sido un importantísimo sistema experimental para el estudio de la sinapsis colinérgica, y dentro de ella, el receptor colinérgico nicotínico.

La acetilcolina puede ser reconocida por dos clases distintas de receptores, llamados **muscarínico** y **nicotínico**, que difieren en distribución, funcionamiento y respuesta a agonistas/antagonistas. Así, la **muscarina** (alcaloide del hongo *Amanita muscaria*) se comporta como agonista del receptor muscarínico (no así del nicotínico) mientras que la **nicotina** (alcaloide de *Nicotiana tobaccum*) lo hace exclusivamente sobre el receptor nicotínico.



El receptor nicotínico es un receptor **ionotrópico**, lo cual quiere decir que su activación conduce a la apertura de canales iónicos; mientras que el muscarínico es un receptor **metabotrópico**, es decir, que activa sistemas enzimáticos intracelulares específicos a través de su acoplamiento a proteínas G. Igualmente, ambos tipos de receptores difieren en sus antagonistas; a modo de ejemplos, mientras que la **d-tubocurarina** (alcaloide del curare) bloquea los receptores nicotínicos, la **atropina** (alcaloide de *Atropa belladonna*) lo hace con los muscarínicos. En cuanto a su distribución, en líneas generales, es la siguiente:

1. En el sistema nervioso central encontramos receptores de ambos tipos, muscarínico y nicotínico.
2. En el sistema nervioso autónomo, las fibras preganglionares de ambas divisiones (simpático y parasimpático) son de tipo colinérgico sobre receptores nicotínicos. Las fibras postganglionares del sistema parasimpático son colinérgicas actuando sobre receptores muscarínicos. Las fibras postganglionares del sistema simpático son adrenérgicas (es decir, utilizan catecolaminas como neurotransmisor, y no acetilcolina) y pueden actuar sobre receptores α o β (que no tratamos aquí).
3. En el sistema nervioso periférico, la unión neuromuscular (sinapsis de neurona motora con las fibras musculares) es de tipo colinérgico sobre receptores nicotínicos.

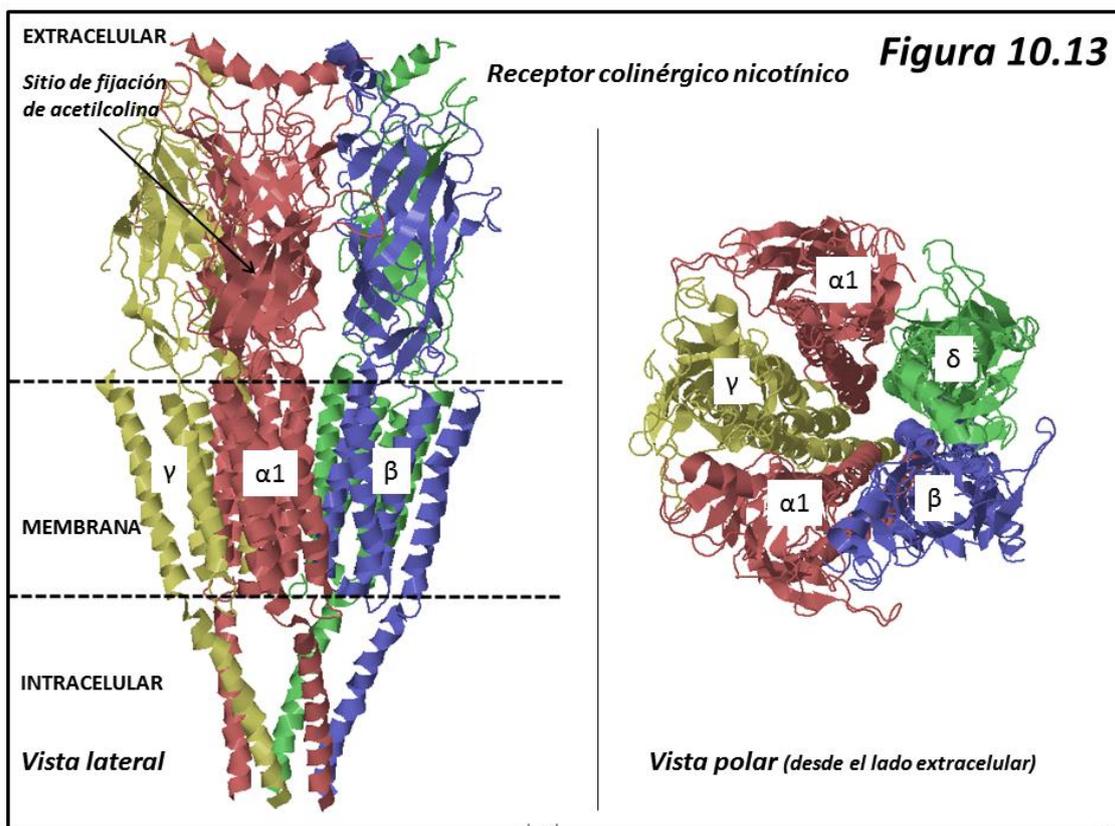
A partir de ahora nos referiremos únicamente al **receptor nicotínico**.

Estructura

Existen dos tipos básicos de receptor nicotínico: Los de tipo muscular (tipo M) que encontramos en la unión neuromuscular, y los de tipo neuronal (tipo N) que encontramos en las sinapsis colinérgicas del sistema nervioso (exceptuada la unión neuromuscular)

El receptor nicotínico es un complejo proteico que consta de cinco subunidades dispuestas en torno a un poro central. El complejo tiene un peso molecular de 290 kDa, y presenta una importante similitud estructural con los receptores GABA_A, glicina y serotonina. Las subunidades pueden ser de tipo α (de la que aparecen un mínimo de dos, con 10 subtipos α 1- α 10), de tipo β (cuatro subtipos, β 1- β 4), tipo γ , tipo δ y tipo ϵ . Las combinaciones de estas subunidades en un pentámero (siempre con un mínimo de dos subunidades del tipo α) determina la estructura de los diferentes receptores nicotínicos. Así, el receptor de la unión neuromuscular puede ser $(\alpha$ 1)₂ β 1 $\delta\epsilon$ o $(\alpha$ 1)₂ β 1 $\delta\gamma$; en los ganglios del sistema nervioso autónomo encontramos la combinación $(\alpha$ 3)₂(β 4)₃ y en el sistema nervioso central son mucho más variados, apareciendo incluso formas homoméricas; por ejemplo, $(\alpha$ 7)₅. Las distintas combinaciones muestran diferentes respuestas a agonistas y antagonistas, aunque todos ellos responden a acetilcolina.

El pentámero así constituido se integra en la membrana celular. Cada una de las subunidades presenta un dominio transmembrana formado por cuatro α -helicoides. La estructura tridimensional del receptor ha sido resuelta por difracción de rayos X en varios sistemas. En la **figura 10.13** se presenta la estructura del receptor nicotínico del órgano eléctrico de *Torpedo marmorata* $(\alpha$ 1)₂ β 1 $\delta\gamma$.



La acetilcolina se fija a un sitio específico de las subunidades α , situado en el dominio extracelular. Ante la fijación, se modifica la estructura del complejo de modo tal que el poro queda abierto. Recordemos que en la sinapsis colinérgica la acetilcolina es eliminada por la acción de la enzima acetilcolinesterasa (EC 3.1.1.7).

Función

El poro del receptor nicotínico, en estado abierto, se hace permeable a cationes, en particular Na^+ , K^+ ; algunas combinaciones de subunidades permiten también el paso de Ca^{2+} . La acción del agonista sobre el receptor puede durar hasta 1 msec. El movimiento de cationes (Na^+ hacia dentro y K^+ hacia fuera, pero con predominio del movimiento de Na^+) provoca una despolarización de la célula que en las sinapsis neuronales y en la placa motora (unión neuromuscular) se manifiesta en la aparición de un **potencial postsináptico excitatorio** (PPSE, ingl. *EPSP*, figura 10.16) que si supera el umbral, desencadena un potencial de acción en la célula postsináptica activando a los canales de Na^+ dependientes de voltaje. A este respecto es interesante señalar que los PPSE son aditivos, con lo que varias señales se pueden sumar unas a otras desencadenando un potencial de acción.

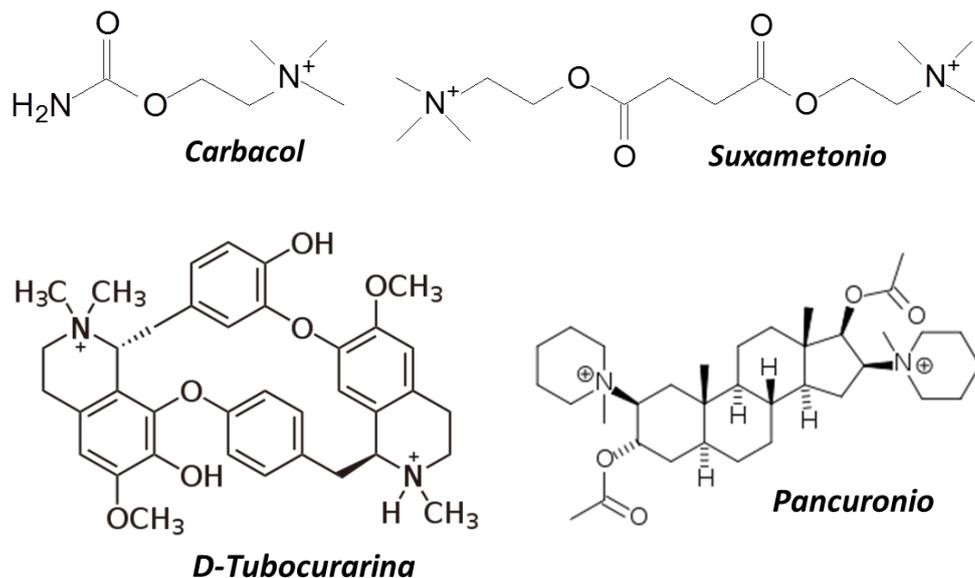
La acetilcolina es eliminada por acción de la enzima acetilcolinesterasa (EC 3.1.1.7), con lo que cesa su acción. Esta enzima no forma parte del receptor. Es importante señalar que las vías de inactivación de neurotransmisores (en este caso una hidrólisis enzimática; en otros, por recaptación del neurotransmisor hacia la célula presináptica) son dianas farmacológicas tan importantes como el propio receptor.

Algunos receptores nicotínicos permiten también el paso de ion Ca^{2+} . En este caso, en el caso de neuronas, se puede activar la liberación de neurotransmisores (por exocitosis de vesículas sinápticas), así como otras actividades Ca^{2+} -dependientes.

Agonistas y antagonistas

La heterogeneidad del receptor nicotínico hace que una gran cantidad de toxinas y compuestos sintéticos puedan comportarse como agonistas o antagonistas del mismo.

Entre los primeros, además de **nicotina**, encontramos **suxametonio (succinilcolina)**, **carbacol**, y **dimetilfenilpiperazinio**. Como antagonistas podemos señalar **d-tubocurarina** (alcaloide del curare), **α -bungarotoxina** (un veneno de serpiente), **pancuronio** (potente relajante muscular), **hexametonio**, etc. Nótese que tanto agonistas como antagonistas presentan muy frecuentemente amonios cuaternarios (como la propia molécula de acetilcolina).



10.3.4.2 El receptor GABA_A

Con una estructura muy parecida al receptor colinérgico nicotínico, encontramos en el sistema nervioso central el receptor GABA_A, capaz de reconocer al neurotransmisor inhibitorio GABA (ácido γ -aminobutírico). Las sinapsis GABAérgicas, gracias a su carácter inhibitorio, tienen una gran importancia en el sistema nervioso central. Podemos asociar la actividad de estas sinapsis con la **sedación** del mismo; por ello son una importante diana farmacológica. Así, los agonistas de este receptor se comportan, pues, como sedantes de la actividad neuronal; mientras que los antagonistas son todos ellos excitatorios (algunos, incluso, pueden llegar a ser convulsivantes).

Estructura

Al igual que el receptor nicotínico, el receptor GABA_A está constituido por un heteropentámero transmembrana cuyas subunidades rodean a un poro central. Asimismo, las subunidades son de tipos α , β , γ , δ y otras; el receptor funcional debe contener al menos una subunidad α y una β ; la combinación más frecuente es $\alpha_2\beta_2\gamma$, pero se pueden encontrar otras muchas combinaciones de subunidades. La estructura tridimensional es muy parecida a la del receptor colinérgico nicotínico.

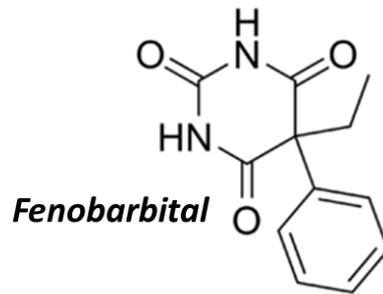
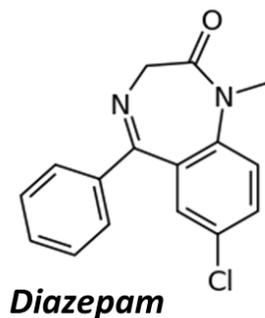
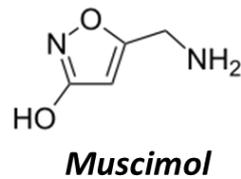
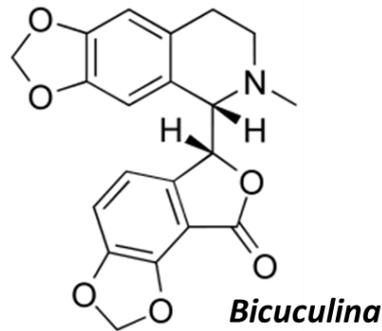
Función

La interacción del receptor GABA_A con su ligando fisiológico (GABA, ácido γ -aminobutírico) induce un cambio conformacional en el pentámero de tal manera que se abre el canal central; pero en este caso, el canal es selectivo al anión cloruro (Cl^-), y por tanto, el efecto desencadenado es completamente distinto al visto para el receptor nicotínico. Al aumentar selectivamente la permeabilidad al ion Cl^- , el potencial de membrana tenderá hacia el potencial de equilibrio del mismo (-95 mV, ver tabla II y ec. de Goldman), es decir, hacia una **hiperpolarización**, que en la sinapsis se traduce en un **potencial postsináptico inhibitorio** (PPSI, ingl. *IPSP*, figura 10.16). Al hacer el potencial de membrana más electronegativo, resulta más difícil la despolarización del mismo, y de esta manera se inhibe la actividad neuronal. Como en el caso de los PPSE, los PPSI son asimismo aditivos.

Agonistas y antagonistas

A diferencia de otros receptores, el receptor GABA_A no sólo contiene un sitio de fijación del ligando, sino que también presenta sitios alostéricos, por lo que además de agonistas y antagonistas clásicos hemos de tener en cuenta a sus moduladores alostéricos, tanto positivos como negativos.

Entre los agonistas tenemos el **muscimol**, y entre los antagonistas la **bicuculina** (de efecto convulsivante). Como moduladores alostéricos positivos tenemos los **barbituratos** y sobre todo las **benzodiazepinas**, ampliamente utilizadas estas últimas como ansiolíticos (p.e., diazepam, más conocido por su nombre comercial Valium™). Existen además bloqueantes no competitivos del canal, entre los que destacan la **cicutoxina** y la **oenantotoxina**, alcaloides altamente tóxicos de *Cicuta* sp. (el veneno con el que fue ejecutado Sócrates a principios del siglo IV a.J.C.).



10.3.4 Canales de cloruro

Se trata de un grupo de canales para el anión Cl^- (y otros aniones) que cumplen en las células una gran variedad de funciones, como el mantenimiento del volumen celular, transporte de solutos orgánicos, regulación del pH, diferenciación y proliferación celular, etc. Esta variedad de funciones y el escaso conocimiento que aún se tiene de los mismos hace que no puedan ser sistematizados como los vistos hasta ahora. Su importancia deriva del conocimiento de enfermedades relacionadas con su disfunción; una de ellas, de gran importancia, es la **fibrosis quística o mucoviscidosis**.

Se conocen hasta 13 tipos distintos de canales de cloruro (CLC) ampliamente distribuidos en todos los seres vivos. Todos ellos constan de 10-12 hélices transmembrana en una sola proteína que forma el canal (aunque a veces se presenta en forma dimérica). Algunos son activados por voltaje, mientras que otros son activados por ligandos como Ca^{2+} y pH, entre otros. Los CLC son permeables a los aniones Cl^- , SCN^- (tiocianato), I^- (yoduro) y NO_3^- (nitrato).

Un canal especialmente importante de Cl^- es el **regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística** (CFTR, *Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*), que es un transportador de Cl^- y SCN^- presente en las membranas epiteliales, especialmente en las mucosas. Se trata de una glicoproteína que pertenece al tipo de **transportadores ABC** (*ATP-binding cassette transporters*). Consta de 1480 aminoácidos con cinco dominios, de los cuales dos son transmembrana (con seis α -hélices cada uno), uno fija nucleótidos (NBD) y otro tiene una función regulatoria (R). El canal iónico es activado por cAMP y controlado por la fijación de ATP; pero a diferencia de otros transportadores ABC, el nucleótido es solamente requerido para la apertura del canal, dado que transporta iones a favor de gradiente.

Aparece distribuido por muchos órganos y tejidos (pulmón, hígado, páncreas, mucosas digestivas y piel) y su función es el suministro de aniones (fundamentalmente Cl^- , pero también puede ser SCN^-) para el moco que segregan todos estos epitelios. Su función es incrementar la

concentración iónica del moco, lo que resulta en una secreción concomitante de Na^+ y agua para mantener el balance osmótico. Las mutaciones de este gen conducen a la **fibrosis quística**, enfermedad compleja caracterizada, entre otras cosas, por la presencia de secreciones mucosas extremadamente viscosas y poco fluidas. En el caso del sudor, los defectos en el CFTR se manifiestan en un sudor con mayor concentración de Cl^- y Na^+ , al fallar el mecanismo reabsortivo de Cl^- mediado por CFTR (y en lo que se basa el principal procedimiento diagnóstico de esta enfermedad).

10.4 Biopotenciales

10.4.1 Generalidades

Los fenómenos de permeabilidad selectiva de la membrana celular, determinados a su vez por la presencia de bombas y canales iónicos así como por la presencia de iones no permeantes (fundamentalmente aniones proteínicos) en el espacio intracelular, determina la presencia de un potencial eléctrico de membrana que conocemos como **potencial de reposo**, según el cual el interior celular es electronegativo con respecto al exterior (por término medio, -70 mV). Este potencial, como hemos visto, es cercano al potencial de equilibrio del catión K^+ y del anión Cl^- , y muy alejado de los potenciales de equilibrio de los cationes Na^+ y Ca^{2+} . El potencial de equilibrio es el potencial eléctrico que contrarresta exactamente la tendencia difusiva de los iones que marca su diferencia de concentración. Así, el catión K^+ está mucho más concentrado en el interior que en el exterior celular. Este catión tendería a difundir de dentro hacia fuera de no ser porque existe un potencial electronegativo en el interior que contrarresta su tendencia a la salida. Algo parecido, pero de signo contrario, ocurre con el anión Cl^- : al estar mucho más concentrado en el espacio extracelular, su tendencia difusiva hacia dentro queda contrarrestada por el potencial electronegativo del interior celular. En condiciones de reposo, existen canales pasivos a K^+ y Cl^- (canales de goteo, *leakage*) que permiten el paso de estos iones y por tanto el potencial de reposo se aproxima al de equilibrio de estos iones.

Algunas células tienen la capacidad de alterar este potencial en respuesta a estímulos físico-químicos procedentes del exterior, y son las células que conocemos como **excitables**. Entre las mismas tenemos las neuronas del sistema nervioso (central, autónomo y periférico), las células musculares (estriadas, miocárdicas y lisas) y algunas células secretorias. Por otra parte, el fenómeno de excitabilidad no está restringido ni mucho menos a los organismos animales. Se observa también en plantas y en eucariotas unicelulares.

En líneas generales, los biopotenciales se producen por alteraciones selectivas a la permeabilidad iónica mediadas por los correspondientes canales, en respuesta a una gran variedad de estímulos. Por ejemplo, si en un momento dado se incrementa la permeabilidad de la membrana al ion Na^+ por la apertura de canales selectivos hacia este catión, el potencial de reposo se alterará de manera que tenderá al potencial de equilibrio del ion Na^+ , para contrarrestar la tendencia a la difusión del mismo (y que dadas las concentraciones extra- e intracelular favorecería la entrada de éste en la célula). Hemos de tener cuenta que estos eventos, a nivel celular, por mucho que permitan la entrada de un ion, no alteran prácticamente nada las concentraciones intra- o extracelulares del mismo, puesto que afectan a un número de iones muy limitado en comparación con el volumen de ambos medios. Al

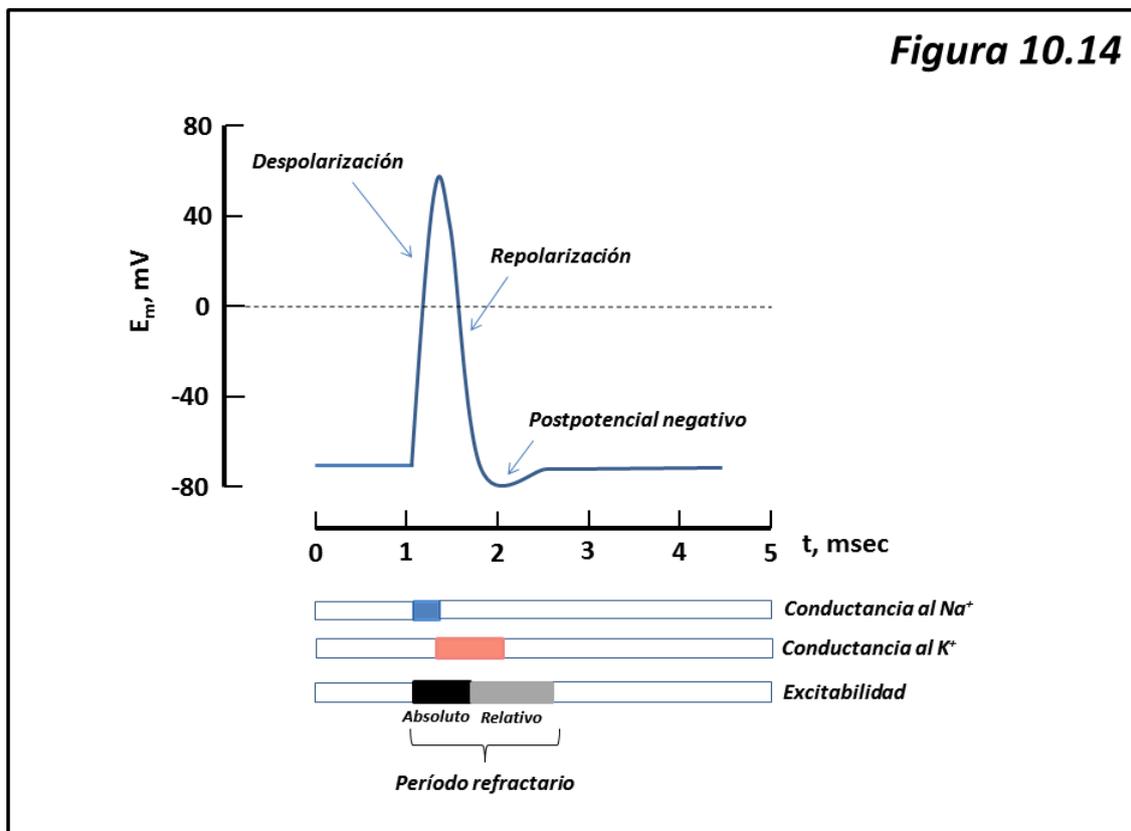
tener lugar esta alteración de la permeabilidad, que hace que la célula “busque” alcanzar el potencial de equilibrio del Na^+ , tendrá lugar una **despolarización** con inversión del potencial (que momentáneamente, y mientras dure la apertura de los canales de Na^+) se hará transitoriamente electropositivo en el interior (la situación contraria al potencial de reposo, y conforme al potencial de equilibrio del Na^+ , ver tabla II).

Entre los biopotenciales estudiaremos el **potencial de acción**, los **potenciales postsinápticos** (excitatorios e inhibitorios, PPSE y PPSI) y los **potenciales marcapaso**.

10.4.2 El Potencial de Acción

10.4.2.1 Concepto y características generales

El potencial de acción es una respuesta estereotipada de corta duración (entre 1 y 100 msec) que se produce en células excitables en respuesta a un estímulo. Consiste en una despolarización con inversión de potencial (el potencial de membrana se hace transitoriamente electropositivo en el interior) seguida de una repolarización que devuelve el potencial de membrana a su valor de reposo (en torno a -70 mV), constituyendo una onda que puede estar seguida por alteraciones menores del potencial de membrana denominadas **postpotenciales** (figura 10.14).



Las principales características del potencial de acción son las siguientes:

1. El estímulo que lo provoca debe alcanzar una cierta magnitud mínima, denominada **umbral**. En el caso de estímulos eléctricos (los más usuales), la señal desencadenante es un potencial

despolarizador aplicado a la célula, que debe alcanzar una determinada magnitud (umbral) que depende de cada tipo celular.

2. Una vez alcanzado el umbral, la magnitud y la forma del potencial de acción es siempre la misma independientemente de la intensidad del estímulo. Esto se conoce como respuesta **“todo o nada”**. En otras palabras, el potencial de acción no es aditivo.

3. Iniciado el potencial de acción en una zona limitada de la célula, se propaga como una onda que recorre toda su extensión. En el caso de neuronas, el potencial de acción se propaga a lo largo del axón hasta llegar a los terminales sinápticos. La velocidad de propagación depende de varios factores (como el radio del axón o la presencia de una vaina de mielina). Una vez llegado a los terminales sinápticos, en la mayoría de los casos, el potencial de acción determina la liberación de un neurotransmisor a partir de la exocitosis de vesículas sinápticas.

4. La liberación de neurotransmisor al espacio intersináptico hace que éste interactúe con receptores en la célula postsináptica, determinando la aparición de un **potencial postsináptico** que en unos casos es **excitatorio** y en otros **inhibitorio** (ver secciones 10.4.3, 10.3.4.1 y 10.3.4.2) y que no debe ser confundido con el potencial de acción (ver sección 10.4.3).

5. En algunos casos (sinapsis eléctricas) el potencial de acción pasa directamente a la célula postsináptica sin necesidad de liberación de neurotransmisor, por el mero contacto intercelular.

6. Durante el potencial de acción, la célula se hace completamente insensible a nuevos estímulos; es el llamado **período refractario absoluto**. Un poco más adelante, la célula recupera su sensibilidad, pero durante un tiempo el umbral de excitación aparece elevado respecto al nivel basal: es el **período refractario relativo**.

7. Con mucha frecuencia, si el estímulo persiste, la célula excitable responde con una descarga repetitiva de potenciales de acción, cuya frecuencia depende de la duración del período refractario.

8. En el caso de las células musculares, el potencial de acción iniciado en la placa motora (la sinapsis neuromuscular) se propaga hacia el interior de la célula a través de una porción especializada del retículo endoplásmico denominada sistema T² (transversal) de modo que la excitación alcanza en un corto espacio de tiempo a toda la célula, permitiendo la sincronización de la contracción muscular.

10.4.2.2 Bases iónicas del potencial de acción

Para tener una idea clara de las bases iónicas del potencial de acción, conviene tener presente la ecuación de Goldman-Hodgkin-Katz (GHK) que vimos en la sección 10.1.4 de este mismo capítulo:

$$E_m = \frac{RT}{F} \ln \left(\frac{P_{Na^+}[Na^+]_E + P_{K^+}[K^+]_E + P_{Cl^-}[Cl^-]_I}{P_{Na^+}[Na^+]_I + P_{K^+}[K^+]_I + P_{Cl^-}[Cl^-]_E} \right)$$

que relaciona el potencial de membrana E_m con las permeabilidades a los distintos iones y sus concentraciones intra- y extracelulares.

² El retículo endoplásmico de las células musculares (retículo sarcoplásmico) aparece diferenciado en dos sistemas: Uno es el sistema L (longitudinal) cuyas cisternas corren paralelas a los filamentos de la sarcómera (fibras de actina y miosina), y que está encargado del almacenamiento de Ca^{2+} ; otro es el sistema T (transversal), organizado perpendicularmente a los filamentos de la sarcómera, y cuya función es la propagación del potencial de acción hacia el interior de la célula.

Asimismo, hay que tener en cuenta que las concentraciones intra- y extracelular de los iones permanecen constantes dado que el potencial de acción es algo que afecta a una pequeña parte de la membrana, muy pequeña en comparación con la magnitud de los medios intra- y extracelular. Consideraremos que en el potencial de acción lo único que varía son las distintas permeabilidades a los iones, fundamentalmente al Na^+ y al K^+ .

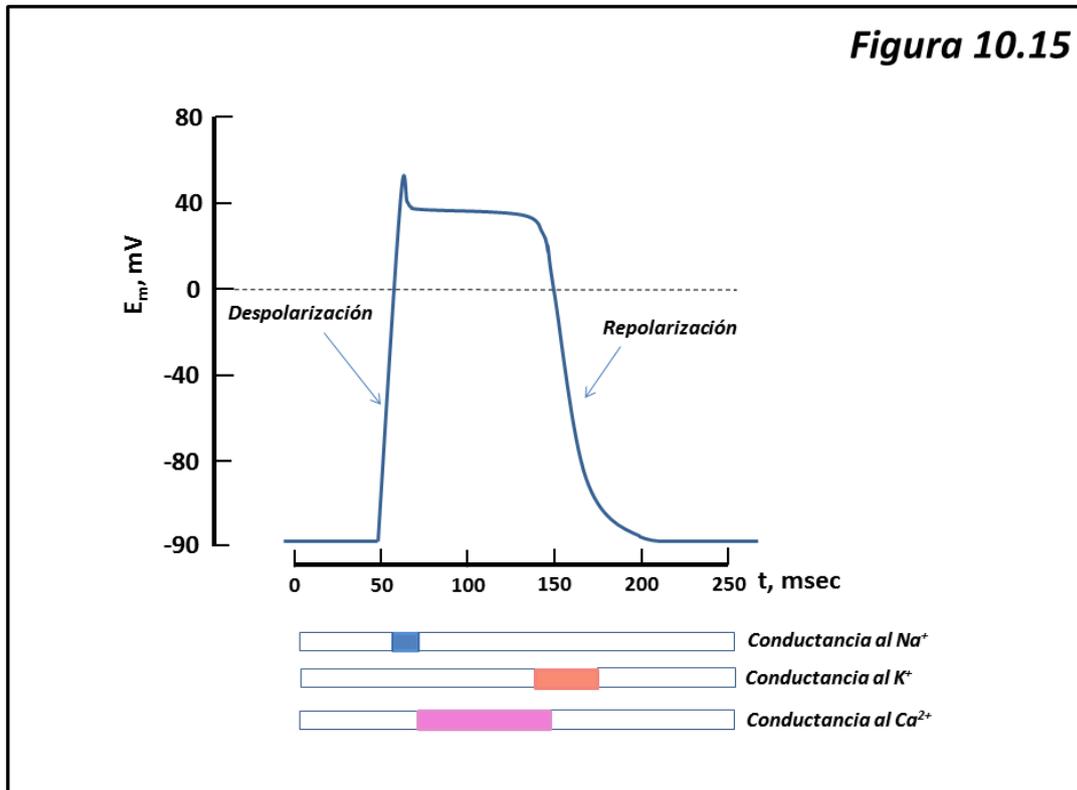
En estado de reposo, la membrana de la célula excitable es ligeramente permeable al ion K^+ y al ion Cl^- . Esto se debe a la existencia de canales pasivos (no regulados) que permiten el paso de estos iones, y que reciben el nombre de canales de “pérdida” o “goteo” (ingl. *leakage channels*). Por esta razón, el potencial de reposo celular se aproxima bastante a los potenciales de equilibrio de ambos iones. Ahora bien, en el potencial de acción nos interesan únicamente los iones Na^+ y K^+ (y en algunos casos, como veremos más adelante, también es importante el ion Ca^{2+}).

Si el estímulo supera el umbral, tiene lugar la activación de los canales de sodio activados por voltaje que hemos visto en la sección 10.3.3.1. Estos canales (NaV) están en el estado que llamábamos **desactivado**. Cada canal tiene una cierta probabilidad de abrirse (pasando al estado activado) ante una despolarización; y esta probabilidad es tanto más grande cuanto más intensa es la despolarización. Por lo tanto, cuando se supera el umbral, la activación de los canales de sodio tiene lugar con una dinámica exponencial determinada por una reacción en cadena. Cuando esto ocurre, la permeabilidad P_{Na^+} se hace órdenes de magnitud mayor que la de los otros iones, y en la ecuación GHK los términos relativos a la concentración de Na^+ se hacen absolutamente predominantes, pudiendo desprejarse los de los otros iones. Se produce entonces una entrada masiva de iones Na^+ hacia el espacio intracelular. Con ello el potencial de membrana tiende a hacerse igual al potencial de equilibrio del Na^+ , que es electropositivo. La dinámica exponencial de apertura de los canales NaV hace que la fase ascendente (**despolarización**) del potencial de acción sea muy rápida. Pero al hacerse positivo el potencial de membrana, los canales NaV van pasando al estado **inactivado** (con la misma dinámica exponencial con que se activaron) al tiempo que se activan los canales de K^+ dependientes de voltaje (sección 10.3.3.2); con ello la permeabilidad del Na^+ cae a cero mientras que la del K^+ aumenta órdenes de magnitud con respecto a la de los demás iones, lo que provoca una salida masiva de iones K^+ hacia el espacio extracelular. Así el potencial de membrana tenderá al potencial de equilibrio del K^+ (dado que en la ecuación GHK predominarán los términos que contengan P_{K^+}). Este fenómeno tiene lugar también con una dinámica exponencial, de manera que el potencial de membrana tiende entonces rápidamente al de equilibrio del ion K^+ , provocando una rápida **repolarización** (fase descendente). Por lo general, esta repolarización conduce a un potencial de membrana ligeramente más electronegativo que el de reposo (**postpotencial negativo**) que coincide con el período refractario relativo. La situación vuelve al estado basal (si no hay nuevos estímulos) gracias a la acción de la bomba Na^+/K^+ . Igualmente, los canales pasan del estado inactivado al estado desactivado, con lo cual vuelven a ser susceptibles de activación por un nuevo estímulo.

El potencial de acción así descrito es el que tiene lugar en las neuronas. En las células musculares y miocárdicas, el potencial de acción está determinado no sólo por los canales de Na^+ y K^+ , sino también por los canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje (canales CaV1, canales dihidropiridina). La forma del potencial de acción miocárdico es distinta a la del neuronal, presentando una meseta que puede durar hasta 200 msec o incluso más (**figura 10.15**). Nótese la diferencia en la escala temporal en las figuras 10.14 y 10.15.

La secuencia de eventos es la siguiente: la despolarización iniciada por la apertura de los canales de Na^+ conduce a la apertura de los canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje, con entrada masiva de este ion hacia el interior celular. El potencial de equilibrio del Ca^{2+} es también electropositivo respecto al exterior. La apertura de los canales CaV1 es más lenta y

más persistente que la de los canales NaV; aun cuando éstos se inactivan de la misma manera que en las neuronas, la activación de los CaV1 persiste durante algún tiempo (dando origen a la meseta del potencial de acción miocárdico). La repolarización tiene lugar gracias a la activación de los canales de K⁺ y la consiguiente salida masiva de este ion, de la misma manera que en las neuronas.



10.4.2.3 Bases moleculares del potencial de acción

Recordaremos aquí algunos datos estructurales sobre los canales de sodio y de potasio dependientes de voltaje, de los cuales depende el potencial de acción.

Ya hemos visto (sección 10.3.3.1) la estructura general del canal de sodio dependiente de voltaje (NaV), aunque no se dispone aún de estructuras tridimensionales del mismo. Desde el punto de vista molecular, el canal de sodio está constituido por una proteína transmembrana grande con cuatro dominios homólogos. Cada uno de los dominios presenta seis heliocoides transmembrana, denominados S1 – S6. El elemento sensible al voltaje es el helicoide S4, de secuencia muy conservada, con residuos electropositivos (Lys o Arg) colocados cada cuatro posiciones dentro del helicoide. Ante una despolarización, S4 se desplaza hacia el lado extracelular del complejo induciendo un cambio conformacional que abre el poro central. Éste, a través de los segmentos S5 y S6 de cada dominio determina la selectividad del canal.

En cuanto al canal de K⁺ sensible a voltaje (KV), cuya estructura ya vimos en la sección 10.3.3.2, y del cual se conoce la estructura tridimensional, se trata de un tetrámero, siendo la subunidad α el principal componente del mismo, de modo que se constituye un anillo transmembrana

formado por estas cuatro subunidades en torno al poro central. En cada una hay seis helicoides transmembrana.

La selectividad de los canales KV por el ion K^+ implica el agua de solvatación del ion. En general, todos los iones en un medio acuoso aparecen rodeados de moléculas de agua. El ingreso del K^+ tiene lugar cuando los grupos moleculares presentes en la entrada al canal retiran la capa de solvatación, quedando el ion “desnudo”; los aminoácidos que constituyen el poro “solvatan” por así decirlo, al ion, que puede así atravesar el poro, recuperando el agua al salir del mismo. El ion Na^+ , que en principio podría también atravesar el canal, no lo hace puesto que al ser más pequeño el canal KV no le retira el agua de solvatación y por tanto no entra en el poro. La selectividad está ligada a la secuencia TVGYG que presta sus grupos carbonilo para sustituir al agua de solvatación. Este filtro de selectividad puede acomodar hasta cuatro iones K^+ .

En el potencial de acción muscular se activan también los canales de Ca^{2+} dependiente de voltaje (CaV). Éstos están presentes en el sistema L del retículo sarcoplásmico, e íntimamente ligados a los receptores rianodina (ver sección 10.3.3.3). La despolarización produce la apertura de los canales CaV de una manera parecida a los canales NaV, permitiendo un influjo de Ca^{2+} hacia el citoplasma. El Ca^{2+} activa a su vez a los receptores rianodina, produciendo el fenómeno de liberación de Ca^{2+} inducida por Ca^{2+} (CICR, *Calcium-induced calcium release*). El Ca^{2+} liberado en el citoplasma interacciona con la troponina C provocando la contracción muscular.

10.4.3 Potenciales postsinápticos

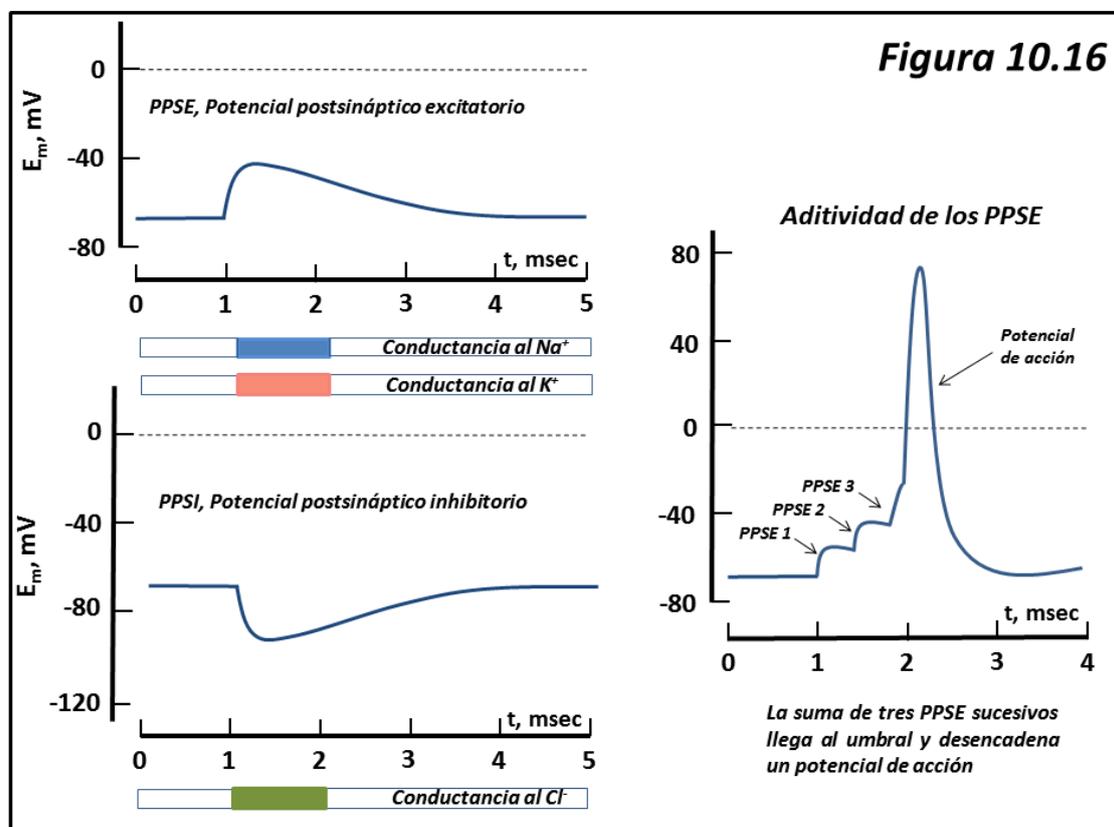
10.4.3.1 Concepto y Generalidades

La sinapsis es la estructura a través de la cual una neurona se comunica con otra (o bien una neurona motora con la fibra muscular inervada por la misma). En líneas generales, dentro de la sinapsis se distinguen la célula presináptica, el espacio intersináptico y la célula postsináptica. En la sinapsis, la célula presináptica presenta los botones sinápticos, en cuyo citoplasma están alojadas las vesículas sinápticas. Estas vesículas están rodeadas de una membrana y en su interior contienen el neurotransmisor, una molécula que al ser liberada interaccionará con el correspondiente receptor localizado en la membrana de la célula postsináptica. Cuando un potencial de acción en la célula presináptica llega a los botones sinápticos terminales, tiene lugar una entrada de Ca^{2+} mediada por canales CaV1. El Ca^{2+} provoca entonces la exocitosis de las vesículas sinápticas, con lo cual el neurotransmisor se libera al espacio intersináptico e interacciona con los receptores presentes en la membrana postsináptica, que en muchas ocasiones consisten en canales iónicos controlados por ligando. En este capítulo hemos estudiado dos de ellos: el receptor colinérgico nicotínico y el receptor GABA_A.

La interacción del neurotransmisor con el receptor provoca un flujo iónico en el canal que a su vez induce una variación local en el potencial de membrana de la célula postsináptica, denominada **potencial postsináptico**. Si esta variación es una **despolarización**, se trata de un **potencial postsináptico excitatorio** (PPSE, ingl. *EPSP*). Si es una **hiperpolarización**, estaremos ante un **potencial postsináptico inhibitorio** (PPSI, ingl. *IPSP*). En la **figura 10.16** podemos ver ejemplos de ambos.

Los potenciales postsinápticos tienen importantes diferencias con el potencial de acción:

1. No tienen comportamiento umbral. Su magnitud es, en líneas generales, proporcional a la intensidad del estímulo.
2. Tampoco tienen comportamiento "todo o nada". Son aditivos; esto es, dos estímulos aplicados simultáneamente dan lugar a una respuesta igual a la suma de la producida por los dos estímulos por separado. Asimismo, los potenciales inhibitorios se restan de los excitatorios en el caso de producirse al mismo tiempo.
3. Los potenciales sinápticos no se propagan; se trata de variaciones a nivel local, en torno a la propia sinapsis. Pero si el potencial excitatorio (o, con mayor frecuencia, una suma de potenciales excitatorios provocados en una misma sinapsis) es suficientemente amplio como para superar el umbral, desencadenan en la célula postsináptica un potencial de acción.



10.4.3.2 Bases iónicas y moleculares de los potenciales sinápticos

La misma ecuación de Goldman-Hodgkin-Katz que veíamos a propósito del potencial de acción nos vale para interpretar los movimientos iónicos que tienen lugar en los potenciales sinápticos.

En este capítulo se han descrito dos ejemplos de receptores postsinápticos: el receptor colinérgico nicotínico y el receptor $GABA_A$. En el caso del primero, la interacción de acetilcolina (o cualquier otro agonista) con el receptor abre un canal permeable a los cationes Na^+ y K^+ . De esta manera Na^+ tiende a entrar y K^+ a salir de la célula, aunque el flujo neto de iones es hacia

dentro (posiblemente por el menor tamaño del ion Na^+ respecto al K^+). Al aumentar las permeabilidades a ambos cationes, pero preferentemente al Na^+ , el potencial de membrana tiende a la despolarización, produciendo un PPSE. Si esta despolarización fuera suficientemente intensa, podría desencadenar en la célula un potencial de acción (en el caso de activar un número suficiente de canales NaV). Aunque la despolarización no tuviera la intensidad suficiente para generar un potencial de acción, la presencia de un PPSE eleva la probabilidad de que otros estímulos lo provoquen (p.e., otros PPSE dado su carácter aditivo). Dado que algunos receptores nicotínicos son asimismo permeables al ion Ca^{2+} , se puede provocar la entrada de éste hacia el interior celular, desencadenando acciones ligadas a este ion (liberación de vesículas sinápticas, activación de cascadas enzimáticas, etc.).

Además de la sinapsis colinérgica nicotínica, otras sinapsis que muestran típicamente PPSE's son las mediadas por el aminoácido **glutamato**, que es el principal neurotransmisor excitatorio en el sistema nervioso central.

En el receptor GABA_A , la interacción con el neurotransmisor GABA (ácido γ -aminobutírico, o más correctamente, γ -aminobutirato) provoca la apertura de un canal selectivo a Cl^- . Al aumentar la permeabilidad a éste, el potencial de membrana tiende a la hiperpolarización, dando lugar a un PPSI hiperpolarizante (el potencial de equilibrio del ion Cl^- está en torno a los -90 mV). Con ello disminuye la probabilidad de producirse un potencial de acción ante otros estímulos. En el sistema nervioso central se debe considerar que las neuronas responden a un conjunto de PPSE's y PPSI's que inciden sobre la misma célula de forma más o menos simultánea.

El receptor GABA_A es el principal elemento inhibitorio en el sistema nervioso central. De ahí la importancia de las acciones farmacológicas sobre el mismo, que hemos visto anteriormente. Un receptor parecido es el receptor al aminoácido glicina, que es el principal neurotransmisor inhibitorio a nivel de la médula espinal.

10.4.4 Potenciales marcapaso

Muchas actividades fisiológicas son de naturaleza rítmica, producidas de forma inconsciente y caracterizadas, como todo fenómeno oscilatorio, por una amplitud y una frecuencia. De todas ellas, quizá la mejor estudiada sea la generación del ritmo cardíaco, pero no es ni mucho menos la única. Los diversos ritmos circadianos³, el ritmo respiratorio, los ritmos digestivos, los ritmos del electroencefalograma, etc., son otros tantos ejemplos de fenómenos rítmicos.

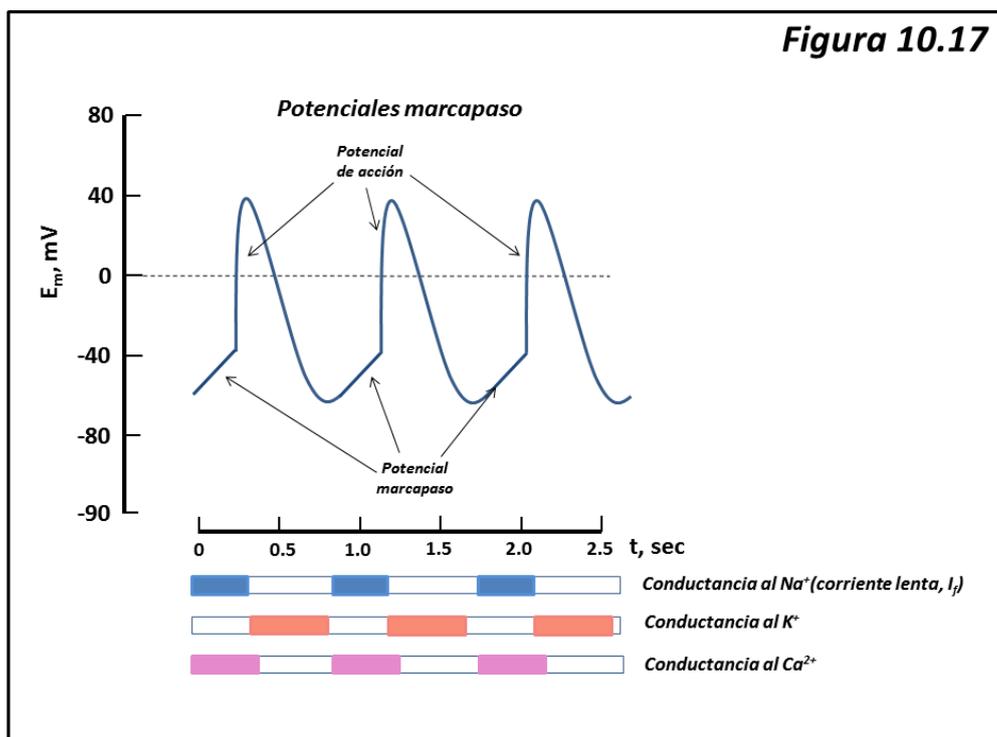
En el caso del corazón, su actividad rítmica (técnicamente, *cronotropismo*) se origina en un conjunto de células musculares modificadas situadas en la aurícula derecha, cercanas a la entrada de la vena cava superior y del seno coronario, que recibe el nombre de **nódulo sinoatrial** (o también nódulo sino-auricular, nódulo SA). Este nódulo constituye el **marcapasos** normal del corazón; su actividad eléctrica rítmica determina la despolarización de las células musculares miocárdicas, a través de un sistema de conducción del impulso cuya descripción puede encontrarse en manuales de Fisiología. El nódulo SA, por otra parte, no es el único marcapasos del corazón; cuando por alguna circunstancia deja de funcionar normalmente, otras estructuras del sistema de conducción (como el nódulo atrio-ventricular o nódulo AV)

³ Se denominan ritmos *circadianos* aquellos cuyo período es de aproximadamente 24 horas (en torno a un día, Lat. *circa dies*). Por ejemplo, la alternancia vigilia/sueño.

pueden asumir la función de marcapasos. En lo que sigue nos referiremos únicamente al nódulo SA.

La actividad eléctrica del marcapasos cardíaco se presenta en la **figura 10.17**.

Consiste en una descarga rítmica de potenciales de acción provocados por una despolarización previa, más lenta que el potencial de acción, y que recibe el nombre de **potencial marcapasos**. Podemos, pues, considerar la actividad rítmica del corazón como una sucesión rítmica de potenciales marcapaso que llegan a superar, cada uno de ellos en un momento dado el umbral de excitación y provocan el potencial de acción.



Lo realmente característico es que el ritmo surge gracias a que las células se despolarizan rítmicamente de forma espontánea, sin mediar ningún factor desencadenante (aunque, como veremos, la frecuencia cardíaca puede modificarse por numerosas influencias).

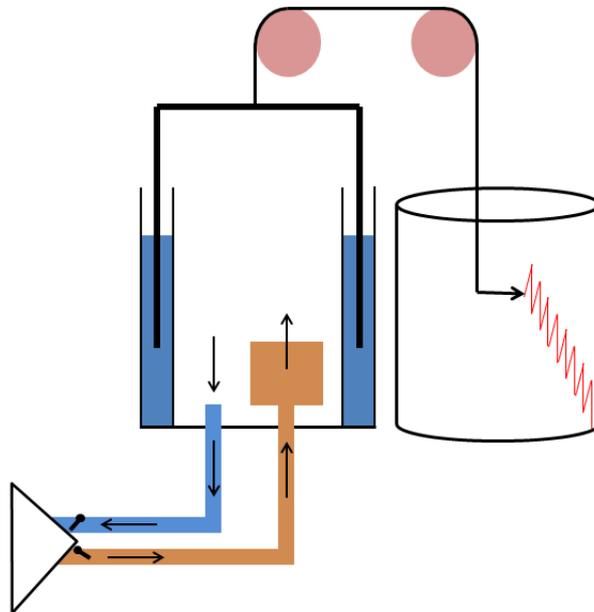
La actividad rítmica del corazón tiene que ver con (a) la pérdida progresiva y rítmica de permeabilidad de los canales de goteo de K^+ y (b) con determinados canales iónicos que se activan por hiperpolarización y que dependen en su actividad de la presencia de cAMP (AMP cíclico). Estos canales (llamados I_f) permiten el paso de sodio, dando lugar a una corriente llamada *funny current*, y se acompaña asimismo de una cierta entrada de Ca^{2+} . Se produce así una despolarización relativamente lenta que al llegar a determinado nivel activa a los canales de Ca^{2+} produciéndose un potencial de acción. Esta despolarización lenta constituye el **potencial marcapasos**. A diferencia de otras células, en el nódulo SA (y en el AV) no hay canales rápidos de Na^+ ; la despolarización del potencial de acción se debe a la entrada de Ca^{2+} .

El cAMP se produce por acción de la adenilato ciclasa que a su vez está activada por la estimulación simpática (cuyos neurotransmisores postganglionares son catecolaminas). Este nucleótido permite la activación de los canales I_f a voltajes menos electronegativos con lo cual el resultado es una aceleración del ritmo cardíaco (taquicardia). Hay también influencias

hormonales que aumentan el cAMP, como adrenalina, noradrenalina y otros compuestos simpatomiméticos.

Por el contrario, la acetilcolina liberada por las terminaciones del nervio vago (parasimpático) induce a través de una cascada de señalización un descenso en la concentración intracelular de cAMP, lo que se traduce en un enlentecimiento del ritmo cardíaco (bradicardia).

CAPÍTULO 11: Metabolismo basal



11.1 Introducción

11.1.1 Definición

El metabolismo, según hemos visto (cap.2), es un *estado estacionario consumidor de energía*. De hecho, hay un estado estacionario porque hay consumo de energía; de no haberlo, estaríamos ante un *equilibrio* (que en los organismos vivos equivale a la muerte). Esta energía se emplea en el mantenimiento de las funciones vitales, en la actividad física y mental, en la respuesta a las circunstancias variables del entorno, etc.; es decir, en todas aquellas funciones que caracterizan la vida animal; y que en último término, dependen todas ellas del mantenimiento del metabolismo.

Los organismos heterótrofos (como el organismo humano, o en general, el organismo animal) reciben toda su energía de la dieta. Los componentes de ésta deben tener un apreciable grado de reducción química, lo cual se obtiene en último término a partir de otros organismos capaces de reducir compuestos como el CO_2 (organismos autótrofos) a través de las correspondientes cadenas tróficas.

En una persona normal, la cantidad de energía ingresada con la dieta debe cubrir las necesidades mínimas del metabolismo más las de todas aquellas funciones que el individuo desarrolle en su actividad (trabajo, ocio, comunicación, etc.). A éstas hay que añadir las derivadas de circunstancias concretas a lo largo del ciclo vital, como crecimiento, embarazo y lactancia. Esta energía puede dividirse en cuatro componentes:

1. **Metabolismo basal (MB)**: energía consumida en condiciones basales (ver más adelante) que contribuye normalmente a un 50-80 % de la energía consumida en una persona de actividad fundamentalmente sedentaria. Representa el requerimiento energético para mantener estrictamente la actividad vital. Nótese que no se trata de un *mínimo*. El MB, como veremos, se refiere al estado de vigilia; durante el sueño, se pueden obtener valores energéticos menores que los que corresponden al MB.

2. **Energía ligada a la actividad física**: energía consumida como consecuencia de la actividad física (fundamentalmente muscular). En una persona con actividad sedentaria, viene a representar un 20 % de la energía total. Como es obvio, este componente varía con el nivel de actividad; un ejercicio muscular muy intenso puede multiplicar por 50 este componente.

3. **Efecto térmico de los alimentos**: es la energía utilizada en la asimilación de los alimentos. Recibe también el nombre de **Acción Dinámico-Específica (ADE)** de los alimentos. Contribuye en condiciones normales a un 5-10 % de la energía consumida. Este factor es particularmente importante en la digestión de proteínas; una alimentación rica en proteínas (o exclusivamente a base de proteínas) puede elevar el consumo energético hasta un 30 % del total.

4. **Circunstancias especiales del ciclo vital**: en individuos jóvenes, el crecimiento implica síntesis de ácidos nucleicos y síntesis de proteína que suponen un apreciable consumo de energía; hemos visto, por ejemplo, que la incorporación de un solo nucleótido a una cadena nascente de DNA o RNA supone un enlace rico en energía (dos si consideramos la hidrólisis del pirofosfato producido); téngase en cuenta que la síntesis replicativa de DNA, supone millones de nucleótidos incorporados. La síntesis de proteína, por su parte, supone un consumo medio de cuatro enlaces ricos en energía por cada aminoácido incorporado. El embarazo y la lactancia determinan también necesidades energéticas extra.

Con el nombre de **Metabolismo Basal (MB)** entendemos, pues, el consumo de energía que un organismo necesita para mantener sus estrictas funciones vitales: función y reemplazamiento celular; síntesis de todos los componentes metabólicos; mantenimiento de la temperatura corporal; trabajo mecánico de los músculos cardíaco y respiratorios; función cerebral y otras. El MB se expresa como energía consumida en la unidad de tiempo (kJ/hora, kJ/día, kcal/hora o kcal/día). Por lo tanto, esta definición excluye cualquier influencia del entorno (calor, frío, ejercicio físico o efecto de los alimentos o de fármacos), lo cual hace bastante restrictivas las condiciones para su estimación correcta. Estas condiciones (condiciones basales) son las siguientes:

1. El sujeto debe estar en estado de completo reposo, tanto antes como durante el proceso de medición. Debe estar en decúbito supino y totalmente despierto.
2. El sujeto debe haber sido sometido a un ayuno previo mínimo de 12 horas, que es lo que se conoce como estado postabsortivo. De esta manera eliminamos de la medición posibles sobrestimaciones del MB debidas a la acción dinámico-específica de los alimentos.
3. El entorno de la medición ha de ser térmicamente neutral (22-26 °C) de manera que el organismo no presente efectos de termorregulación.

4. El sujeto no debe experimentar ningún tipo de *stress* emocional y debe estar familiarizado con el equipamiento utilizado en la medición. Por ello suele ser conveniente hacer varias mediciones sobre el mismo individuo en una misma serie.

11.2 Medida del Metabolismo Basal: Calorimetría directa

La energía producida por un organismo termina siempre disipándose en forma de calor. Por lo tanto, la forma obvia de medición sería practicar una calorimetría directa sobre el organismo en su conjunto. Las primeras mediciones calorimétricas en animales se deben a los estudios seminales de **Lavoisier** a finales del siglo XVIII, quien midió el calor producido por ratones en calorímetros diseñados expresamente, basados en la fusión de una capa de hielo que rodeaba la cámara calorimétrica. Aunque obviamente esta medición no representaba el MB (el ambiente no era térmicamente neutral), estos estudios sirvieron para que este autor descubriera la equivalencia entre respiración y combustión, y sentara las bases para estudios metabólicos posteriores.

Este procedimiento (**calorimetría directa**) aplicado al organismo humano, supone unas instalaciones y una instrumentación muy complicadas, lo cual hace que el mismo sea impracticable en estudios metabólicos masivos y aún menos en estudios clínicos. Afortunadamente, los estudios de **Atwater** y **Benedict** a principios del siglo XX demostraron una equivalencia prácticamente total entre las mediciones directas, por una parte, y el cálculo de la producción calórica basada en mediciones de consumo de O₂ y producción de CO₂ (**calorimetría indirecta**), mucho más fáciles de obtener a gran escala, en muy diversas condiciones fisiológicas e incluso a la cabecera del paciente.

Antes de pasar a discutir ambos métodos, conviene dejar claro que la unidad de medida SI de la energía es el joule o julio (J, newton.metro), o su múltiplo kilojoule (kJ = 10³ J). Ahora bien, en los estudios metabólicos humanos, relacionados muy frecuentemente con la nutrición, se emplea ampliamente la kilocaloría (kcal = 10³ cal = 4.17 kJ). A este respecto, conviene señalar una confusión habitual en las mediciones metabólicas. Durante algún tiempo, los estudios metabólicos distinguían entre “caloría pequeña” o *cal* (con minúscula), que es la caloría propiamente dicha, y “caloría grande” o *Cal* (con mayúscula), siendo esta última equivalente a kilocaloría (kcal). Esta nomenclatura no debe ser utilizada en absoluto, por las confusiones a las que induce. Aun así, podemos ver que el contenido calórico de alimentos (que aparecen preceptivamente en el etiquetado de alimentos elaborados) se expresa algunas veces como Cal. Recuérdese que Cal (con mayúscula) es lo mismo que kcal, y que esta última es la unidad, junto con kJ, que realmente ha de ser utilizada.

Como se ha señalado la calorimetría directa aplicada al organismo humano exige un equipamiento muy complicado. La cámara debe estar construida de tal forma que impida cualquier pérdida térmica hacia el exterior. El calor producido por el sujeto experimental se recoge sobre agua circulando en un circuito cerrado, cuyo flujo y cuya temperatura han de ser medidos con una extraordinaria precisión. El calor requerido para la evaporación del agua en el aire espirado debe asimismo ser tenido en cuenta; para ello se recoge el agua producida sobre H₂SO₄. Esta descripción somera nos muestra las dificultades de llevar a cabo una calorimetría directa. Esto hace que solamente haya sido empleada en experimentos *ad hoc*, nunca como objeto de estudios estadísticos amplios o de determinaciones clínicas.

11.3 Medida del Metabolismo Basal: Calorimetría indirecta

Consiste en la estimación de la producción energética del organismo mediante la medida del consumo de O₂ y de la producción de CO₂ en la unidad de tiempo. No olvidemos que estamos ante un organismo (el humano) cuya producción energética es esencialmente aeróbica. Siendo los componentes principales de la dieta carbohidratos, lípidos y proteínas, interesa en primer lugar conocer el valor calórico de los alimentos para luego relacionar dicho valor con el consumo de O₂ y la evolución de CO₂ producidos en su degradación metabólica. Todos estos valores (valor calórico, consumo de O₂ y producción de CO₂) varían para cada tipo de componente alimentario. Dado que la dieta es normalmente una mezcla de componentes, se hace necesaria una estimación de la contribución de cada uno (carbohidrato, lípido o proteína) al metabolismo energético. Esta estimación se fundamenta habitualmente en el llamado **Cociente Respiratorio (CR)**, que es

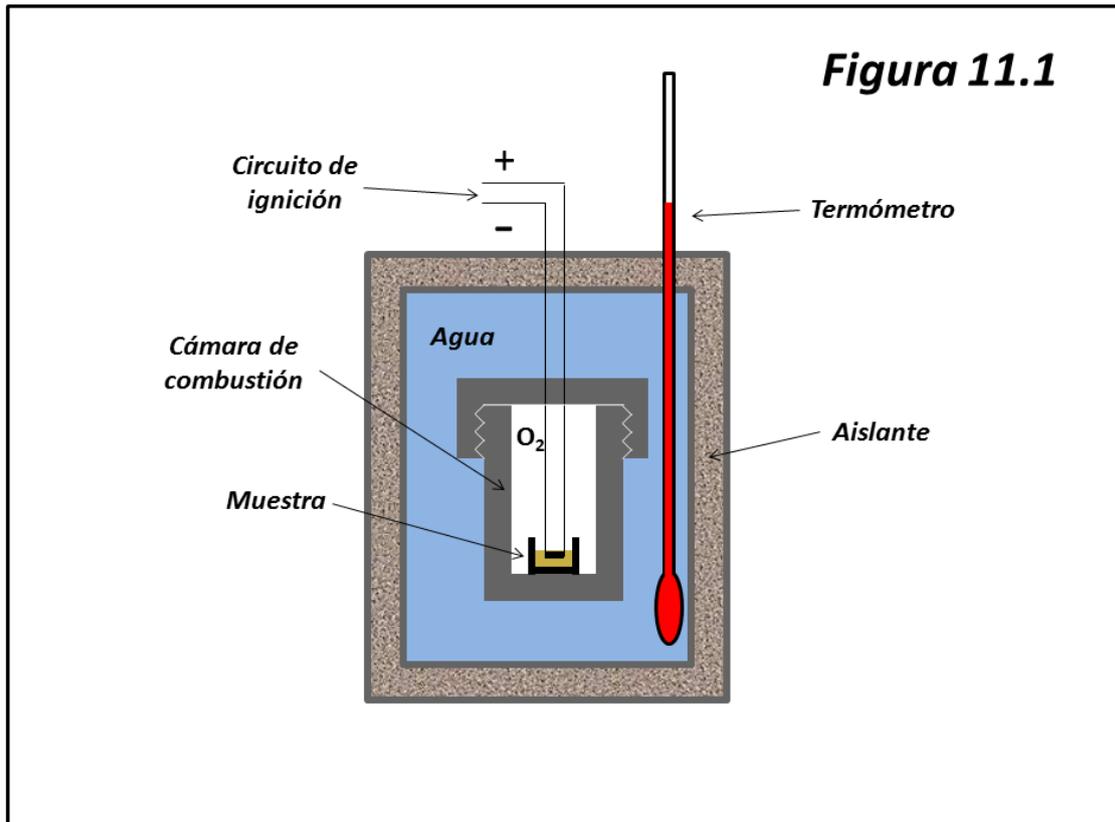
$$CR = \frac{\text{Cantidad de CO}_2 \text{ producida}}{\text{Cantidad de O}_2 \text{ consumida}}$$

Referidas ambas a una misma duración temporal, y expresadas, por supuesto, en la mismas unidades de medida. Nótese que se trata de un cociente adimensional.

El proceso de medición, por tanto, consiste en (1) Medida del O₂ consumido y del CO₂ producido en la unidad de tiempo; (2) Determinación del CR; (3) Estimación de la cantidad de energía producida por 1L de O₂ para el CR medido; (4) Cálculo de la energía producida a partir del consumo de O₂ (expresado en L) y su valor energético determinado en (3). Como veremos, este proceso se complica debido a las especiales características de la combustión aeróbica de las proteínas; ahora bien, admite asimismo simplificaciones sustanciales que lo hacen altamente idóneo para todo tipo de estudios, bien sean básicos o clínicos.

11.3.1 Valor calórico de los alimentos

El valor calórico de los alimentos se puede medir mediante la llamada **bomba calorimétrica** (figura 11.1). Se trata de una cámara cerrada en la que se deposita una cantidad conocida de la muestra que se quiere medir. La cámara se llena con oxígeno (O₂) a presión (20 atm) y se induce la combustión de la muestra mediante un electrodo introducido en la misma conectado a un circuito eléctrico. El calor producido se mide por la variación de temperatura de una camisa de agua que rodea a la cámara, estando todo el sistema aislado térmicamente del entorno.



Aparecen en la tabla I algunos valores calóricos característicos de los alimentos, expresados en kilojoules/gramo (kJ.g^{-1}) o kilocalorías/gramo (kcal.g^{-1}).

Tabla I

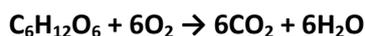
Valores calóricos típicos de alimentos

Alimento	kJ.g^{-1}	kcal.g^{-1}
Mezcla de carbohidratos	17.1	4.1
Mezcla de lípidos	38.8	9.3
Mezcla de proteínas	17.1	4.1
Alcohol etílico	29.6	7.1

Puede apreciarse que el valor calórico de los alimentos es mayor cuanto mayor sea el grado de reducción de los mismos. Así, el valor calórico de los lípidos es más del doble del de carbohidratos o proteínas; por su parte, el alcohol etílico tiene un alto valor calórico, intermedio entre lípidos, por una parte, y carbohidratos o proteínas, por otra.

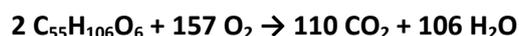
11.3.2 Cálculo del equivalente calórico del oxígeno consumido

Consideremos la combustión aeróbica de glucosa



Este proceso libera $2804.2 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ($673 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$). Al tiempo, se consumen 6 moles de O_2 y se producen 6 moles de CO_2 . El cociente respiratorio para la glucosa será, pues $\text{CR} = 6/6 = 1$. Teniendo en cuenta que se consumen 6 moles de O_2 ($= 6 \times 22.4 \text{ L} = 134.4 \text{ L}$), la energía producida ante el consumo de 1 L de O_2 será de $2804.2/134.4 = 20.9 \text{ kJ}\cdot\text{L}^{-1}$ o lo que es lo mismo, $5.01 \text{ kcal}\cdot\text{L}^{-1}$, para un cociente respiratorio, $\text{CR} = 1$.

Veamos ahora la combustión aeróbica de un triacilglicerol (diestearil palmitil glicerol):



Esta combustión libera $68137.5 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ($16353 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$). En ella se consumen 157 moles de O_2 y se liberan 110 moles de CO_2 . El cociente respiratorio será, pues, $\text{CR} = 110/157 = 0.70$. Si en la combustión de 2 moles del triacilglicerol se consumen 157 moles de O_2 ($= 157 \times 22.4 = 3516.8 \text{ L}$), la energía producida por el consumo de 1 L de O_2 será de $68137.5/3516.8 = 19.4 \text{ kJ}\cdot\text{L}^{-1}$ o su equivalente $4.65 \text{ kcal}\cdot\text{L}^{-1}$, para un cociente respiratorio, $\text{CR} = 0.70$

Olvidemos por el momento la presencia de proteínas en la dieta. Las cifras obtenidas para el valor calórico de un litro de oxígeno son $5.01 \text{ kcal}\cdot\text{L}^{-1}$ en el caso una dieta hidrocarbonada pura, con un CR de 1.0, y $4.65 \text{ kcal}\cdot\text{L}^{-1}$ en el caso de una dieta lipídica pura, con un CR de 0.70. Estas cifras, que representan ambos extremos (dieta hidrocarbonada pura o lipídica pura) nos permiten, conocido el CR , calcular la producción calórica correspondiente a un determinado consumo de oxígeno y una determinada producción de CO_2 en dietas mixtas carbohidrato-lípido. La producción calórica para un consumo de O_2 de 1 L aparece en la tabla II, en función del CR de una dieta mixta consistente en carbohidrato y lípido (exenta de proteínas).

Por ejemplo: supongamos que en una sesión de 1 h el sujeto consume 16 L de O_2 y produce 11.8 L de CO_2 . Esto da lugar a un $\text{CR} = 11.8/16 = 0.80$. En la tabla II vemos que a un CR de 0.80 corresponde un valor calórico de $4.8063 \text{ kcal}\cdot\text{L}^{-1}$ ($20.0264 \text{ kJ}\cdot\text{L}^{-1}$). Por tanto, la producción calórica será de $4.8063 \times 16 = 76.90 \text{ kcal}\cdot\text{h}^{-1}$ ($320.42 \text{ kJ}\cdot\text{h}^{-1}$).

Dado que la producción calórica (energética) se expresa en dimensiones de energía/tiempo, podemos igualmente transformar esta cifra en unidades de potencia ($\text{J}\cdot\text{s}^{-1}$, joules/segundos = vatios); y por lo tanto, esta producción calórica corresponde a $400530 \text{ J} / 3600 \text{ s} = 111.26 \text{ W}$.

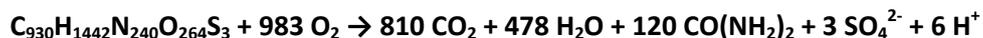
Tabla II

Producción calórica de 1 L de O_2 en función del CR , dieta no proteica

CR	% Carbohidrato	% Lípido	kcal.L ⁻¹	kJ.L ⁻¹
1	100,00	0,00	5,0470	21,0292
0,99	96,67	3,33	5,0350	20,9790
0,98	93,33	6,67	5,0229	20,9289
0,97	90,00	10,00	5,0109	20,8788
0,96	86,67	13,33	4,9989	20,8286
0,95	83,33	16,67	4,9868	20,7785
0,94	80,00	20,00	4,9748	20,7283

0,93	76,67	23,33	4,9628	20,6782
0,92	73,33	26,67	4,9507	20,6281
0,91	70,00	30,00	4,9387	20,5779
0,9	66,67	33,33	4,9267	20,5278
0,89	63,33	36,67	4,9146	20,4776
0,88	60,00	40,00	4,9026	20,4275
0,87	56,67	43,33	4,8906	20,3774
0,86	53,33	46,67	4,8785	20,3272
0,85	50,00	50,00	4,8665	20,2771
0,84	46,67	53,33	4,8545	20,2269
0,83	43,33	56,67	4,8424	20,1768
0,82	40,00	60,00	4,8304	20,1267
0,81	36,67	63,33	4,8184	20,0765
0,8	33,33	66,67	4,8063	20,0264
0,79	30,00	70,00	4,7943	19,9763
0,78	26,67	73,33	4,7823	19,9261
0,77	23,33	76,67	4,7702	19,8760
0,76	20,00	80,00	4,7582	19,8258
0,75	16,67	83,33	4,7462	19,7757
0,74	13,33	86,67	4,7341	19,7256
0,73	10,00	90,00	4,7221	19,6754
0,72	6,67	93,33	4,7101	19,6253
0,71	3,33	96,67	4,6980	19,5751
0,7	0,00	100,00	4,6860	19,5250

Al tener en cuenta la contribución de la proteína los cálculos se hacen algo más complicados. Considerando que el nitrógeno proteico se elimina en la orina en forma de urea, la medición de nitrógeno urinario nos permitirá conocer la contribución de la proteína a las cifras energéticas medidas. Tomando como prototipo la combustión aeróbica de la **κ -caseína humana**, suponiendo que todo el nitrógeno se excreta en forma de urea y todo el azufre se oxida a ion sulfato, tendríamos



con una liberación de 81221.78 kcal.mol⁻¹. La proteína contiene un 16,55 % de N y la oxidación de un mol de la misma produce 3360 g de N urinario; el CR = 810/983 = 0.82. Tendremos por tanto una liberación calórica por L de O₂ de 81221.78/(983 x 22,4) = 3,7 kcal.L⁻¹; a 120 x 2 = 240 átomo-gramos de N urinario (3360 g); y 81221.78/3360 = 24.2 kcal.g⁻¹ de N.

Por tanto, midiendo la cantidad de nitrógeno urinario producido durante el período de medición, podemos calcular la producción energética debida a las proteínas: cada gramo de nitrógeno urinario supone: 6.04 g de proteína metabolizada, 5.4 L de CO₂ producido y 6.55 L de O₂ consumido (Tabla III)

Por supuesto, estos son valores orientativos y teóricos, dado que se refieren a una proteína en concreto (κ -caseína humana) Las mediciones experimentales llevadas a cabo sobre proteínas por diversos autores, referidas a mezclas de proteínas en la dieta, dan valores del CR en torno a 0.8; un contenido medio de la proteína en nitrógeno del 16 %; y los valores energéticos

medios que aparecen en la tabla III en relación al nitrógeno ureico excretado en comparación con los valores teóricos calculados para la combustión aeróbica de la κ -caseína humana.

Tabla III

Valores energéticos por gramo de nitrógeno ureico excretado en orina

	κ -Caseína humana	Valores medios
Proteína metabolizada (g)	6.04	6.25
O₂ consumido (L)	6.55	5.923
CO₂ producido (L)	5.4	4.754
kcal	24.2	26.51
kJ	100.7	110.45

Con estos datos podemos ya hacer el cálculo preciso de la producción calórica de una dieta mixta conteniendo los tres componentes principales: carbohidratos, lípidos y proteínas.

Sea un sujeto que a lo largo de una hora consume 20 L de O₂ y produce 16 L de CO₂. En el mismo período de tiempo excreta en la orina 0.5 g de nitrógeno ureico.

A partir del nitrógeno excretado, tendríamos:

- $0.5 \times 6.25 = 3.13$ g de proteína metabolizada.
- $0.5 \times 26.51 = 13.25$ kcal producidas en la combustión de la proteína
- $0.5 \times 5.923 = 2.961$ L de O₂ consumidos en la combustión de la proteína
- $0.5 \times 4.754 = 2.377$ L de CO₂ producidos en la combustión de la proteína
- un CR de $2.377/2.961 = 0.80$

Por lo tanto, la oxidación de los componentes no proteicos (carbohidratos + lípidos) ha consumido $20 - 2.961 = 17.04$ L de O₂ y producido $16 - 2.377 = 13.623$ L de CO₂.

Así, para los componentes no proteicos tenemos un CR = $13.623/17.04 = 0.80$. A partir de la tabla II podemos ver que este CR supone un consumo de un 33.3 % de carbohidrato y un 66.67 % de lípido (recuérdese que estamos considerando los componentes no proteicos de la dieta)

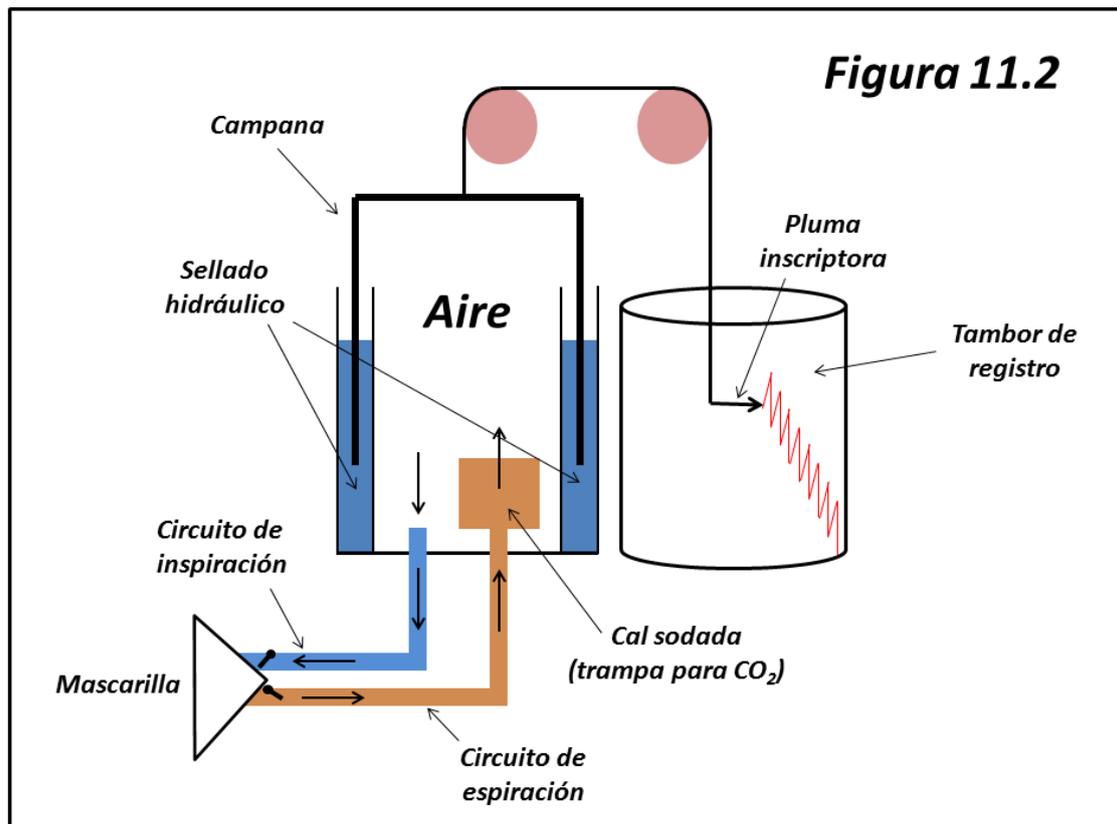
En la tabla II vemos que para un CR no proteico de 0.80 corresponden 4,8063 kcal/L. Si el oxígeno consumido es de 17.04 L.h⁻¹, la energía liberada por los componentes no proteicos de la dieta será de $17.04 \times 4.8063 = 81.90$ kcal.h⁻¹. Sumadas a las 13.25 kcal.h⁻¹ producidas por la combustión de las proteínas, obtenemos $81.90 + 13.25 = 95,15$ kcal.h⁻¹ para el metabolismo basal del sujeto (396.46 kJ.h⁻¹, 110 W).

11.3.3 Medida del consumo de oxígeno

La calorimetría indirecta requiere la medición del consumo de O₂ y la producción de CO₂ a lo largo de un período de tiempo determinado. Esto se puede hacer mediante sistemas de **circuito cerrado** y sistemas de **circuito abierto**. Hoy día, son estos últimos los que se emplean casi exclusivamente. Ahora bien, conviene tener una idea de los sistemas cerrados por interés histórico, dado que gran parte de las mediciones iniciales sobre las que se asienta nuestro

conocimiento del metabolismo basal fueron obtenidas con el aparato de **Benedict y Roth**, que pasamos a describir.

El aparato de Benedict-Roth (**figura 11.2**) consta de una campana de respiración que contiene el aire que va a ser respirado por el sujeto (el cual se mantiene en condiciones basales, ver sección 11.1.1). Esta campana está aislada del exterior mediante un cierre hidráulico, y su volumen se mide mediante un sistema inscriptor. La campana está conectada a un tubo de inspiración a través del cual el sujeto inspira. La espiración del sujeto se canaliza a través de un tubo de espiración que conecta con la campana de respiración pasando por una trampa de cal sodada, que retendrá todo el CO₂ contenido en el aire espirado. Ambos tubos (inspiración y espiración) están conectados a una mascarilla a través de la cual respira el sujeto, provista de las correspondientes válvulas.



De esta manera, el aire primitivo va circulando entre el sujeto y la campana de aire. El volumen de ésta irá disminuyendo con el tiempo debido al oxígeno consumido por el sujeto. Esta disminución de volumen se detecta de manera precisa mediante el sistema inscriptor y de ahí se calcula el volumen de oxígeno consumido durante el tiempo de medición.

Hoy día se prefieren sistemas en **circuito abierto**, mediante los cuales se mide directamente mediante analizadores de gases el O₂ consumido y el CO₂ producido por el sujeto durante el tiempo de medición. El sujeto respira a través de una boquilla conectada con el analizador, que está en serie con un medidor de volumen.

El O₂ consumido viene dado por

$$V_{O_2} = V_i F_{iO_2} - V_e F_{eO_2}$$

Donde V_{O_2} es el volumen de oxígeno consumido durante el tiempo de medición; V_i es el volumen de aire inspirado; F_{iO_2} la fracción de volumen de oxígeno en el aire inspirado; V_e el volumen de aire espirado; y F_{eO_2} , la fracción de oxígeno presente en el aire espirado.

En los sistemas en circuito abierto, basta con determinar instrumentalmente sobre el sujeto F_{eO_2} (con el analizador de gases) y V_e (con el medidor de volumen). La fracción en aire inspirado F_{iO_2} es la del ambiente y el volumen inspirado V_i se determina a partir de la equivalencia de **Haldane**. Esta equivalencia establece que dado que el nitrógeno N_2 es metabólicamente inerte, la cantidad de nitrógeno espirado equivale a la del nitrógeno inspirado. En consecuencia,

$$V_i F_{iN_2} = V_e F_{eN_2}$$

$$V_i = V_e \frac{F_{eN_2}}{F_{iN_2}}$$

Donde F_{eN_2} y F_{iN_2} son las fracciones de nitrógeno en el aire espirado e inspirado, respectivamente. Las fracciones de nitrógeno F_{eN_2} y F_{iN_2} se determinan restando de 0.99063 las fracciones de O_2 y CO_2 . Cifras típicas para el aire ambiente serían $F_{iO_2} = 0.2095$; $F_{iCO_2} = 0.0003$; $F_{iN_2} = 0.7808$. La cifra de 0.99063 es la suma de las fracciones en el aire de N_2 , O_2 y CO_2 (el resto, hasta 1, son los componentes minoritarios de la atmósfera, como argón o helio).

Por tanto, el consumo de oxígeno a lo largo del tiempo de medición será

$$V_{O_2} = V_e \frac{F_{eN_2}}{F_{iN_2}} F_{iO_2} - V_e F_{eO_2}$$

Para la medición del CO_2 espirado, se emplea el mismo procedimiento: basta con conocer la fracción de CO_2 en el aire espirado (que se obtiene en el analizador de gases) y el volumen espirado. Aplicando las mismas relaciones que en el caso del oxígeno,

$$V_{CO_2} = V_e \frac{F_{eN_2}}{F_{iN_2}} F_{iCO_2} - V_e F_{eCO_2}$$

Donde F_{eCO_2} es la fracción de CO_2 en el aire espirado y F_{iCO_2} la fracción en el aire inspirado. Naturalmente, estas cifras pueden variar según las condiciones locales (presión barométrica, temperatura ambiente y humedad relativa) y los volúmenes deben corregirse a las condiciones STPD (*Standard Temperature and Pressure, Dry*). Estas condiciones son: 0°C (273.1 °K), 760 mmHg (1013.25 hPa, 1.01325 bar, 1 atm) y 0 % de humedad relativa. Esta transformación es la siguiente:

$$V_{STPD} = V_X \left(\frac{P_X - P_{XH_2O}}{760} \right) \left(\frac{273.1}{T_X + 273.1} \right)$$

Donde V_X es el volumen medido (en las condiciones ambientes X), P_X la presión atmosférica ambiente, T_X la temperatura ambiente (en °C), P_{XH_2O} la presión parcial de vapor de agua a la temperatura T_X , y V_{STPD} el volumen en condiciones STPD. Las presiones se expresan en mmHg.

Conocidos el consumo de O_2 , la evolución de CO_2 y el nitrógeno ureico excretado en la orina, todos ellos en la unidad de tiempo, estamos en condiciones de determinar la cifra de MB, expresada habitualmente en $kcal.h^{-1}$.

Ahora bien, a través de amplios estudios de campo, hoy se admite que una dieta normal corresponde a un CR global de 0.82 y un valor de $4.8 kcal.L^{-1}$ de O_2 ($20.0 kJ.L^{-1}$). Por tanto, en los estudios basados en calorimetría indirecta en circuito abierto no se suele tener en cuenta

ni el CO₂ producido ni el nitrógeno urinario, por lo que basta con la medición del O₂ consumido, al menos para estudios estadísticos y clínicos.

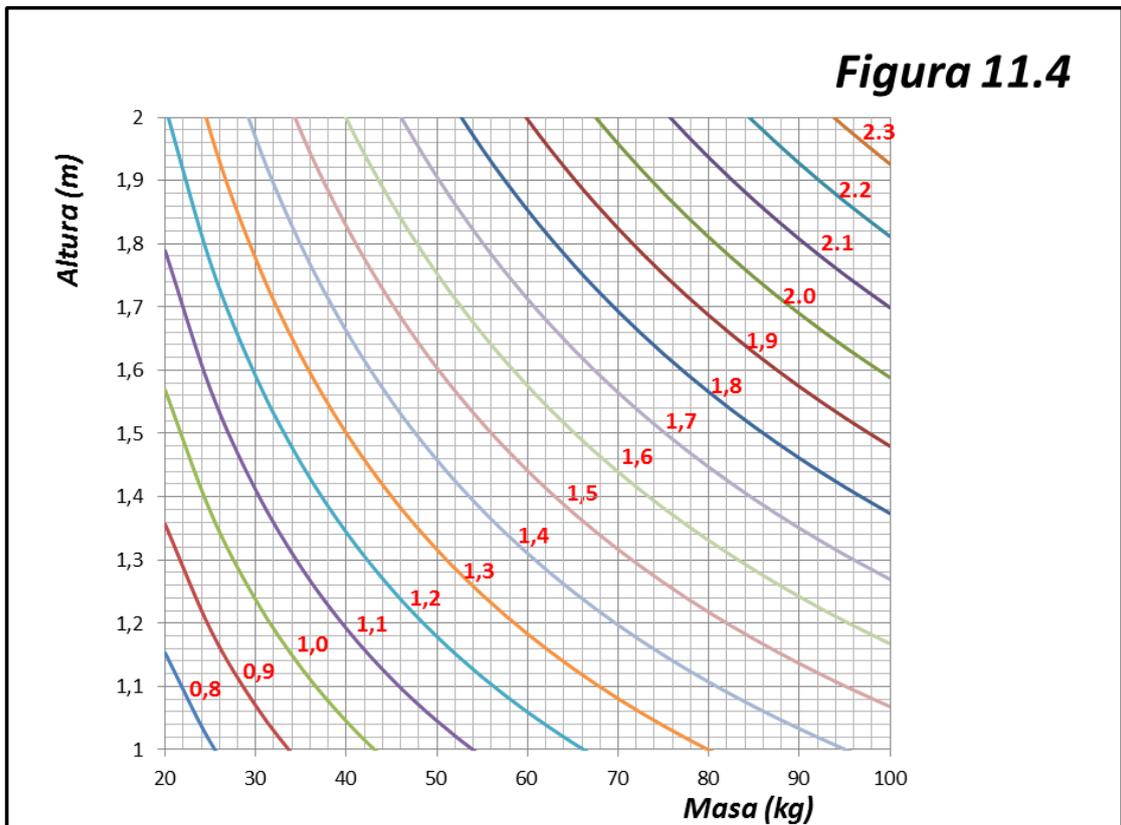
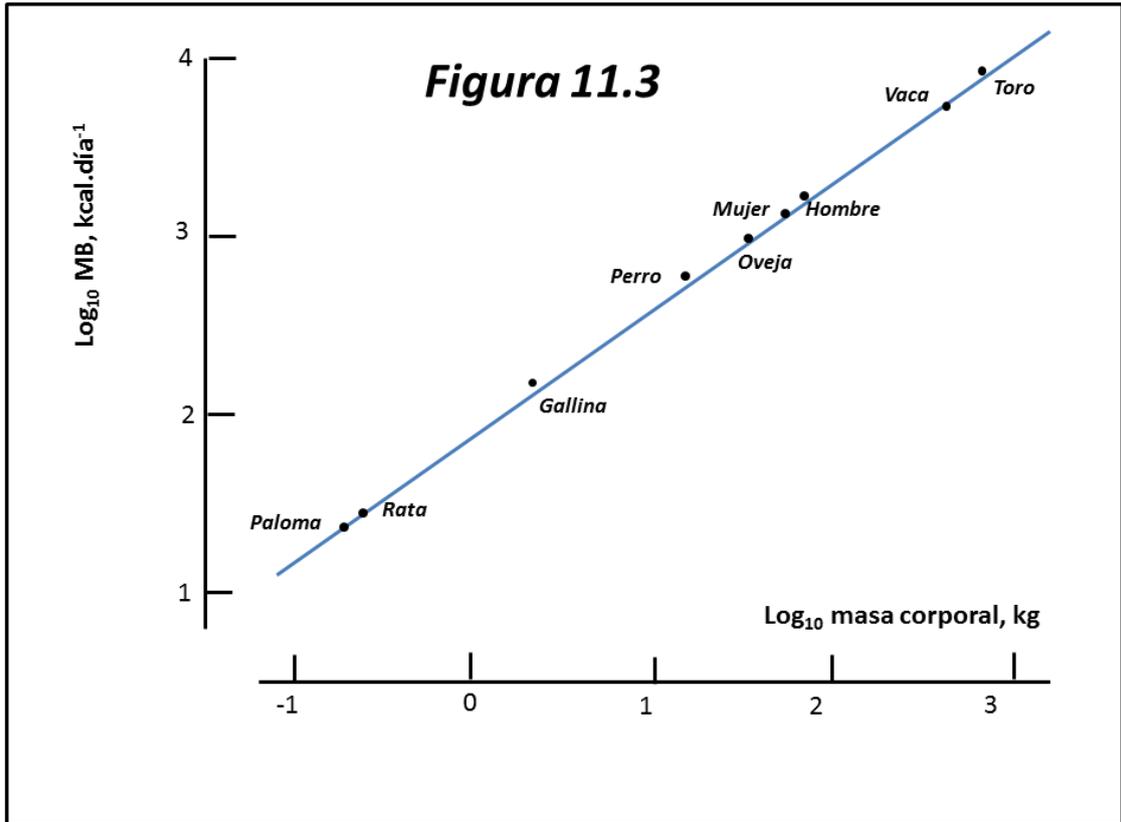
11.4 Tamaño corporal y Metabolismo Basal

Es evidente que el metabolismo basal tiene que guardar una cierta relación con el tamaño corporal; ahora bien, esta relación no es estrictamente lineal cuando consideramos la masa de distintos animales homeotermos. Así, el MB relativo a la masa corporal de un ratón es sustancialmente mayor que el observado en humanos. Las cifras de MB en función de la masa corporal dan lugar a una línea recta cuando hacemos una representación doble logarítmica (log MB, expresado en kcal.h⁻¹, en función del logaritmo de la masa corporal expresada en kg) (figura 11.3); o lo que es lo mismo, una relación lineal entre el cuadrado del MB frente al cubo de masa corporal (relación 2:3, aunque también puede observarse 3:4). Una relación parecida se observa dentro de la misma especie, aunque es de difícil determinación.

Por esa razón se tiende a expresar la cifra de MB en función de la superficie corporal, con la que guarda una relación mucho más claramente lineal. La determinación directa de la superficie corporal es bastante difícil en la práctica; pero afortunadamente contamos con cálculos indirectos muy contrastados que nos dan la superficie corporal en función de la masa y de la estatura. Así, una relación muy conocida es la de **Dubois y Dubois**:

$$A = m^{0.425} \times h^{0.725} \times 0.007184$$

Donde **A** es la superficie corporal (en m²), **m** la masa en kg y **h** la altura en cm. En la práctica, esta relación se expresa mediante gráficas como la que aparece en la figura 11.4.



Cuando expresamos el MB en función de la superficie corporal como kilocalorías por hora por metro cuadrado ($\text{kcal.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$) en la especie humana, obtenemos datos como los reseñados en la tabla IV:

Tabla IV

Metabolismo basal normal ($\text{kcal.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$) en función de edad y sexo en la especie humana

Edad (años)	Hombres	Mujeres
5	53	51.6
10	49.5	45.8
15	45.3	39.6
20	41	36.9
25	40.3	36.6
30	39.8	36.2
35	39.2	35.8
40	38.3	35.3
45	37.8	35
50	37.2	34.5
55	36.6	34.1
60	36	33.8
65	35.3	33.4
70	34.8	32.8
75	34.2	32.3

(Standards normales de Dubois)

Las cifras de esta tabla representan las medias de normalidad para las edades y sexos especificados. Las cifras obtenidas en un individuo se consideran normales cuando están comprendidas entre -10% y +10% de la cifra media.

Puede apreciarse en esta tabla dos de los factores más importantes que influyen en el metabolismo basal: la edad y el sexo. Ahora bien, el factor considerado hoy día como el más influyente en el MB es la **Masa Corporal Magra (MCM)** (*Lean Body Mass, LBM*) del sujeto; esto es, la masa total del organismo exceptuada la grasa de almacenamiento, que es fundamentalmente la masa muscular. Dada esta relación, se puede interpretar el menor MB de las mujeres a la misma edad por tener una MCM relativamente menor que la de los hombres. Igualmente, la disminución de las cifras de MB a lo largo de la vida se debe probablemente a la pérdida de MCM que se observa con la edad. Por otra parte, el crecimiento es un factor a tener en cuenta en las altas cifras de MB que se observan en las personas jóvenes. En éstas, además, hay un mayor consumo energético debido a las pérdidas térmicas que experimentan al tener una mayor superficie corporal relativa.

11.4.1 Estimación de la Masa Corporal Magra (MCM)

La MCM es la masa corporal desprovista de toda su grasa de almacenamiento. Incluye por tanto la masa de los órganos, de la sangre, de los huesos, de la piel, y sobre todo, de los músculos. Se estima que para un hombre adulto medio representa el 42 % de la masa corporal y para una mujer adulta media el 35 %.

La medida de la MCM puede hacerse de varias maneras distintas:

1. El standard de medida es la determinación de la **Densidad Corporal**. Esto puede hacerse de dos maneras. Una es comparando el peso del sujeto en el aire con el peso del mismo enteramente sumergido en agua. Otra es la medición del volumen corporal mediante el desplazamiento del aire producido por el sujeto al entrar en una cámara especialmente diseñada para ello. La densidad medida por cualquiera de ambos métodos será tanto mayor cuanto mayor sea la MCM.

2. Análisis de **Impedancia Eléctrica**. La impedancia es la resistencia que ofrece un cuerpo al flujo de una corriente alterna. Tanto los músculos como los huesos presentan una impedancia baja (por su contenido en fluidos corporales) mientras que la grasa corporal tiene una alta impedancia al ser fundamentalmente anhidra.

3. **Densitometría de Rayos X**. Este procedimiento, utilizado normalmente para el diagnóstico de la osteoporosis en personas mayores, puede emplearse en la determinación de MCM, con la ventaja de discriminar entre tres compartimentos (óseo, masa magra de tejidos blandos y masa del tejido graso), mientras que la medida de la densidad únicamente discrimina dos (graso y magro).

4. **Medidas antropométricas**. Consiste en estimar la MCM mediante medidas del perímetro de cintura y cuello más altura (en hombres) y cadera, cuello y altura (en mujeres). Su facilidad hace que sea un método ampliamente utilizado en clínica, aunque su exactitud es cuestionable.

5. **Calibración de pliegues cutáneos**. Se trata de la estimación del porcentaje de grasa a partir del grosor de pliegues cutáneos medido con un calibrador en distintas partes del cuerpo. Se trata de un procedimiento rápido y barato, aunque requiere cierta especialización (siempre hay que medir en la misma localización) y no es del todo válido para personas con sobrepeso marcado.

11.4.2 Estimación del metabolismo basal por medidas antropométricas

Desde los estudios pioneros de **Benedict** en el primer tercio del siglo XX, destinados a encontrar una variable idónea de referencia para el MB, se ha tratado de relacionar el MB con distintas medidas antropométricas. El propio Benedict era crítico con respecto al uso de superficie corporal (que, como hemos visto, es ampliamente utilizada aun hoy día como referencia); y sus estudios condujeron a unas ecuaciones predictivas para el MB que son las siguientes:

$$\text{Hombres: } MB = 66.4730 + 13.7516 m + 5.0033 h - 6.775 e$$

$$\text{Mujeres: } MB = 665.0955 + 9.5634 m + 1.849 h - 4.675 e$$

Donde **MB** es el metabolismo basal expresado en kcal/día; **m** la masa en kg; **h** la estatura en cm; **e** la edad en años.

A partir de estos estudios se han realizado muchos otros en muestras muy amplias, teniendo en cuenta asimismo las diferencias en hábitat (por ejemplo, latitudes tropicales, templadas o polares). Así, **Quenouille** en 1951 hizo un amplio estudio (8600 sujetos) en el que se establecían distintas ecuaciones para las diferentes etnias y climas, además de las variables usuales como masa, estatura, edad y sexo. Por ejemplo, para habitantes masculinos adultos de la Europa septentrional proponía la siguiente ecuación:

$$MB = 2.97 h + 8.90 m + 11.7 s + 3.0 hu - 4.0 t + 293.8$$

Donde **MB** es metabolismo basal en kcal/día; **h** la estatura en cm; **m** la masa en kg; **s** la superficie corporal (calculada en m² según las ecuaciones de Dubois, ver más arriba); **hu** la humedad relativa y **t** la temperatura.

Algunos años más tarde (1981), y basándose en los estudios de **Schofield**, se publicaron los predictores FAO/WHO/UNU (*Food and Agriculture Organization / World Health Organization / United Nations University*) que son hoy día de uso común para la predicción del MB a partir de medidas antropométricas, y en las que están basadas la gran mayoría de predictores de MB que se pueden encontrar en Internet. El documento en concreto puede consultarse en

<http://www.fao.org/DOCREP/003/AA040E/AA040E15.htm#an1>

que es un anexo al documento técnico 724 de la WHO:

<http://www.fao.org/DOCREP/003/AA040E/AA040E00.HTM>

Estas ecuaciones han sido criticadas por algunos autores en el sentido de no tener en cuenta factores étnicos y climáticos. Por otra parte, no se dispone todavía de estudios generalizados relacionando MB con la MCM. No obstante, hoy son de amplio uso para la estimación del MB sin necesidad de recurrir a procedimientos calorimétricos (que se reservan, en general, para estudios *ad hoc*).

11.5 Otros factores que afectan al Metabolismo Basal

Además del tamaño corporal (esencialmente la MCM), que es quizá el factor más importante en la determinación del MB, hay otros factores que se deben tener en cuenta.

1. **Factores endocrinos.** Sin duda, la influencia endocrina más importante sobre la intensidad del metabolismo basal es la **función tiroidea**. Las hormonas tiroideas elevan el metabolismo basal (ver 11.1.7). Antes de que las determinaciones de hormonas tiroideas (T3, T4 y TSH) se hicieran rutinarias en el laboratorio clínico, la medida del metabolismo basal era el diagnóstico más fiable de hipertiroidismo (que cursa con aumento del MB) o hipotiroidismo (que produce disminución del MB).
2. **Edad.** El metabolismo basal disminuye progresivamente con la edad, lo que es debido a una disminución de la MCM y también a cambios neurológicos, hormonales y conductuales.
3. **Crecimiento.** Como hemos visto, el MB aparece aumentado en niños y jóvenes en general. Esto se debe a las demandas energéticas del crecimiento y a la mayor superficie corporal relativa de los jóvenes, lo que incrementa las pérdidas térmicas que lógicamente se deben compensar con un mayor MB.
4. **Sexo.** Hemos visto asimismo que las diferencias entre hombres y mujeres se deben a una mayor MCM relativa en el organismo masculino.
5. **Factores hereditarios.** En la intensidad del metabolismo basal hay un fondo genético indiscutible, que se manifiesta sobre todo en las diferencias interétnicas.

6. **Temperatura ambiente.** La termorregulación, en general, requiere unas demandas energéticas adicionales al MB. Por esa razón las determinaciones de MB deben llevarse a cabo en un ambiente térmicamente neutro (normalmente 22 °C – 26 °C).

7. **Enfermedades.** La presencia de fiebre (por infecciones o por cualquier otra razón) eleva asimismo la demanda energética basal del organismo. Por tanto, no son fiables las determinaciones de MB en estas circunstancias.

8. **Ayuno crónico.** El ayuno crónico determina una disminución importante del metabolismo basal.

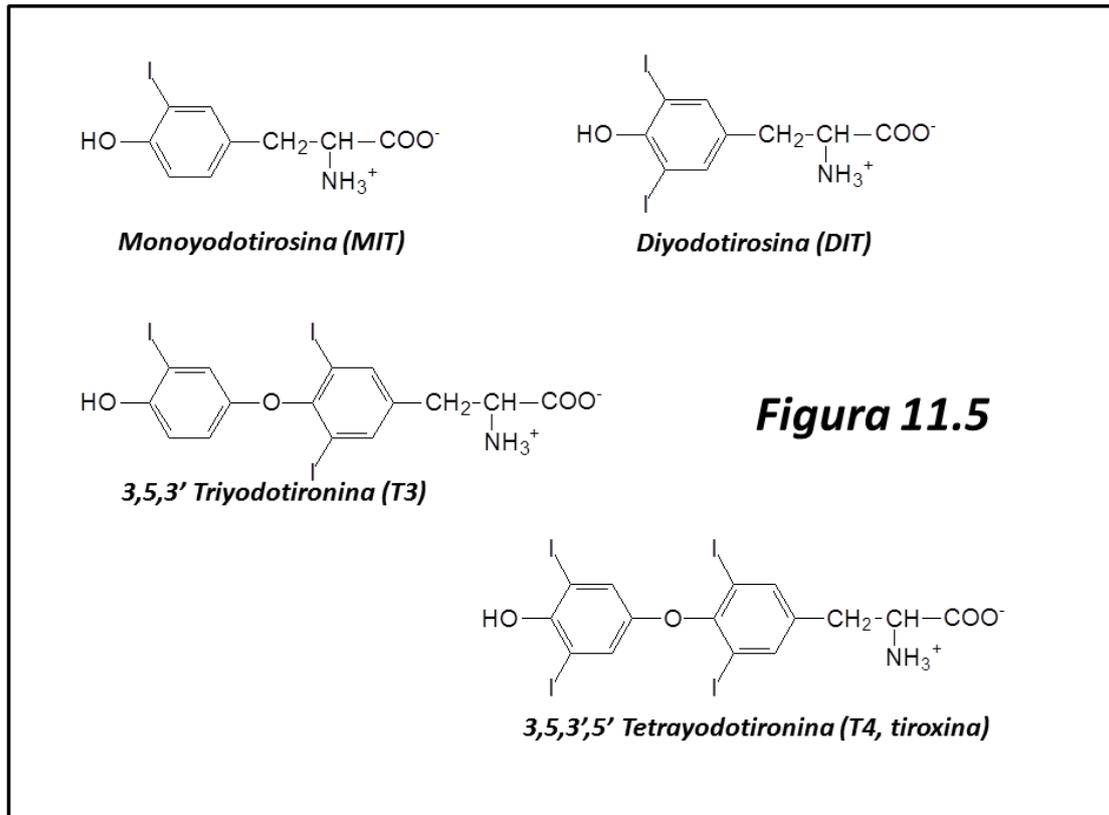
9. **Drogas y fármacos.** Algunas drogas elevan el MB, como la cafeína y la nicotina. Otras (por ejemplo, los antitiroideos) disminuyen el MB.

11.6 La función tiroidea

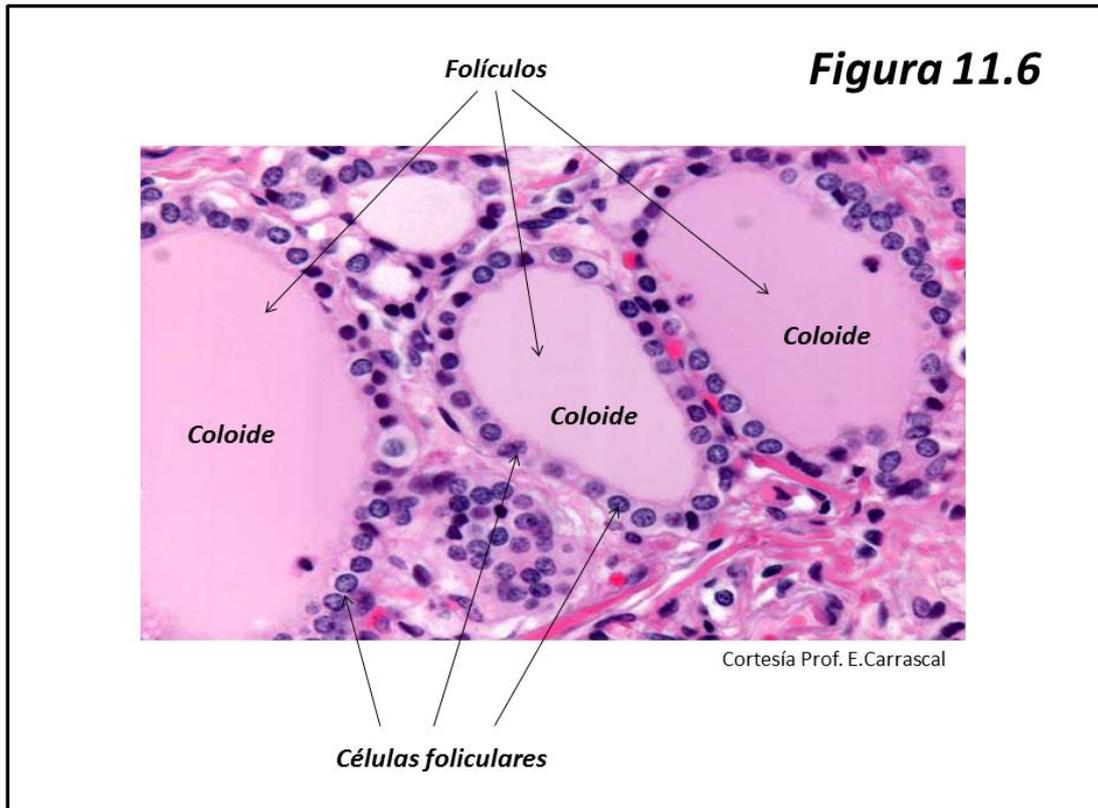
Por su acción sobre el metabolismo basal, es conveniente un repaso somero a la función tiroidea en el organismo humano. La glándula tiroides se encuentra en la parte anterior del cuello, por debajo del cartílago tiroides de la laringe (y del cual recibe el nombre). Forma lateralmente dos lóbulos unidos por un istmo central que se sitúa por debajo del cartílago cricoides. La tiroides es, como veremos, el órgano central en el metabolismo del yodo. (Nota: empleamos el femenino para *la glándula tiroides*, reservando el masculino para *el cartílago tiroides*). En la clínica humana están muy bien estudiados y documentados tanto la hiperfunción de la glándula (**hipertiroidismo**) como la hipofunción (**hipotiroidismo**). La carencia de hormona tiroidea durante los períodos embrionario y fetal (causada por hipotiroidismo materno o por defectos enzimáticos congénitos) conduce al **cretinismo**, un grave defecto del desarrollo físico y mental del paciente. El cretinismo era muy abundante en zonas en las que el yodo es escaso en la alimentación. El diagnóstico pre- o perinatal de hipofunción tiroidea, seguido de terapéutica sustitutiva de por vida, es fundamental para evitar el cretinismo. El aumento en el nivel de vida ha sido un factor fundamental en la desaparición de este síndrome en sociedades avanzadas.

Las hormonas producidas por la tiroides son la **tetrayodotironina (T4, tiroxina)** y la **triyodotironina (T3)**. Aunque producida en menor cantidad, esta última es bastante más potente que la primera; asimismo, se ha podido observar que parte de la T3 circulante procede por desyodación de la T4. Hoy día se piensa que la T4 es una prohormona de la T3. Las estructuras respectivas aparecen en la [figura 11.5](#).

La secreción de estas hormonas está regulada por la **hormona tiroestimulante, tirotropina o TSH (Thyroid-stimulating hormone)**, una proteína producida en la adenohipófisis o hipófisis anterior, que a su vez está regulada por la hormona hipotalámica **TRH (Thyrotropin-releasing hormone)**, un tripéptido producido en el hipotálamo. La secreción de estos factores regulatorios está sometida a un estricto *feedback* negativo por parte de T3 y T4. Cuando por alguna razón no hay hormona tiroidea circulante se estimula enormemente la secreción de TSH, que a su vez produce crecimiento y proliferación de la glándula tiroides, la cual puede alcanzar un tamaño muy grande (**Bocio tiroideo**).



Desde el punto de vista histológico, la tiroides está formada por folículos esféricos formados por una sola capa de **células foliculares** que rodean a la cavidad central, la cual aparece rellena de una sustancia uniforme y amorfa que recibe el nombre de **coloide** (figura 11.6). En gran parte, el coloide es una solución de la proteína **tiroglobulina**, que es la forma de almacenamiento de las hormonas tiroideas. En el espacio entre los folículos podemos encontrar las llamadas **células parafoliculares**, encargadas de la secreción de **calcitonina**, una hormona que actúa en el metabolismo del calcio.



11.6.1 Biosíntesis de hormonas tiroideas

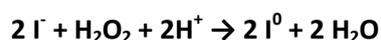
El ion yoduro (I^-) circulante es captado y concentrado por la tiroides gracias a un simporte específico yoduro – sodio (NIS) que capta alrededor de un 20 % del yoduro circulante que pasa a través de la glándula. NIS está presente en la membrana basolateral de las células foliculares y su actividad depende de la $Na^+ - K^+$ ATPasa o bomba de sodio; los glicósidos cardiotónicos como ouabaína y digitoxina pueden bloquear este transporte. La expresión genética de NIS depende de la presencia de TSH.

Un segundo sistema de transporte lleva el yoduro desde la célula folicular hacia la luz del folículo tiroideo, dependiente al parecer de la proteína **pendrina**, una glicoproteína de 110 kDa localizada selectivamente en la membrana apical; aunque hay algunas razones para suponer que el papel de esta proteína no tiene mucho que ver con el transporte de yoduro. En cualquier caso, el transporte de yoduro hacia la luz del folículo parece ser un proceso pasivo, a favor del gradiente de concentración y del gradiente eléctrico.

La mayor parte del ion yoduro que entra en la tiroides es rápidamente oxidada a yodo elemental e incorporado a residuos de tirosina, por lo que es el transporte mediado por NIS el factor limitante en la producción de hormonas tiroideas.

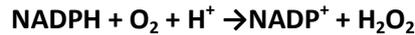
El proceso de biosíntesis hormonal requiere la presencia de tiroperoxidasa (TPO), peróxido de hidrógeno H_2O_2 y tiroglobulina (Tg).

La **tiroperoxidasa (TPO, yoduro peroxidasa, EC 1.11.1.8)** oxida al ion yoduro a expensas de H_2O_2 , dando lugar a yodo elemental:



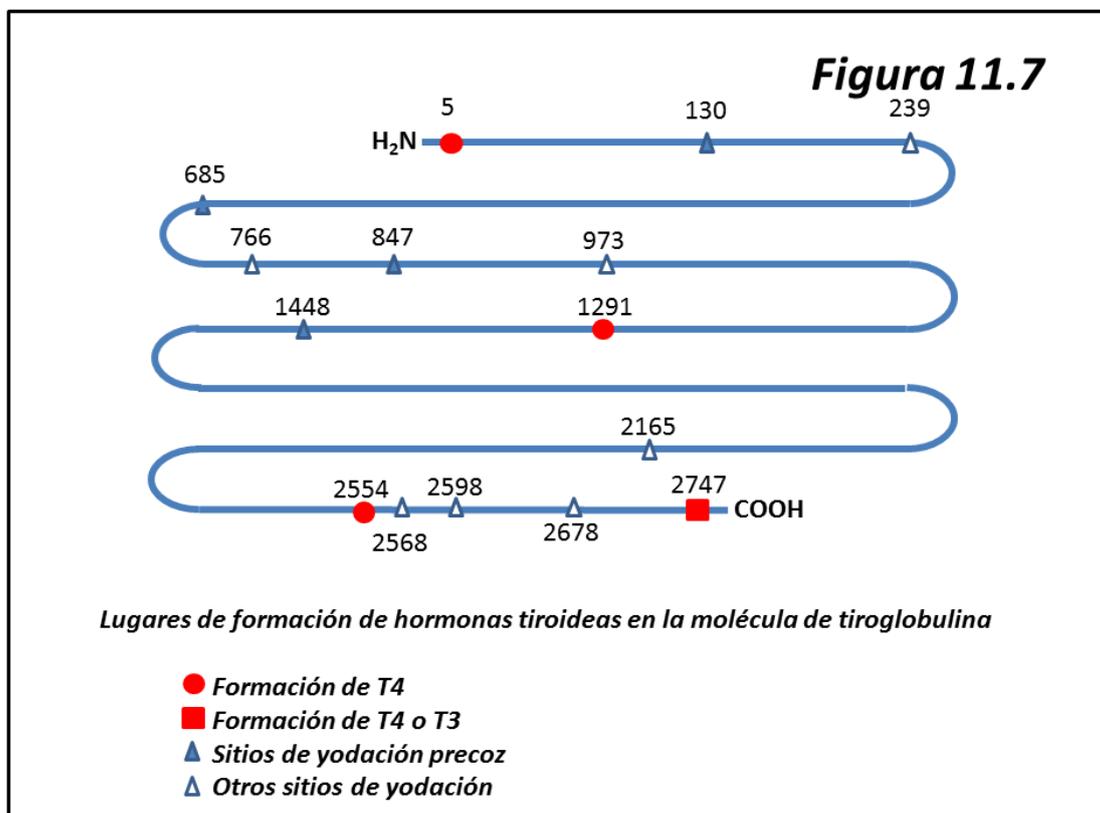
Esta enzima es una hemoproteína emparentada con la mieloperoxidasa. Se han descrito diversas mutaciones en esta proteína que afectan a la función tiroidea. Se sintetiza en el retículo endoplásmico, y es empaquetada en vesículas que a través del aparato de Golgi se externalizan hacia la luz del folículo en un proceso dependiente de la presencia de TSH. La actividad TPO se manifiesta así en el extremo apical de la célula folicular.

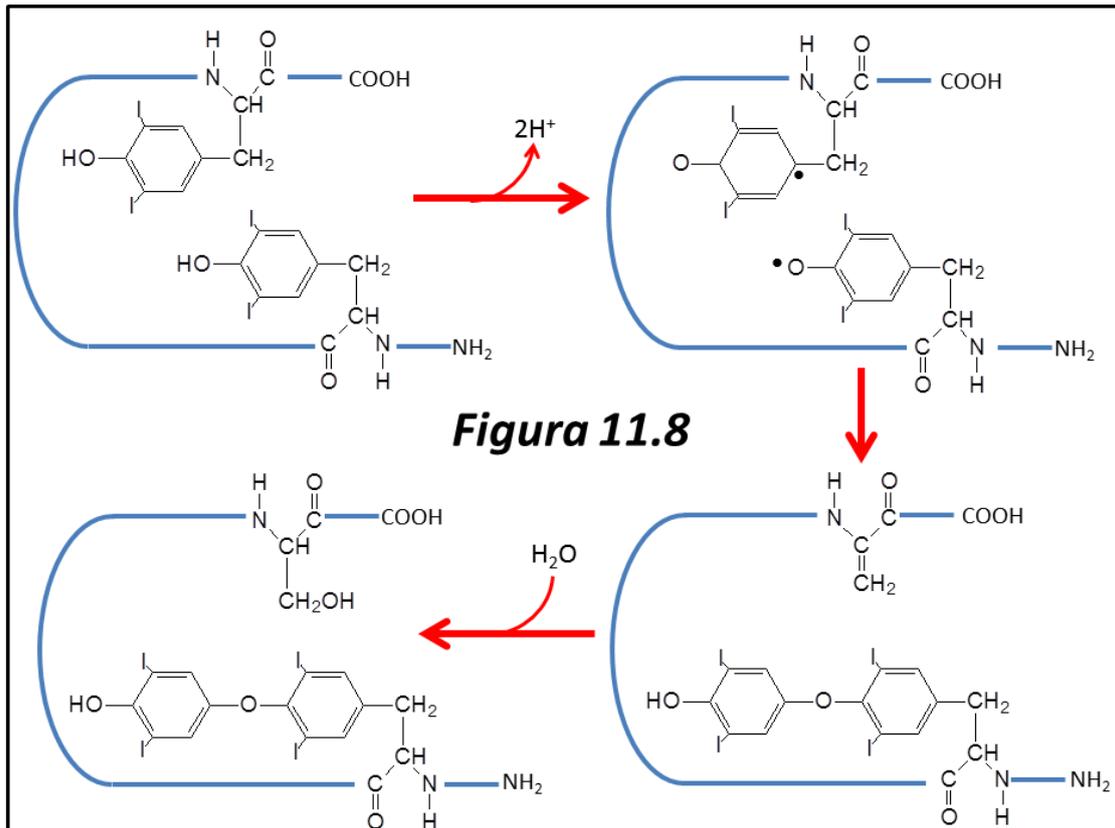
Un factor importante en la actividad de la TPO es el suministro de H₂O₂. Éste depende de una flavoproteína dependiente de NADPH (**NADPH oxidasa, EC 1.6.3.1**) de características parecidas a la existente en leucocitos polimorfonucleares; está activada por una cascada ligada a calcio-inositolfosfato y se expresa, al igual que la TPO, en la membrana apical de la célula folicular. Cataliza la reacción



La **tiroglobulina (Tg)** es la proteína más abundante en la tiroides. Su función es la de servir como soporte para la biosíntesis hormonal y como lugar de almacenamiento de las hormonas (**figura 11.7**). Esta proteína se combina con yodo a través de sus residuos de tirosina en un proceso que tiene lugar en la membrana apical; la tiroglobulina yodada constituye el principal contingente del coloide tiroideo.

El primer paso en la síntesis de hormonas consiste en la unión de átomos de yodo a residuos de tirosina presentes en la Tg, dando lugar a monoyodotirosina (MIT) y diyodotirosina (DIT). A continuación tiene lugar el acoplamiento de dos residuos yorotirosil para formar tetrayodotironina o T4 (a partir de dos DIT) o triyodotironina o T3 (a partir de una DIT y una MIT). Este proceso tiene lugar sobre yodotirosinas integradas en la proteína; tiene lugar mediante la producción de un residuo yodofenol que es transferido a la segunda yodotirosina, gracias a un mecanismo de radicales libres, dejando un residuo de dehidroalanina que posteriormente se hidrata a serina (**figura 11.8**).





La tiroglobulina yodada, dependiendo de los estímulos secretorios (que dependen de las cascadas de señalización mediadas por la TSH), es captada por endocitosis hacia la célula folicular, donde constituye un compartimento lisosómico en el que la rotura proteolítica produce T3 y T4 libres que se liberan a la circulación general; todo el proceso es estimulado por la TSH.

Los dos factores más importantes en la regulación de la síntesis de hormonas tiroideas son el suministro de yoduro y la TSH. La deficiencia de yoduro da lugar a un déficit en la producción de hormona, con el consiguiente aumento de TSH por falta de *feedback*, y desarrollo de un bocio hipotiroideo. El exceso de yoduro, por su parte, inhibe la síntesis hormonal ya que interfiere con la generación de H_2O_2 . La TSH afecta prácticamente a todos los pasos de la síntesis hormonal: estimula la expresión del NIS, de la TPO, de la Tg y del sistema productor de H_2O_2 , la externalización de vesículas hacia la luz, la endocitosis de Tg y la secreción hormonal. La producción de hormonas puede alterarse farmacológicamente mediante los llamados antitiroideos (p.e., propiltiouracilo, metimazol). Al parecer actúan como competidores de los residuos de tirosina para la captación de yodo, impidiendo también el acoplamiento de residuos de yodotirosina para formar yodotironinas.

11.6.2 Transporte y modo de acción de las hormonas tiroideas

Las hormonas tiroideas T3 y T4 son lipofílicas y su transporte en sangre requiere proteínas transportadoras. La más importante es la TBG (*thyroxine-binding globulin*); otras proteínas transportadoras son las transtiretina y la seroalbúmina. La TBG es una glicoproteína que migra en la zona de las globulinas en electroforesis convencional; normalmente fija el 75 % de la

hormona circulante. A pesar de su nombre, fija por igual T3 y T4. La transtiretina es un tetrámero de subunidades idénticas que también participa en la circulación de retinoides. A pesar de que su concentración es bastante más alta que la de TBG, su papel como transportador de hormonas es menos importante (un 20 %, preferentemente de T3). Por su parte, la albúmina sérica fija hormonas tiroideas aunque al parecer de forma no específica.

T3 y T4 tienen efectos notorios sobre el desarrollo, el crecimiento y el metabolismo. En particular, alguno de estos efectos es muy importante durante el desarrollo fetal y en la infancia. Esto es evidente en el síndrome de cretinismo que se observa en zonas deficientes en yodo o en los defectos congénitos de la ruta biosintética. Un efecto particularmente estudiado de las hormonas tiroideas es la reabsorción de la cola del renacuajo, lo que indica su papel en el proceso de metamorfosis de los anfibios.

En la infancia temprana las hormonas tiroideas tienen un efecto marcado sobre el crecimiento, aunque este efecto puede ser más bien metabólico; en este caso, ante un hipotiroidismo en la infancia el crecimiento normal se reanuda rápidamente con una terapia sustitutiva. En adultos, el efecto principal de las hormonas tiroideas es metabólico; implica cambios en el consumo de oxígeno y en el metabolismo de proteínas, carbohidratos y lípidos. Se han adelantado muchas teorías sobre el modo de acción de las hormonas tiroideas. Por ejemplo, desacoplamiento de la fosforilación oxidativa, estímulo de la Na⁺-K⁺ ATPasa, modulación directa de los transportadores y de las enzimas en membrana plasmática y mitocondrial, etc.

Hoy sabemos que los principales efectos de las hormonas tiroideas se ejercen a través de su unión a receptores nucleares específicos y los cambios subsiguientes en la expresión de una gran variedad de genes. También se han demostrado efectos no genómicos de las hormonas tiroideas.

La T3 se fija a los receptores nucleares con una afinidad 10-15 veces mayor que la T4, con una afinidad en el orden 10⁻¹⁰ M; los receptores aparecen ocupados en los distintos tejidos en un porcentaje variable, que oscila entre el 50% y el 75%. Todos los complejos hormona-receptor aparecen fuertemente ligados a la cromatina nuclear. Los receptores tiroideos pertenecen a una superfamilia de receptores que incluyen los receptores a esteroides, calciferoles y retinoides. Hay dos genes responsables de receptores tiroideos, TR α y TR β .

El complejo hormona-receptor se fija a elementos de respuesta específicos que inducen cambios en la expresión transcripcional de una gran variedad de genes, aumentándola o disminuyéndola. Se trata de genes con actividad sobre neoglucogénesis, lipogénesis, señalización por insulina, señalización por cAMP, proliferación celular y apoptosis. Esta variedad explica los complejos efectos de las hormonas tiroideas. Se cree asimismo que las hormonas tiroideas afectan a otros pasos de la expresión genética. Entre los genes regulados positivamente por las hormonas tiroideas tenemos: Hormona del crecimiento, enzima málica, proteína básica de la mielina, cadena pesada α de miosina, fosfoenolpiruvato carboxikinasa, proteínas desacoplantes y muchos otros más. Entre los regulados negativamente están el receptor a factor de crecimiento epidérmico, cadena pesada β de miosina, prolactina, TSH y TRH.

Tras su unión al DNA, el complejo hormona-receptor interacciona directa o indirectamente con cofactores transcripcionales (correpresores, coactivadores, integradores y factores de transcripción generales). En ausencia de hormonas, los receptores desocupados reprimen la expresión de los genes regulados positivamente; la adición de hormona resulta en una activación de los mismos siempre superior al nivel basal. Un efecto contrario puede observarse en los genes regulados negativamente; fijan receptores desocupados y se activa su nivel transcripcional; la adición de hormona tiroidea inhibe la expresión de estos genes. Además de

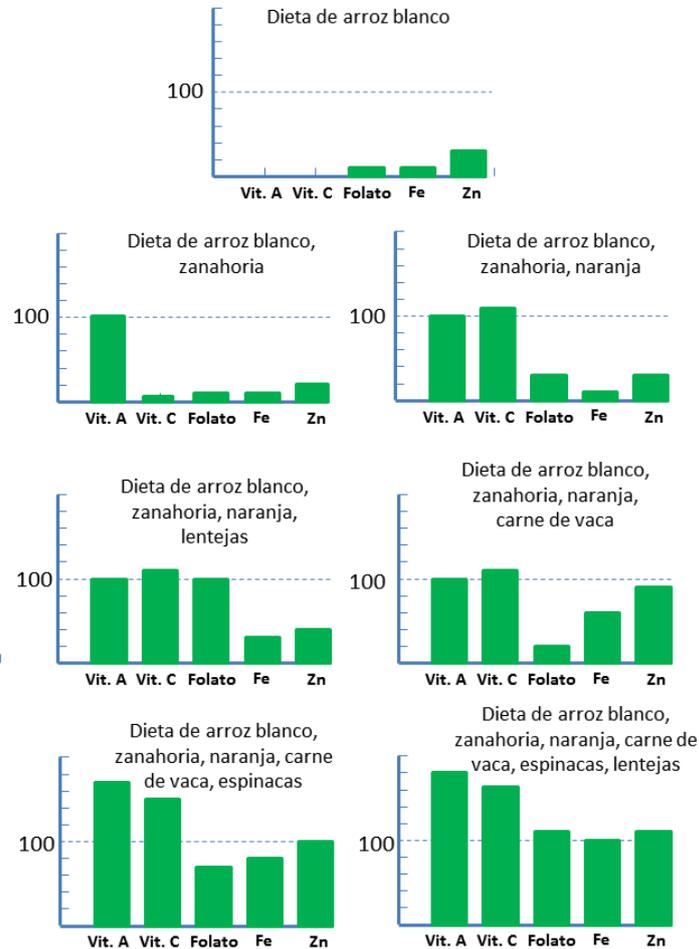
su fijación a los elementos de respuesta, el efecto de las hormonas tiroideas se aprecia también en el reclutamiento de otros factores de transcripción y en el nivel de modificación covalente de las histonas. Se han comprobado también efectos sobre la expresión y actividad de micro-RNAs no codificantes.

En cuanto a las acciones no genómicas, parecen estar mediadas por otras proteínas distintas de los receptores nucleares, y se manifiestan lógicamente por una mayor rapidez en su establecimiento, ya que no requieren expresión génica. En particular, las hormonas tiroideas tienen un efecto marcado sobre la actividad mitocondrial y el estado energético celular, lo que se corresponde con su efecto sobre el metabolismo basal. Otras acciones no genómicas de las hormonas tiroideas tienen que ver con la polimerización de actina y el citoesqueleto, así como activación de diversas cascadas de señalización celular.

Hay que señalar también la acción *feedback* negativa, ya mencionada, que ejercen las hormonas tiroideas sobre la secreción hipofisaria de TSH y la hipotalámica de TRH.

En resumen, las acciones de las hormonas tiroideas son extremadamente complejas y ejercidas a nivel genómico y no-genómico.

CAPÍTULO 12: Metabolismo y Nutrición



12.1 Introducción

La nutrición es, en el hombre, la única fuente tanto de energía como de elementos plásticos. Por lo tanto, la totalidad del metabolismo viene en último término condicionada a la dieta. Ahora bien, la dieta humana está a su vez condicionada a muchísimos otros factores: el entorno socioeconómico, las pautas culturales y religiosas, la propia geología del terreno, etc. Por ello es prácticamente imposible establecer una normativa única y general en lo que se refiere a la dieta humana.

En el presente capítulo se ha hecho un uso extensivo de las recomendaciones de la FAO (*Food and Agriculture Organization*) y de la WHO (*World Health Organization*, en español Organización Mundial de la Salud, OMS) que a través de una serie de documentos públicos han

establecido unos mínimos dietarios teniendo siempre en cuenta el entorno socioeconómico de las distintas poblaciones humanas. Una relación completa de toda esta documentación puede encontrarse en la dirección web

<http://www.who.int/nutrition/publications/nutrientrequirements/en/index.html>

a la que remitimos para completar o profundizar en el conocimiento de las relaciones entre la dieta humana y el metabolismo.

A lo largo de este capítulo estudiaremos, en primer lugar, el requerimiento energético considerado globalmente (al cual contribuyen los grandes grupos de macronutrientes como hidratos de carbono o carbohidratos, lípidos y proteínas) para continuar con las particularidades de cada uno de estos tres grupos. A continuación se estudiarán las necesidades de micronutrientes, que a su vez dividimos en vitaminas, por una parte, y elementos minerales, por otra.

12.2 Requerimientos energéticos en la dieta humana

La alimentación tiene por objeto el suministro de componentes plásticos para la generación de la materia viviente que constituye el cuerpo humano, por una parte, y el suministro de la energía necesaria para todas las actividades del individuo, incluyendo entre éstas las circunstanciales ligadas a crecimiento, embarazo o lactancia.

Se llega al balance energético en un individuo cuando la cantidad de energía ingresada iguala a la producida en todas sus actividades (incluyendo crecimiento, embarazo y lactancia). Cuando este balance se mantiene un tiempo prolongado, se dice que el organismo está en un estado estacionario, lo cual no impide que en ocasiones el balance se incline hacia las entradas o hacia las salidas.

Una dieta equilibrada y saludable debe satisfacer las necesidades del individuo en cuanto a la energía y a los nutrientes esenciales. Así, el requerimiento de energía no puede considerarse aisladamente; y lo que sigue debe interpretarse teniendo siempre en cuenta que estos nutrientes deben estar presentes en la dieta, aunque no se diga explícitamente.

El **Requerimiento Energético (RE)** es la cantidad de energía alimentaria que se necesita para mantener un balance con el mantenimiento de un tamaño corporal, una composición normal de órganos y tejidos y un nivel adecuado de actividad física compatibles con un estado de buena salud a largo plazo. Esto incluye naturalmente las necesidades circunstanciales arriba mencionadas (crecimiento, embarazo y lactancia). El RE se mide en unidades de energía/tiempo; normalmente MJ/día (Megajoules/día) o kcal/día (kilocalorías/día).

La energía para el metabolismo y las diversas funciones orgánicas derivan de la energía química contenida en los macronutrientes (carbohidratos, lípidos y proteínas), que actúan como combustibles. Esta energía química es transformada por el metabolismo y convertida en otras formas, como térmica, mecánica o bien otra energía libre química.

12.2.1 Componentes del Requerimiento Energético

Metabolismo basal (MB). Comprende aquellas funciones que son esenciales para el mantenimiento de la vida: función y remplazamiento celular; síntesis de todos los componentes metabólicos; mantenimiento de la temperatura corporal; trabajo mecánico de los músculos cardíaco y respiratorios; función cerebral y otras. Dependiendo de la edad y del modo de vida, el MB supone por término medio entre el 45 y el 70 % del requerimiento energético. Según vimos en la sección 12.1, depende de la edad, sexo, tamaño corporal y otros factores.

Respuesta metabólica al alimento. Es la energía requerida para la ingestión y asimilación del alimento. Estos procesos, cuya naturaleza no está aún bien establecida, se conocen también como **Acción Dinámico-Específica (ADE)** o Efecto Térmico de los Alimentos. Por término medio supone un 10 % del MB en un período de 24 h con una dieta mixta.

Actividad física. Éste es el componente más variable. Podemos considerar dos componentes en la actividad física: Obligatoria y Discrecional. La obligatoria viene impuesta sobre el individuo y sus circunstancias económicas, sociales o culturales. Las actividades discretionales son importantes para la salud, el bienestar físico y psíquico y la calidad de vida en general, en tanto en cuanto se llevan a cabo para emprender actividades deseables individual y socialmente.

Crecimiento. El coste energético del crecimiento tiene dos componentes: la energía necesaria para la síntesis de componentes plásticos y la energía depositada en esos nuevos componentes. Llega a ser el 35 % del requerimiento energético total en los tres primeros meses de vida, cayendo hasta el 5 % a los 12 meses y al 3 % en el segundo año; hasta la adolescencia media viene a ser un 1-2 %, decayendo después prácticamente a cero.

Embarazo. Se requiere un extra energético para el crecimiento del feto, de la placenta y de otros tejidos maternos, como útero o mamas, así como cambios metabólicos en el organismo materno, en parte determinados por una mayor demanda de energía mecánica al existir un apreciable aumento de masa corporal en el embarazo.

Lactancia. El extra energético de la lactancia tiene también dos componentes: la energía libre contenida en la leche segregada y la energía necesaria para producir la leche.

12.2.2 Medida del requerimiento energético

La medida del requerimiento energético es necesariamente distinta de la del metabolismo basal, puesto que tiene que medir asimismo el consumo no basal de energía, fundamentalmente debido a la actividad física. Por ello no es practicable la calorimetría, directa o indirecta, más que en casos muy contados.

El método de referencia es la **eliminación de agua doblemente marcada**. La principal ventaja de este método consiste en que puede utilizarse para medir el consumo energético a lo largo de días o incluso de semanas. Consiste en administrar al sujeto una cantidad conocida de agua con doble marcaje isotópico: Deuterio (^2H), por una parte y ^{18}O por otra. Se prefieren isótopos estables a isótopos radioactivos.

El ^{18}O presente en el agua doblemente marcada será eliminado de dos maneras distintas. Por una parte ^{18}O se equilibra con bicarbonato (que es la forma en la que el CO_2 participa en el metabolismo) mediante la reacción de la anhidrasa carbónica:



Y el CO_2 es eliminado por la respiración. Por otra, el ^{18}O será eliminado en forma de agua a través de la orina (preferentemente) o secreciones como saliva, sudor, etc. El deuterio ^2H sólo se elimina en forma de agua. Se hacen entonces dos medidas: Una, inmediatamente después de la administración (que puede ser por vía oral) dando tiempo a la distribución uniforme del agua marcada, y otra, al cabo del tiempo establecido para la medición, que en animales pequeños puede ser de 24 h y en humanos hasta 14 días. Las medidas se hacen normalmente en orina. La proporción de isótopos pesados se determina mediante espectrometría de masas.

Dado que el ^{18}O se reparte entre el CO_2 y el agua y el ^2H únicamente en el agua, la proporción $^{18}\text{O}/^2\text{H}$ que aparece en la orina en la segunda medición será naturalmente menor que en la muestra administrada. Esta diferencia es atribuible a la eliminación en forma de CO_2 del ^{18}O . A partir de ahí podemos calcular la cantidad total de CO_2 producida a lo largo del tiempo de medición. Con ello y con el cociente respiratorio (que se estima en 0.8 para una dieta mixta) calculamos el oxígeno consumido, y con su equivalente calórico (ver sección 12.1.3.2) la cantidad total de energía consumida a lo largo del tiempo de medición.

12.2.3 Requerimiento energético en la infancia temprana (hasta 12 meses)

La aplicación del método de agua doblemente marcada a niños de hasta 12 meses de edad por diversos grupos de investigación ha demostrado una buena correlación lineal con la edad, peso, sexo y talla del niño, siendo quizá el peso el mejor predictor. Por ello, el predictor recomendado por FAO/WHO es el siguiente:

$$\text{RE (MJ/día)} = -0.399 + 0.369 m$$

Donde m es la masa corporal en kg. El factor para transformar MJ en kcal es 239.

Los niños alimentados artificialmente muestran un RE mayor que los alimentados al pecho (12, 7, 6 y 3 % superior a las edades de 3, 6, 9 y 12 meses de edad respectivamente). A partir de los 18 meses ya no hay diferencias entre ambos tipos de alimentación.

Una cantidad considerable de energía se requiere en los primeros meses para el crecimiento, que supone un 37 % en los tres primeros meses (40 % en el primer mes), decayendo a la mitad (17.5 %) en los tres meses siguientes y a un 3 % a los 12 meses. A edades más avanzadas, este requerimiento energético cae hasta un 1-2 % al llegar a la adolescencia.

12.2.4 Requerimiento energético en niños y adolescentes

Las mediciones disponibles del RE en niños y adolescentes aparecen sesgadas pues casi todas ellas se han llevado a cabo en países desarrollados, en los cuales la actividad física a estas edades es sustancialmente menor que en los países en vías de desarrollo.

Un conjunto amplio de estudios sobre el RE nos brinda para estas edades los siguientes predictores:

$$\text{Niños: RE (MJ/día) } 1.298 + 0.265 m - 0.011 m^2$$

$$\text{Niñas: RE (MJ/día) } 310.2 + 63.3 m - 0.263 m^2$$

donde **m** es la masa corporal en kg. Para obtener kcal/día basta con mutiplicar por 239 la cifra de MJ.

En un amplio estudio sobre 4000 chicos y chicas de países desarrollados y 2400 en áreas rurales y urbanas de países en vías de desarrollo se determinó que por término medio en las edades de 5, 10 a 14 y 15 a 19 años, el RE era respectivamente 10, 15 y 25 % más alto en las áreas rurales de países en desarrollo. Por ello se recomienda incrementar las predicciones en estos países en una media del 15 % comenzando a los seis años de edad.

12.2.5 Requerimiento energético en adultos

La variabilidad del RE en adultos es mucho mayor que la observada en otros grupos de edad. Aquí el crecimiento ya no es un factor determinante del RE, y el MB es relativamente constante en grupos de población de una determinada edad y sexo. Por tanto, aquí los factores determinantes van a ser la actividad física y el peso corporal.

Esta variabilidad no permite en principio la aplicación de predictores universales. La introducción del factor actividad física se hace expresándola como múltiplo del metabolismo basal (MB). Éste constituye entre un 45 y un 70 % en adultos, y viene determinado por sexo, tamaño corporal, composición corporal y edad. Si consideramos la actividad física en tres niveles (vida sedentaria, moderadamente activa o vigorosamente activa), los estudios disponibles indican que el nivel de actividad física añade factores estimados en 1.53, 1.76 y 2.25 respectivamente; esto es, el RE se obtiene multiplicando el MB por los factores indicados para esos tres niveles de actividad. Para ello se utilizan los predictores de MB que aparecen en la tabla I (Schofield):

Tabla I

Valores de MB en función de masa corporal (m, kg) para distintas edades y sexo

Edad (años)	Hombres		Mujeres	
	MJ/día	kcal/día	MJ/día	kcal/día
<3	0.249 m - 0.127	59.512 m - 30.4	0.244 m - 0.130	58.317 m -31.1
3-10	0.095 m + 2.110	22.706 m + 504.3	0.085 m + 2.033	20.315 m + 485.9
11-18	0.074 m + 2.754	17.686 m + 658.2	0.056 m + 2.898	12.384 m + 692.6
19-30	0.063 m + 2.896	15.057 m + 692.2	0.062 m + 2.036	14.818 m + 486.6
31-60	0.048 m + 3.653	11.472 m + 873.1	0.034 m + 3.538	8.126 m + 845.6
>61	0.049 m + 2.459	11.711 m + 587.7	0.038 m + 2.755	9.082 m + 658.5

12.2.6 Requerimiento energético en viejos

El metabolismo basal decae en las personas mayores a un ritmo de un 2.9 – 2.0 % por década para hombres y mujeres respectivamente. Este descenso se ha atribuido a la disminución en masa corporal magra (MCM); pero hay estudios en los que se indica que aun teniendo en cuenta esta disminución, el MB decae en un 5 % en viejos respecto a adultos jóvenes.

La actividad física también decae con la edad; aunque se ha observado que las personas mayores que mantienen una actividad física comparable a la realizada en la edad adulta mantienen un RE prácticamente igual. En general, los factores de actividad física en la tercera edad (ver sección anterior) vienen a ser por término medio de 1.72 para hombres y 1.68 para mujeres. Por lo demás, el cálculo del RE se hace a partir de estos factores y los predictores de la tabla I.

12.2.7 Requerimiento energético en el embarazo

La ingesta calórica en el embarazo debe suministrar la energía necesaria para el alumbramiento a término de un recién nacido sano y del tamaño adecuado por parte de una madre cuyo peso, composición corporal y actividad física sean consistentes con una buena salud y bienestar.

La ganancia de peso durante el embarazo comprende los productos de la concepción (feto, placenta, fluido amniótico, etc.), el crecimiento de tejidos maternos (útero, mamas), el incremento en fluido extracelular y el depósito de lípidos en el organismo materno. Los datos estadísticos de la WHO muestran que el peso del recién nacido debe quedar óptimamente entre 3.1 y 3.6 kg, mientras que la ganancia de peso maternal asociada a un parto óptimo está entre 10 y 14 kg, con una media de 12 kg.

El coste energético del embarazo queda determinado por la energía necesaria para la ganancia de peso maternal, asociada al depósito de proteína y lípidos en los tejidos materno, fetal y placentario, y con el aumento del gasto energético asociado al incremento en metabolismo basal y actividad física. Estas necesidades han sido establecidas, por término medio, en una ganancia de peso de la madre de 12 kg, un peso medio del recién nacido de 3.4 kg, un depósito de proteína de 925 g y un depósito de lípidos de 3825 g, con una eficiencia energética del 90 % y un incremento acumulativo (es decir, a lo largo de los nueve meses de gestación) del MB cifrado en 150 MJ.

La proteína se deposita predominantemente en el feto (42 %), en la sangre materna (14 %), en la placenta (10 %) y en las mamas (8 %). El depósito acumulativo de lípidos contribuye de forma significativa a los requerimientos energéticos extra que comporta el embarazo.

El metabolismo basal aumenta en el embarazo debido a una síntesis tisular acelerada, una mayor masa tisular y un aumento del trabajo cardiovascular y respiratorio. El incremento acumulativo del MB se ha estimado entre 124 a 200 MJ, con una media de 150 MJ a lo largo de la gestación se estima que el incremento del MB es de 5, 10 y 25 % para el primero, segundo y tercer trimestre respectivamente. Estos incrementos en el MB están correlacionados con la ganancia de peso, y de acuerdo con mediciones de consumo de O₂ por parte de órganos considerados aisladamente.

En la mayor parte de las sociedades la mujer embarazada continúa con sus actividades normales prácticamente hasta el término de la gestación. El incremento de peso supone pues un aumento de la energía requerida para la actividad física. Este incremento se cifra en 1 %, 6

% y 17 % sobre la actividad pre-embarazo para los trimestres primero, segundo y tercero respectivamente. Ahora bien, dado el incremento en MB, el mayor gasto energético en el embarazo no suele suponer un incremento marcado de la cifra relativa de actividad física con respecto al MB.

Teniendo en cuenta todos estos factores, se estima que el RE durante el embarazo para una ganancia tipo de 12 kg debe aumentar sobre el nivel pre-embarazo en 85, 350 y 1300 kcal/día para el primero, segundo y tercer trimestre respectivamente.

12.2.8 Requerimiento energético durante la lactancia

El RE de una madre durante la lactancia se define como la energía necesaria para mantener la masa y composición corporal normal, el nivel de actividad física compatible con su estado normal y la producción de un volumen adecuado de leche. WHO recomienda para los recién nacidos una lactancia materna exclusiva durante los seis primeros meses de vida extrauterina.

La cantidad media de leche producida por una mujer sana es similar entre diferentes grupos poblacionales, aunque puede haber variaciones en la composición de la leche debido a los diferentes estados nutricionales de la madre. La cantidad de leche producida oscila entre 700 y 850 g/día en países industrializados y 560-800 g/día en países en vías de desarrollo (para lactancia materna exclusiva en los primeros seis meses).

El RE asociado a la lactancia viene determinado por la cantidad de leche producida, su contenido energético y la eficiencia con la que la energía dietaria se convierte en energía de la leche.

El contenido energético de la leche se debe fundamentalmente a su contenido en lípidos, que muestra una variación compleja circadiana, así como con respecto al momento de la toma y entre ambas mamas. Por datos de bomba calorimétrica se atribuye a la leche un valor energético de 2.8 kJ/g (0.67 kcal/g). Se ha calculado asimismo que en condiciones normales la leche es producida con una eficiencia media del 80 %. Por tanto, la energía extra ligada a la producción de leche oscila entre 2500 y 2800 kJ/día (600-672 kcal/día), con una media de 2824 kJ/día (678 kcal/día).

12.3 Los carbohidratos en la nutrición humana

12.3.1 Componentes carbohidratos de la dieta

Desde un punto de vista nutricional, clasificamos a los carbohidratos de una forma ligeramente distinta a la clasificación química de los mismos (Biomoléculas, cap. 1), de manera que atiende más a su presencia cuantitativa en los alimentos. Aquí el criterio principal va a ser el grado de polimerización, al tiempo que se rebaja el límite entre oligo- y polisacáridos. De esta manera, los carbohidratos presentes en la dieta normal humana pueden ser descritos según aparece en la Tabla II:

Tabla II

Carbohidratos principales en la dieta

Clase	Subgrupo	Componentes
Azúcares (1-2)	Monosacáridos	Glucosa, galactosa, fructosa
	Disacáridos	Sacarosa, lactosa, trehalosa
	Polialcoholes	Sorbitol, manitol
Oligosacáridos (3-9)	Malto-oligosacáridos	Maltodextrinas
	Otros oligosacáridos	Rafinosa, Estaquiosa, fructo-oligosacáridos
Polisacáridos (>9)	Almidón	Amilosa, amilopectina, almidones modificados
	Otros polisacáridos	Celulosa, hemicelulosas, pectinas

Estas categorías obedecen también a una distinta significación fisiológica y dietaria, junto con otros conceptos utilizados en nutrición humana.

Bajo el epígrafe **Azúcares** se entienden monosacáridos, disacáridos y polialcoholes presentes en la dieta, que pueden formar parte del alimento primitivo (caso de la lactosa de la leche, de la fructosa de las frutas, etc.) o bien haber sido añadidos secundariamente al mismo (como edulcorantes o estabilizadores osmóticos).

Los carbohidratos de la dieta también pueden ser clasificados como **utilizables** y **no utilizables**. Algunos carbohidratos son rápidamente metabolizados y utilizados para sus fines energéticos o estructurales, como por ejemplo el almidón y los azúcares. Los no utilizables incluyen a la celulosa y hemicelulosas, que entran en la categoría alimenticia de “fibras”. Ahora bien, definir estos como “no utilizables” puede inducir a confusión, ya que estos componentes pueden ser objeto de fermentación bacteriana en el intestino grueso, dando lugar a productos, como ácidos orgánicos de cadena corta, que pueden ser asimilados. Una terminología más adecuada y más aceptada hoy día es la de **glucémicos** (que son los que proporcionan carbohidrato al metabolismo) y **no glucémicos**, los cuales no se absorben pero pueden dar lugar a productos de fermentación asimilables que no entran como azúcares en el metabolismo.

Otro concepto importante en la dietética de los carbohidratos es el de **almidón resistente**. Se trata de almidones o sus productos de degradación que, debido a su forma física en la dieta, no pueden ser absorbidos normalmente. Se trata de almidones físicamente compartimentados, bien sea en el interior de estructuras celulares o de gránulos enteros de almidón.

En la dieta también aparecen **almidones modificados**. Las proporciones relativas de amilosa y amilopectina en los distintos almidones son muy variables, y pueden ser alterada por selección artificial de variedades o por ingeniería genética. Así se han obtenido almidones enriquecidos en amilosa o enriquecidos en amilopectina (almidones céreos), que tienen propiedades físicoquímicas muy diferentes. Los ricos en amilosa requieren en general temperaturas altas para su gelatinización, son más fácilmente retrogradables y forman frecuentemente complejos con lípidos. Estas propiedades pueden ser utilizadas en la formulación de alimentos de bajo índice glucémico. Otras modificaciones del almidón incluyen pregelatinización, hidrólisis parcial (dextrinación) y alteraciones químicas (oxidación, entrecruzamiento, etc.), con las que se obtienen mejoras en la digestibilidad o en las propiedades organolépticas de los alimentos.

Asociado en general a los carbohidratos de la dieta están los componentes que genéricamente denominamos “**fibra**”. La definición inicial de fibra es “aquella porción de los alimentos derivada de la pared celular vegetal y que es muy poco digerible por el ser humano”. Estos

componentes son polisacáridos no amiláceos (celulosa, hemicelulosas y pectinas), aunque incluyen también a la lignina (que no es un carbohidrato). La fibra es, en general, un componente saludable en los alimentos. Se distingue generalmente entre “fibra soluble” y “fibra insoluble”. La primera consiste en aquellos carbohidratos no asimilables que influyen en la absorción de carbohidratos y lípidos en el intestino delgado, mientras que la segunda está constituida por los que contribuyen a la masa fecal en el intestino grueso.

12.3.2 Fisiología de los carbohidratos dietarios

Suministro de energía

Tradicionalmente se ha asignado a los carbohidratos un calor calórico de 4 kcal.g^{-1} . Los monosacáridos individuales presentan un valor calórico menor (3.75 kcal.g^{-1}); y por otra parte, sabemos que una cierta cantidad de carbohidrato alcanza el intestino grueso sin haber sido absorbido (oligosacáridos no digeribles, almidón resistente y polisacáridos no amiláceos). Su contribución al aporte energético, en cualquier caso, sería bastante pequeña (suponiendo su fermentación a ácidos grasos de cadena corta), y algunos autores la cifran en 2 kcal.g^{-1} .

En cualquier caso, la función energética de los carbohidratos es de primera importancia en la dieta.

Digestión y asimilación

La digestión de los carbohidratos comienza en la boca (α -amilasa salivar) y sigue en el estómago, de manera que al intestino delgado llegan glucosa, maltosa, dextrinas e isomaltosa (procedente de las ramificaciones α -1,6 de la amilopeptina). En el intestino delgado se completa la digestión a glucosa gracias a la α -amilasa pancreática. Los disacáridos de la dieta (sacarosa y lactosa fundamentalmente) son hidrolizados por enzimas presentes en el ribete en cepillo de los enterocitos, y que reciben el nombre genérico de disacaridasas. Se han descrito defectos genéticos en estas disacaridasas, que producen intolerancia a los respectivos azúcares. Una condición muy común, la intolerancia a la lactosa, consiste en un fallo de la expresión genética de la enzima en la edad adulta.

Glucosa y galactosa se absorben por el enterocito contra gradiente gracias a un transportador dependiente de sodio (SGLT 1), mientras que la fructosa lo hace pasivamente mediante el transportador GLUT 5. La fructosa sola se absorbe peor que cuando va acompañada de otros azúcares.

Todos estos monosacáridos pasan a la circulación por mecanismos pasivos, causando una elevación en el nivel de glucosa cuya intensidad depende de varios factores, como la velocidad de vaciamiento gástrico y la cinética de la hidrólisis y absorción intestinales.

La elevación del nivel de glucosa determina la secreción de insulina, aunque ésta también obedece a otros estímulos neurales y endocrinos. Igualmente afectan a la secreción de insulina algunos factores relacionados con la dieta, tales como la composición en aminoácidos de la proteína alimentaria.

Lactosa

Es el principal azúcar de la leche, y como tal, de gran importancia alimenticia en los primeros años de vida. En el momento del nacimiento, la actividad lactasa del ribete en cepillo de los enterocitos es muy alta, pero desaparece rápidamente tras el destete, de manera que su

actividad es muy baja en la edad adulta. Una importante excepción a esta regla es la de las razas caucásicas, que mantienen alta esta actividad durante toda la vida. Por esta razón hoy no se considera que la intolerancia a la lactosa sea una condición patológica, ya que es enteramente normal en la mayoría de la humanidad.

Aun así, el intestino puede tolerar o cantidades pequeñas de leche o bien productos fermentados de ésta, que tienen bajo contenido en lactosa y bacterias que ayudan a su hidrólisis. Esto permite una alimentación a base de lácteos, cuya proteína principal, la caseína, tiene un elevado valor biológico por su contenido en aminoácidos esenciales, así como calcio y riboflavina. El queso, por su parte, prácticamente no contiene lactosa.

Glicosilación de proteínas

Una tasa elevada de glucosa en sangre produce la glicosilación no enzimática de las proteínas, particularmente de aquéllas con vida media larga. La reacción tiene lugar entre el monosacárido y un grupo amino de la proteína (normalmente el ϵ -amino de lisina) dando una base de Schiff con posteriores reagrupamientos moleculares. Un grado avanzado de glicosilación conduce a la pérdida de la funcionalidad de la proteína, y se observa normalmente en la diabetes, donde el nivel de hemoglobina glicosilada es un indicador muy fiable del descontrol de la glucemia. La glicosilación de proteínas compromete asimismo a las proteínas del cristalino (con desarrollo de cataratas), a la coagulación de la sangre y a la fibrinólisis.

Lípidos y ácidos biliares

Los carbohidratos influyen en la digestión y absorción de lípidos en un doble sentido. En primer lugar, hay indicios de que la sustitución de los lípidos alimentarios por carbohidratos conduce a un descenso en HDL-colesterol a expensas de un incremento en LDL-colesterol, con el consiguiente aumento del riesgo cardiovascular.

Pero por otra parte, algunos polisacáridos como el β -glucano de la avena disminuyen la colesterolemia, aunque se discute el mecanismo: O bien se trata de que impide la reabsorción de complejos ácidos biliares/lípidos o bien del efecto inhibitorio de los posibles productos de fermentación sobre la síntesis de colesterol. Ahora bien, este efecto no se observa con otros carbohidratos no glucémicos, como los almidones resistentes.

Fermentación

En la fase colónica de la digestión, algunos carbohidratos sufren fermentación por parte de la flora del intestino grueso. Los productos finales son gases (hidrógeno, metano y dióxido de carbono) y ácidos grasos de cadena corta (acetato, propionato y butirato). El acetato es rápidamente absorbido y metabolizado por el hígado. El propionato en la especie humana es poco importante; no así en los rumiantes, donde representa una importante fuente de energía (producida en este caso no en el colon, sino en el estómago). El butirato es metabolizado por los colonocitos, donde al parecer tiene efectos sobre el crecimiento celular, diferenciación y apoptosis.

Hábito intestinal

Los polisacáridos no amiláceos tienen un efecto muy marcado como laxantes, gracias al incremento del contenido colónico y de la velocidad de tránsito intestinal. Este efecto depende de la naturaleza de los polisacáridos y del nivel de fermentación que experimentan en el colon. Los polisacáridos fermentables incrementan la biomasa microbiana del colon, pero este efecto

no añade tanta masa fecal como los polisacáridos no fermentables, que a su propio volumen añaden una importante retención de agua.

Microflora colónica

Los carbohidratos fermentables estimulan el crecimiento bacteriano en el intestino grueso. Esta microflora sintetiza activamente proteína y la biomasa adicional se excreta con las heces. Hoy día se sabe que determinados componentes carbohidratos estimulan selectivamente el crecimiento de algunos tipos de bacteria. Un ejemplo es el efecto de fructo-oligosacáridos en el crecimiento de bifidobacterias. El crecimiento de éstas previene la colonización por otras especies, particularmente de patógenos.

12.3.3 Funciones de los carbohidratos dietarios

Los carbohidratos son el principal suministro de energía dietaria para la mayor parte de la humanidad. Proveen de energía fácilmente utilizable, son el vehículo de otros muchos nutrientes, y su coste económico es por lo general bastante menor que el de lípidos y proteínas. Por otra parte, un nivel alto de carbohidrato en la dieta no tiene consecuencias directas para la salud, a diferencia de lo que ocurre con los lípidos y proteínas. Y contrariamente a lo que comúnmente se piensa, las dietas ricas en carbohidrato en relación a los lípidos reducen la probabilidad de desarrollar obesidad y su patología relacionada. Una dieta óptima debe contener como mínimo un 55 % de su contenido energético en forma de carbohidrato. Ahora bien, no se recomiendan valores superiores al 75 % por la exclusión que supone de otros nutrientes esenciales como lípidos o proteínas.

Balance energético y almacenamiento

En adultos es importante que la cantidad de energía ingerida iguale a la energía utilizada. Mantener este balance es importante para evitar la obesidad y su patología asociada, como enfermedades cardiovasculares o diabetes. La obesidad se desarrolla ante balances positivos de energía, independientemente de la composición alimentaria de ésta; sin embargo, la naturaleza de la dieta puede afectar la medida en que el exceso energético tiene lugar.

Las dietas que contienen al menos un 55 % de su contenido energético en forma de carbohidrato, a diferencia de las ricas en lípidos, reducen la probabilidad de desarrollo de obesidad. Se sabe que las dietas ricas en lípidos tienden a producir un mayor consumo de energía que las ricas en carbohidrato. Este efecto parece ser debido a la baja densidad energética del carbohidrato comparada con la de los lípidos, lo que requiere un mayor volumen de éstos; y el volumen de la ingesta parece tener una importancia determinante en la sensación de saciedad.

La composición de la dieta afecta asimismo a la cantidad que va ser almacenada en forma de triacilglicerol. Cualquier exceso de lípidos se almacena muy eficientemente en forma de triacilglicerol. Un exceso de carbohidratos, al contrario, tiende a ser degradado por oxidación, lo que indirectamente lleva a que aumente la acumulación de lípidos al no ser necesaria su degradación.

Se pensaba que los excesos de carbohidrato y lípido eran igualmente causantes de obesidad. Esto se debía a la suposición que la lipogénesis *de novo* era la forma habitual de metabolizar el exceso de carbohidrato. Los datos actuales, sin embargo, sugieren que esto solamente ocurre en la sobrealimentación hidrocarbonada. En circunstancias normales, la lipogénesis *de novo* es

cuantitativamente muy baja. Puede tener lugar ante la resistencia a insulina y con un consumo muy elevado de sacarosa o fructosa.

Actividad física

El mantenimiento del balance energético depende por igual de la ingesta energética y de su gasto. El mantenimiento de una actividad física regular reduce en gran medida la probabilidad de caer en un balance positivo, independientemente de la composición de la dieta. La combinación de una dieta rica en carbohidrato y una actividad física regular es la mejor manera de evitar balances positivos de energía y obesidad.

Hay asimismo una evidencia sustancial sobre la importancia de una dieta rica en carbohidratos en la práctica de deportes a nivel de élite. Una dieta rica en carbohidratos los días previos al evento deportivo, una comida rica en carbohidrato inmediatamente antes y el suplemento con bebidas ricas en carbohidrato aumentan el rendimiento durante la carrera o el ciclismo de alta competición. No hay evidencia, sin embargo, de que tales dietas operen de la misma manera en actividades recreativas o en deportes de baja intensidad.

Conducta y desarrollo cognitivo

Aun cuando está demostrado que un desayuno abundante mejora el rendimiento escolar de niños, no está demostrado que su composición tenga ninguna influencia en particular. Aunque se ha sugerido que el consumo excesivo de carbohidrato lleva a hiperactividad infantil, no hay evidencia definitiva de que la ingesta de carbohidratos en particular influya sobre la conducta o el rendimiento escolar.

Tampoco está clara la relación entre el consumo de carbohidratos y las funciones cognitivas o de memoria.

Carbohidratos y ciclo vital

Durante el embarazo y la lactancia las necesidades energéticas se ven incrementadas. Se ha observado que cuando hay poca variedad en la dieta y la ingesta de carbohidrato es alta, el peso del recién nacido es bajo, por lo cual no se recomienda exceder demasiado de los niveles de carbohidrato estimados como mínimo (55 % de la ingesta energética), siempre y cuando se alcancen los valores energéticos necesarios. Igualmente, un nivel alto de lípidos puede conducir al desarrollo de obesidad en la madre.

En muchos países los bebés reciben 45-55 % de la energía en forma de lípidos presentes en la leche materna o de fórmulas con un contenido hidrocarbonado del 35-45 %. No se recomiendan a este nivel reducciones en la ingesta de lípidos siempre y cuando el suministro energético sea el adecuado. A partir de los dos años de edad, se recomienda ir introduciendo gradualmente el nivel óptimo de carbohidrato (en torno al 55 % de la ingesta energética).

Durante los primeros seis meses de vida se recomienda una lactancia materna exclusiva, lo que regula perfectamente la concentración de lactosa, la microflora intestinal y la producción de amilasa pancreática. Para los niños alimentados artificialmente, se recomienda que las fórmulas imiten a la leche materna en la mayor medida posible.

En personas de edad avanzada la individualización de la dieta hidrocarbonada puede ser necesaria. Los viejos, en muchos países, corren el riesgo tanto de obesidad como de desnutrición, y los hábitos alimenticios pueden alterarse por la percepción gustativa, enfermedades crónicas o medicaciones. Algunos individuos requieren una mayor densidad

energética en la dieta (esto es, lípidos) para prevenir la desnutrición. Otros necesitan optimizar la ingesta de carbohidrato para minimizar la intolerancia a la glucosa.

12.3.4 El Índice Glucémico (IG)

Se define como el área incremental bajo una curva de tolerancia de glucosa a 50 g de un alimento expresada como porcentaje de la respuesta a una misma cantidad de un alimento standard (tipo). Las curvas de tolerancia son un procedimiento diagnóstico que consiste en la medición del nivel de glucemia tras la administración de una determinada cantidad de un carbohidrato, habitualmente glucosa, a una serie de tiempos.

El índice glucémico se calcula como el área incremental (es decir, el área que queda por encima del nivel basal de glucemia) aplicando la regla trapezoidal. Puede verse un ejemplo en la [figura 12.1](#).

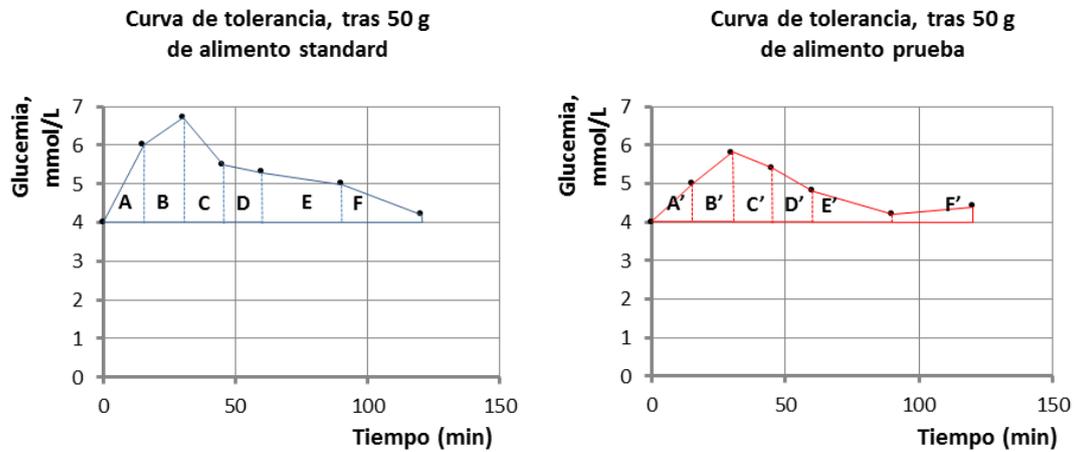
El alimento que se mide debe contener 50 g de carbohidrato glucémico (esto es, utilizable). En la práctica esto se suele medir como carbohidrato total menos fibra dietaria. La glucemia se debe medir preferentemente en sangre capilar, dado que es de más fácil obtención y menos variable que la glucemia venosa.

Como alimento standard pueden utilizarse glucosa o pan blanco. El IG obtenido en este último caso es aproximadamente 1.4 veces el obtenido con glucosa. Por otra parte, el IG varía considerablemente en diferentes días para un mismo sujeto. Así, se recomienda un mínimo de tres determinaciones.

El IG puede ser utilizado, junto con información sobre la composición del alimento, para dar indicaciones útiles sobre las dietas. Así, tienen un IG bajo las legumbres, cereales preparados o la pasta. En general, son preferibles siempre alimentos con IG bajo, aunque a veces éstos suelen tener un contenido lipídico alto. En ocasiones es preferible un IG alto si el alimento es de bajo contenido energético y rico en otros nutrientes.

Los alimentos con IG bajo reducen la glucosa postprandial y la respuesta insulínica. Algunos estudios demuestran que los almidones con IG bajo, así como otros alimentos de bajo IG retardan la aparición de diabetes tipo II; al tiempo reducen la glucemia, la secreción de insulina y los triacilglicerolos séricos. Por otra parte, los alimentos con IG bajo son menos digeribles y aumentan la cantidad que llega al colon, aumentando la fermentación, la producción de ácidos de cadena corta y mejorando el hábito intestinal.

Figura 12.1



$$\text{Índice glucémico (IG)} = \frac{\text{Área bajo curva prueba (A'+B'+C'+D'+E'+F')}}{\text{Área bajo curva standard (A+B+C+D+E+F)}} \times 100$$

12.4 Los lípidos en la nutrición humana

Una definición aceptable de lípidos es la de compuestos no macromoleculares de naturaleza hidrofóbica o anfipática, originados en todo o en parte mediante condensaciones de fragmentos C2 (acetato) o C5 (isopreno). Desde un punto de vista nutricional, las principales clases de lípidos son: ácidos grasos, acilgliceroles (especialmente los triacilgliceroles o triglicéridos), fosfo- y glicolípidos, esteroides y otros compuestos poliprenoides.

En la dieta, los lípidos representan un alimento de alto contenido energético (9 kcal/g por término medio) y susceptible de constituir las más importantes reservas energéticas del organismo (el tejido adiposo). Por otra parte, los lípidos contribuyen de una manera decisiva a la *palatabilidad* de los alimentos.

Los lípidos dietarios incluyen todos los lípidos de origen animal o vegetal que se ingieren como alimento; se suele distinguir entre grasas (sólidos) y aceites (líquidos). Los más comunes son los acilgliceroles, esencialmente constituidos por triacilgliceroles o triglicéridos. Menos importantes son los mono- y diacilgliceroles y los fosfolípidos. Hay también un contingente relativamente importante de esteroides y sus ésteres.

12.4.1 Los ácidos grasos

Los ácidos grasos presentes en los lípidos de la dieta suelen clasificarse en tres grandes grupos dependiendo de su grado de insaturación. Así, distinguimos entre ácidos grasos saturados (AGS), que no contienen ninguna insaturación, ácidos grasos monoinsaturados (AGMI), que contienen un único doble enlace y ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), que contienen dos o más dobles enlaces. La gran mayoría de las insaturaciones son del tipo geométrico *cis*-. Ahora bien, se debe tener en cuenta además la presencia (aunque minoritaria) de ácidos grasos insaturados en *trans*- (AGTI).

Ácidos grasos saturados (AGS)

Los AGS se clasifican según la longitud de la cadena. Así, distinguimos:

- Ácidos grasos de cadena corta: C4 (butírico), C6 (caproico)
- Ácidos grasos de cadena media: C8 (caprílico), C10 (cáprico), C12 (láurico)
- Ácidos grasos de cadena larga: C14 (mirístico), C16 (palmítico), C18 (esteárico), C20 (araquídico)
- Ácidos grasos de cadena muy larga: C22 (behénico), C24 (lignocérico)

Los AGS de cadena corta aparecen principalmente en lácteos (leche, mantequilla, etc.); los de cadena media en aceites de coco y de palma (y algo también en lácteos). Los de cadena larga aparecen en todo tipo de grasas y aceites; AGS de cadena muy larga aparecen en el aceite de cacahuete.

Ácidos grasos monoinsaturados (AGMI)

El AGMI cuantitativamente más importante es el **ácido oleico** (*cis*-9 octadecenoico), tanto en alimentos de origen animal o vegetal; de menor importancia son palmitoleico (*cis*-9 hexadecenoico), *cis*-vaccénico (*cis*-11 octadecenoico), gadoleico (*cis*-9 eicosaenoico y *cis*-11 eicosaenoico), erúxico (*cis*-13 docosaenoico) y nervónico (*cis*-15 tetracosaenoico)

El ácido oleico aparece principalmente en aceites, sobre todo en aceite de oliva; los de cadena muy larga, en aceites marinos.

Ácidos grasos poliinsaturados (AGPI)

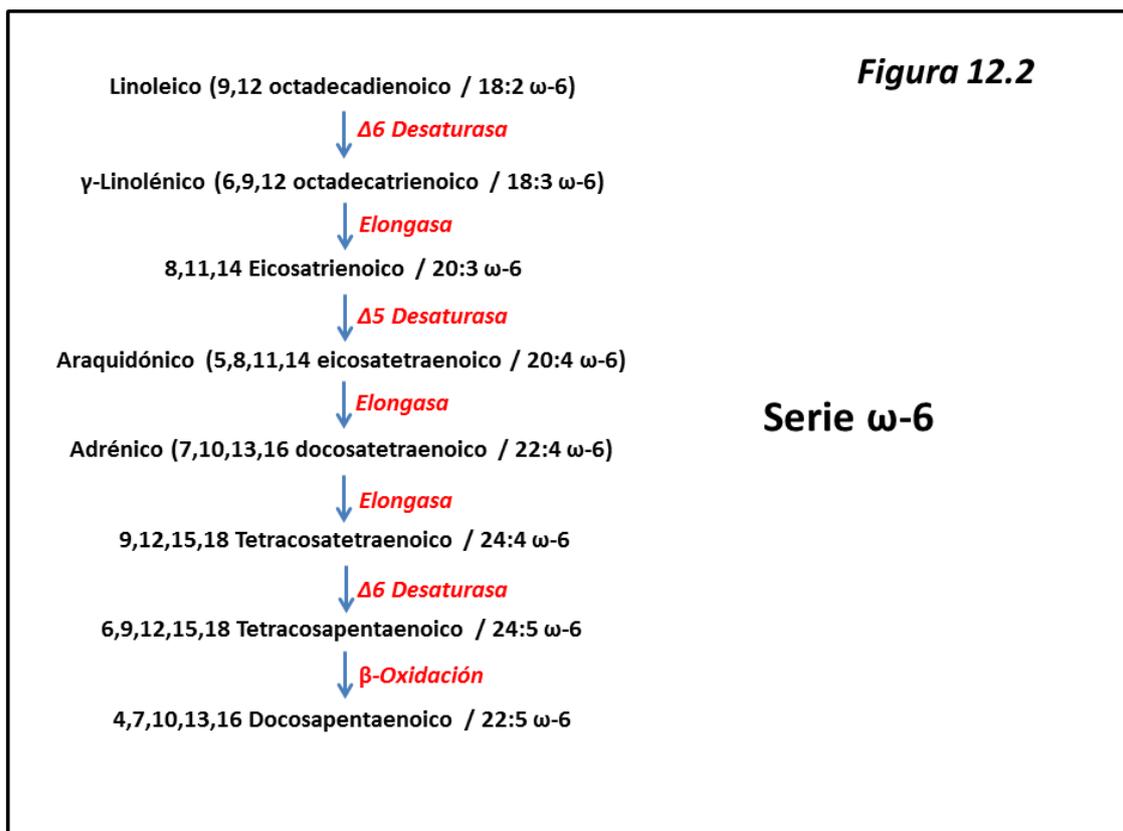
En los ácidos grasos poliinsaturados las insaturaciones no aparecen en conjugación $-C=C-C=C-$ sino separadas por grupos metileno $-C=C-CH_2-C=C-$ e invariablemente del tipo geométrico *cis*-. Podemos considerar que existen dos familias básicas en los AGPI, ω -6 (también conocidos como n-6) y ω -3 (sinónimo de n-3). Esta denominación alude a la situación de una insaturación con respecto al grupo metilo terminal del ácido graso (el carbono ω o n).

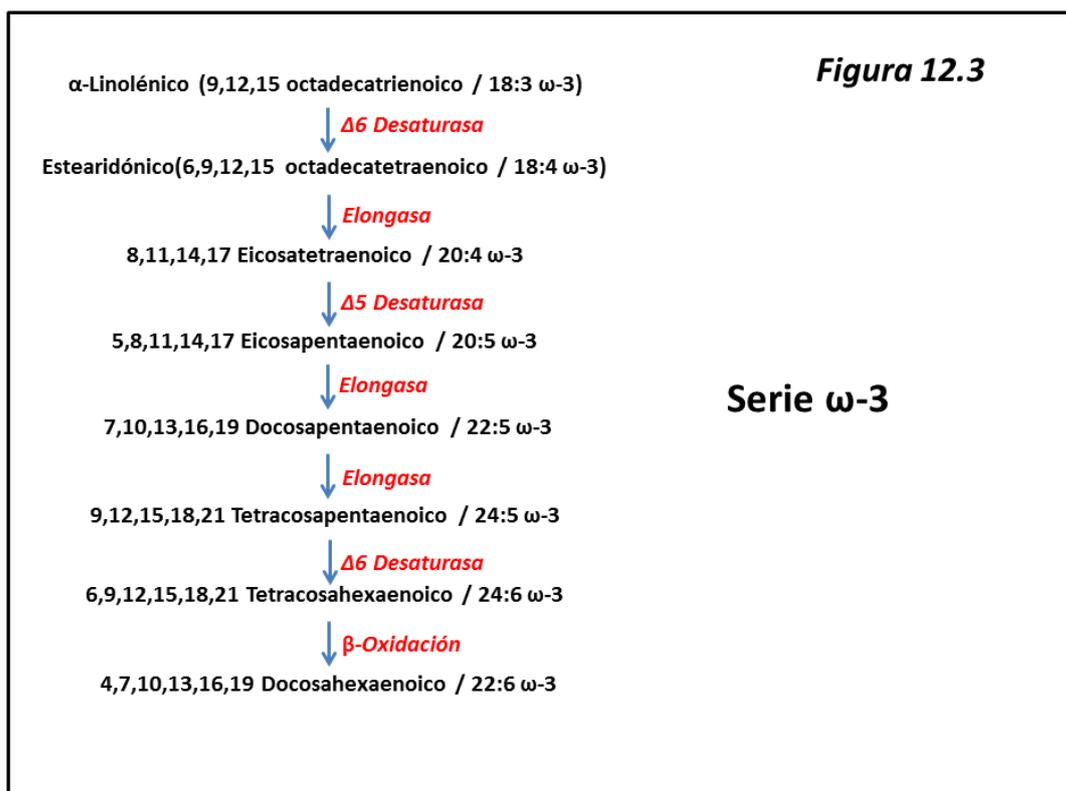
El ácido graso que da origen a la serie ω -6 es el **ácido linoleico** (*cis*-9,*cis*-12 octadecadienoico). Otros AGPI de la serie ω -6 son: γ -linolénico (6,9,12 todo-*cis* octadecatrienoico), araquidónico (5,8,11,14 todo-*cis* eicosatetraenoico), adrénico (7,10,13,16 todo-*cis* docosatetraenoico) y docosapentaenoico (4,7,10,13,16 todo-*cis* docosapentaenoico). El ácido linoleico es abundante en todo tipo de aceites vegetales; los demás aparecen como componentes minoritarios de grasas y aceites animales, particularmente de origen marino. El ácido araquidónico es el precursor de los eicosanoides.

La serie ω -3 se origina a partir del **ácido α -linolénico** (9,12,15 octadecatrienoico). Otros AGPI ω -3 son: estearidónico (6,9,12,15 todo-*cis* octadecatetraenoico), eicosapentaenoico (5,8,11,14,17 todo-*cis* eicosapentaenoico), docosapentaenoico (7,10,13,16,19

docosapentaenoico) y docosahexaenoico (4,7,10,13,16,19 docosahexaenoico). El ácido α -linolénico es un componente importante de aceites vegetales (en especial de soja), aunque siempre en menores proporciones que el ácido linoleico. Los demás aparecen como componentes de aceites animales, en particular marinos. Eicosapentaenoico y docosahexaenoico son muy importantes en la nutrición humana.

Los ácidos linoleico y α -linolénico son esenciales en la dieta humana, ya que el metabolismo animal es incapaz de producir insaturaciones más allá de C-9; el resto de los ácidos ω -6 y ω -3 se producen por elongación de estos dos ácidos y la actuación de Δ 5- y Δ 6- desaturasas (figuras 12.2 y 12.3). El ácido araquidónico, considerado antiguamente como esencial, no lo es, ya que puede sintetizarse a partir del ácido linoleico.





Ácidos grasos trans-insaturados (AGTI)

La dieta humana contiene asimismo AGTI, presentes en pequeñas proporciones en productos lácteos y sobre todo en grasas procedentes de la hidrogenación industrial de aceites vegetales (margarinas).

12.4.2 Digestión, absorción y transporte de los lípidos

La digestión de los lípidos es un proceso que comienza con el ataque a los triacilglicérols por parte de las lipasas salivares y gástricas, y rematado por la lipasa pancreática en el intestino delgado, donde son emulsificados por las sales biliares. La hidrólisis de triacilglicérols da lugar a sn-2 monoacilglicérols y ácidos grasos libres. El monoacilglicérol facilita la absorción de AGPI, que ocupan muy frecuentemente la posición sn-2 de los glicérolípidos. Asimismo, los ésteres de colesterol son hidrolizados a colesterol libre y ácidos grasos.

Una vez absorbidos en el enterocito, se resintetizan triacilglicérols y ésteres de colesterol; todos ellos se combinan con apolipoproteínas y pasan a la circulación general por vía linfática, constituyendo las partículas que conocemos como quilomicrones. El destino de los quilomicrones y de otras lipoproteínas se detalla en el capítulo 6 de esta misma obra.

La estructura del alimento influye en la absorción de los distintos lípidos. Así, se ha observado que los ácidos ω -3 eicosapentaenoico y docosahexaenoico se incorporan más fácilmente a partir de aceites de origen marino que cuando se administran libres en cápsulas como complemento alimenticio. Los lípidos de origen lácteo, administrados como queso, no elevan el colesterol total ni el LDL-colesterol, al contrario de lo que ocurre con la misma cantidad de mantequilla; y en general, la administración de lípidos en sus formatos alimenticios habituales

conduce a un menor aumento de triacilgliceroles circulantes que cuando se administran como entidades químicas definidas en dietas de laboratorio.

La situación de AGPI en la posición sn-2 del glicerol facilita su absorción (en las posiciones sn-1 y sn-3 suelen aparecer AGS o AGMI). Los AGPI son abundantes en los aceites de semilla y en los aceites marinos. También aparecen generalmente ligados a la posición sn-2 de los fosfolípidos.

12.4.3 Metabolismo de ácidos grasos: aspectos de interés nutricional

En general, el proceso de producción de energía a través de β -oxidación, tanto mitocondrial como peroxisomal, es relativamente poco eficiente en comparación con la degradación aeróbica de carbohidratos. Así, las dietas hipercalóricas ricas en lípidos conducen sobre todo a su acumulación en el tejido adiposo. En líneas generales, los ácidos grasos se degradan tanto más eficientemente cuanto más corta sea la cadena y mayor el grado de insaturación.

La biosíntesis de ácidos grasos termina generalmente al llegar a C16 (ácido palmítico) que puede ser elongado posteriormente por sistemas enzimáticos de elongación. Los AGS pueden ser desaturados por el sistema 9-desaturasa (cap. 6) dando lugar principalmente a ácido oleico a partir de ácido esteárico. En los animales no es posible formar insaturaciones más allá de la posición 9.

Ante dietas altas en carbohidrato y bajas en lípidos, la mayor parte de los AG almacenados en el tejido adiposo son palmítico, esteárico y oleico, que son los principales productos de la síntesis *de novo*.

Los ácidos linoleico y α -linolénico son esenciales en la dieta humana; ahora bien, el metabolismo puede dar lugar, a partir de ellos, al resto de los AGPI ω -6 y ω -3 respectivamente, gracias a la acción de 5- y 6- desaturasas, sistemas de elongación microsomales y de β -oxidación peroxisomal. No obstante, la síntesis de los ω -3 eicosapentaenoico y docosahexaenoico (los más importantes desde el punto de vista nutricional) es poco eficiente a partir de α -linolénico, por lo que la presencia de aquéllos en la dieta es muy recomendable.

Los niveles bajos de insulina y las deficiencias nutricionales en minerales como hierro, zinc, cobre y magnesio disminuyen la actividad de las 5- y 6- desaturasas, impidiendo así la formación de AGPI de cadena larga o muy larga, hecho que ha de tenerse en cuenta en los estados de malnutrición. Igualmente, y dado que estas conversiones tienen lugar en el hígado, las insuficiencias hepáticas conducen a una disminución de AGPI disponibles.

12.4.4 Lípidos en la dieta: requerimientos en las edades infantil y juvenil

Los lípidos son componentes estructurales de todos los tejidos, en tanto en cuanto son los elementos básicos en la arquitectura de membranas de células y organelas celulares. El cerebro, la retina y otros tejidos neurales son particularmente ricos en AGPI de cadena larga (eicosapentaenoico y docosahexaenoico). Igualmente, al ser precursores de eicosanoides y docosanoides tienen una gran importancia en todos los fenómenos de señalización celular. Parece ser, igualmente, que los AGPI tienen un papel importante en la expresión genética. Por otra parte, los lípidos de la dieta afectan al metabolismo del colesterol en una medida que puede tener consecuencias en la edad adulta. Por todas estas razones hoy día se presta mucha atención no sólo a la cantidad de lípidos presentes en la dieta infantil y juvenil, sino también, y

principalmente, a la calidad de los mismos en lo que respecta al contenido en ácidos grasos esenciales ω -6 (ácido linoleico) y ω -3 (ácido α -linolénico).

El coste energético del crecimiento es un componente muy importante del requerimiento energético total (RE) en estas edades; hasta los 6 meses de vida, se estima en un 20-30% del RE total, disminuyendo progresivamente al 5 % a los 12 meses. En las edades posteriores el porcentaje de energía en forma de lípidos viene a ser algo mayor (30-35 %) que el observado para adultos (20-35).

En los lactantes de 0 a 6 meses se recomienda que un 40-60 % del RE total se administre en forma de lípidos (cifra que coincide con el contenido lipídico de la leche materna), descendiendo hasta un 35 % progresivamente a los 12 meses.

En edades posteriores, no hay evidencia de que dietas que mantengan este nivel de lípidos (pero sin superarlo) sean perjudiciales para la salud o el crecimiento del niño o del joven. Antes bien, las dietas bajas en lípidos pueden ocasionar problemas debido a la falta de vitaminas liposolubles u otros factores.

12.4.5 Lípidos en la dieta: requerimientos en adultos

Los lípidos contribuyen en gran medida a la palatabilidad de los alimentos. Determinan la textura, el sabor y el aroma de los alimentos. Además, los lípidos retardan el vaciamiento gástrico promoviendo sensación de saciedad. Los lípidos de la dieta proveen de ácidos grasos esenciales y vitaminas liposolubles. Todo esto demuestra la importancia de los lípidos en la dieta humana, independientemente de los efectos para la salud que puedan tener los excesos alimentarios de los mismos.

Las recomendaciones dietarias para lípidos (según WHO) aparecen en la tabla III expresados como porcentaje de la energía alimentaria total (%E)

Tabla III

Requerimiento (recomendado) diario de lípidos totales y ácidos grasos, adultos

Tipo	%E
Lípidos totales	20-35
AGS	10
AGMI	2-4
AGPI, total	6-11
AGPI, ω -6	2.5-9
AGPI, ω -3	0.5-2
AGTI	<1

(AGS, ácidos grasos saturados; AGMI, ácidos grasos monoinsaturados; AGPI, ácidos grasos poliinsaturados; AGTI, ácidos grasos trans-insaturados). Las cantidades se expresan como porcentaje de la ingesta calórica total.

Un porcentaje elevado (>10% E) de ácidos grasos saturados, a expensas de los insaturados (AGMI + AGPI) eleva la tasa de lipoproteínas LDL y la relación colesterol total/colesterol-HDL, con el consiguiente riesgo de enfermedad cardiovascular.

Por su parte, los ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) disminuyen la tasa de LDL y la relación colesterol total/colesterol HDL. Este mismo efecto se ve con los poliinsaturados (AGPI).

Los poliinsaturados linoleico y α -linolénico son esenciales en la dieta humana, habiéndose comprobado que los ω -3 disminuyen el riesgo de enfermedad cardiovascular.

Los ácidos grasos trans-insaturados disminuyen la tasa de lipoproteína HDL y elevan la relación colesterol total/colesterol-HDL, incrementando así el riesgo de enfermedad cardiovascular.

12.4.6 Colesterol y Nutrición

El colesterol es una molécula absolutamente necesaria para la vida. Su principal función estriba en el mantenimiento de una fluidez óptima en las membranas celulares, pero también es el precursor de muchos componentes indispensables en las funciones orgánicas, como calciferoles (vitaminas D), ácidos biliares y hormonas esteroideas.

El colesterol se sintetiza activamente en el hígado, de manera que no es necesario en absoluto un mínimo dietario para el mismo. Por otra parte, el organismo es incapaz de degradar completamente el sistema polialicíclico de la molécula. Por tanto, no se considera nunca el colesterol como elemento energético en la dieta; y por otra parte, esto hace que los excesos de colesterol sean excretados como tales o como sus productos de oxidación (esencialmente ácidos biliares) a través de la secreción biliar; o bien tienden a depositarse en las placas ateromatosas propias de la arteriosclerosis.

El colesterol, presente en todos los alimentos de origen animal, se absorbe en el intestino junto con los demás lípidos gracias a la acción emulsificante de los ácidos biliares y pasa a los quilomicrones. En esta absorción hay que considerar dos componentes. Por una parte está el colesterol dietario, y por otra, el segregado con la bilis junto con ácidos biliares derivados del colesterol. Esto determina un ciclo de secreción/reabsorción según el cual los esteroides presentes en las heces suponen una fracción muy pequeña del colesterol total que llega al intestino. Por su parte, el colesterol de origen endógeno que se sintetiza en el hígado circula ligado en principio a la fracción VLDL de las lipoproteínas. La evolución de estos dos tipos de partículas (quilomicrones y VLDL) da lugar a las LDL, que son las encargadas de llevar colesterol a todas las células del organismo, en las que entran gracias a la presencia del receptor LDL.

Ahora bien, el nivel de LDL está asociado claramente al riesgo de enfermedad cardiovascular; por esa razón, el colesterol presente en estas lipoproteínas es conocido popularmente como “colesterol malo”. Por su parte, las lipoproteínas HDL están encargadas del transporte de colesterol entre las distintas fracciones de lipoproteínas y hacia el hígado. Dado que las HDL “descargan” de colesterol a las LDL, VLDL y quilomicrones, el colesterol ligado a HDL recibe popularmente el nombre de “colesterol bueno”.

Por todas estas razones, se recomienda que el colesterol sérico no sobrepase en ningún momento el nivel de 200 mg/dL. Una fracción importante del mismo es colesterol de origen endógeno, pero una porción significativa procede de la ingesta dietaria, que irá casi directamente a parar a la fracción LDL de las lipoproteínas. Independientemente de las importantes funciones fisiológicas del colesterol, un interés nutricional generalizado es la disminución del mismo en la dieta. Esto puede lograrse de varias maneras.

En primer lugar, tratando de minimizar la absorción intestinal del colesterol. En este sentido es muy importante la fibra dietaria (presente, por ejemplo, en preparados de avena) o bien ciertos esteroides vegetales que compiten con el colesterol pero que no son utilizados por el organismo, como el fitosterol o el estigmasterol. En segundo lugar, con la presencia de poliinsaturados de la serie ω -3, que aparecen fundamentalmente en aceites de pescado azul (arenque, sardinas, caballa, etc.) y que han mostrado un efecto beneficioso en la prevención de enfermedad cardiovascular. Estos mismos poliinsaturados están presentes en muchos frutos secos, como nueces, almendras y avellanas; aunque en este caso se debe tener precaución dado que son alimentos hipercalóricos.

12.5 Las proteínas en la dieta humana

12.5.1 Introducción

La presencia de proteínas es esencial para el establecimiento de una dieta saludable, requerida tanto para el crecimiento como para la síntesis y mantenimiento de las aproximadamente 30000 proteínas codificadas por el genoma humano, así como para otros compuestos nitrogenados de la misma importancia. Todos estos elementos contribuyen al mantenimiento de un *pool* nitrogenado que intercambia con el entorno, y cuyas pérdidas deben ser necesariamente compensadas por una dieta adecuada.

La demanda metabólica de proteína viene determinada por la naturaleza e intensidad de las rutas metabólicas que consumen aminoácidos y en la que podemos distinguir dos componentes: mantenimiento y necesidades especiales. El mantenimiento consiste en todos aquellos procesos que consumen aminoácidos y que dan lugar a las pérdidas de nitrógeno por vía urinaria (fundamentalmente), fecal y otras pérdidas menores. Las necesidades especiales comprenden el crecimiento, el embarazo y la lactancia.

El requerimiento dietario de proteína es la cantidad de proteína que debe estar presente en la dieta para satisfacer la demanda metabólica y alcanzar el equilibrio nitrogenado. El requerimiento es siempre mayor que la demanda metabólica, ya que en su consideración entran factores como la digestión y absorción, así como la eficiencia de su utilización por las vías metabólicas correspondientes. El parámetro básico de medida respecto a la dietética de las proteínas es el **balance nitrogenado**, esto es, la suma algebraica de los ingresos más las pérdidas. Se alude al nitrógeno porque este elemento es suministrado a la dieta por las proteínas de forma absolutamente mayoritaria, siendo 1 g de nitrógeno el equivalente aproximado a 6 g de proteína; y por otra parte, la determinación de nitrógeno tanto en los componentes de la dieta como en orina y heces es un procedimiento de laboratorio altamente estandarizado y fiable.

Cuando se suprime completamente el suministro dietario de nitrógeno (en forma de proteína) manteniendo sin embargo los requerimientos energéticos y los de otros nutrientes no proteicos, sigue habiendo una pérdida urinaria y fecal de nitrógeno, que se define como **pérdida obligatoria** de nitrógeno. A medida que aumentamos el contenido nitrogenado de la dieta, llega un momento en el que el balance nitrogenado se hace igual a cero (es decir, ingresos = pérdidas). Éste es el nivel mínimo que debe estar presente en la dieta, el **requerimiento mínimo de proteína**. Por muchas razones, determinar este mínimo es bastante difícil.

A todo esto hay que añadir las especiales características de las proteínas, compuestas por veinte aminoácidos de los cuales 9 son absolutamente indispensables en la dieta dado que nuestro organismo no puede sintetizarlos, los **aminoácidos esenciales o indispensables**. A diferencia, pues, del requerimiento en carbohidratos, la presencia de la proteína en la dieta no sólo está sujeta al ingreso de una determinada cantidad mínima, sino también a su **calidad**, esto es, a su contenido en aminoácidos esenciales. Se trata de algo parecido a la presencia obligada de ácidos grasos esenciales en la dieta, sólo que en un grado mucho mayor.

12.5.2 Factores que influyen en el requerimiento mínimo de proteína

Demanda metabólica

Es el flujo de aminoácidos a través de las rutas que mantienen la estructura y función del organismo. Esto incluye la conversión de aminoácidos concretos a metabolitos centrales, con la consiguiente eliminación de nitrógeno en forma de urea y otros compuestos terminales. Esta demanda es variable no sólo entre individuos, sino incluso para el mismo individuo a diferentes horas del día o en función de su actividad física.

La demanda basal de nitrógeno iguala, al menos en teoría, a la pérdida obligatoria. Esta pérdida depende de muchos otros factores como edad, sexo, dieta, composición corporal, estatus hormonal y actividad física. Es evidente que cuantificar la demanda obligatoria y la influencia de los factores individuales es una tarea bastante complicada.

Crecimiento

El incremento en masa y longitud, junto con los procesos de desarrollo y maduración de funciones que acompañan al crecimiento, marca unas necesidades de cantidad y calidad de proteína que iguale la masa y patrón de aminoácidos propios del nuevo material depositado; lo mismo ocurre con las necesidades proteínicas del embarazo y la lactancia-

Requerimiento energético

Las relaciones entre ingesta de proteína y requerimiento energético son complejas y no del todo conocidas. Para un nivel constante de gasto energético, un exceso en la entrada de energía, independientemente de su calidad (carbohidrato o lípido), conduce a un balance nitrogenado más positivo, que probablemente se debe a la acción de la insulina.

Al llegar a este punto se hace necesario recordar que las proteínas de la dieta incrementan significativamente el gasto energético (y por tanto la demanda), efecto conocido como **Acción dinámica-específica**, cuyas causas no están aclaradas del todo. Se sabe con certeza que no está asociado al proceso de digestión y absorción de las proteínas puesto que se observa el mismo efecto ante la administración parenteral de aminoácidos.

Micronutrientes

Las rutas metabólicas que implican a los aminoácidos requieren obligatoriamente la presencia de muchos micronutrientes, como metales traza y vitaminas, que han de estar presentes en la dieta. Ahora bien, un exceso de los mismos puede conducir al establecimiento de rutas metabólicas no necesarias que pueden resultar perjudiciales. Por ejemplo, un exceso de zinc conduce a una síntesis exagerada de metalotioneína, lo cual introduce una demanda adicional por tioaminoácidos como cisteína o metionina. Igualmente, un exceso de hierro provoca una síntesis exagerada de ferritina que puede desviar aminoácidos de funciones como el crecimiento.

Actividad física

Un persona activa tiene una mayor gasto energético que otras; por consiguiente incrementa su ingreso energético dietario a base de una dieta más abundante. Pero en estas condiciones, la demanda de nitrógeno crece mucho menos que la de energía, con lo cual entran más aminoácidos de los necesarios, y de esta manera la calidad de los mismos se hace menos importante. Por el contrario, un nivel bajo de actividad produce una disminución de la ingesta, con disminución concomitante de la proteína dietaria; por ello se puede crear un desajuste en cuanto a la calidad de los aminoácidos requeridos para satisfacer la demanda metabólica.

Digestibilidad de las proteínas

Se define la digestibilidad de las proteínas en términos de balance de nitrógeno desde la boca a la válvula ileo-cecal (digestibilidad ileal) o de la boca al ano (digestibilidad fecal). La diferencia entre entradas y salidas nos dan una medida de la digestión y absorción de la proteína alimentaria a lo largo del tracto gastrointestinal.

El suministro dietario de nitrógeno está constituido principalmente por proteína, pero también incluye aminoácidos libres, nucleótidos, creatina y otros compuestos nitrogenados. La integridad del tracto gastrointestinal está mantenida por la secreción de compuestos nitrogenados como mucinas y anticuerpos, y por la descamación constante de enterocitos. Además, hay una secreción significativa de proteínas asociadas a los procesos de digestión y absorción (los zimógenos pancreáticos, por ejemplo). La mayor parte de las proteínas, independientemente de su procedencia, son completamente digeridas y los aminoácidos resultantes son absorbidos, de manera que esta absorción es prácticamente completa al llegar al íleon terminal.

El contenido en nitrógeno del efluente que llega al intestino grueso es solamente un 50 % mayor que el que se encuentra en heces. Pero este dato viene a significar que a lo largo del intestino grueso también hay fenómenos de intercambio y absorción de nitrógeno. Efectivamente se ha podido comprobar la secreción en el colon de mucinas, células de descamación y compuestos nitrogenados como urea, y en menor medida, creatina y ácido úrico. Estos compuestos nitrogenados son captados por la flora microbiana colónica y transformados en amoníaco, pero también a partir de ellos se pueden sintetizar nuevas moléculas de aminoácidos que son absorbidos, incluso esenciales.

Para un organismo adulto tipo, que ingresa 14 g de nitrógeno en la dieta, se puede estimar que:

- Las secreciones hasta el íleon terminal suponen unos 15 g/día, que unidos a los de la dieta, representan un flujo de 29 g, de los cuales son absorbidos 26 g y llegan al intestino grueso, por lo tanto, 3 g.
- Las secreciones en el intestino grueso suponen unos 17 g diarios, que unidos a los que llegan desde el intestino delgado dan lugar a un flujo de 20 g, de los cuales son absorbidos 18 g, pasando a las heces unos 2 g de nitrógeno. (Recuérdese que 1 g de nitrógeno equivale por término medio a 6 g de proteína).

Calidad de la proteína

La calidad de la proteína es un concepto que se refiere al patrón de aminoácidos esenciales relativo a la demanda, permitiendo la identificación de mezclas de distintas proteínas en la dieta de manera que complementen los excesos o defectos en estos aminoácidos. Pero hay que tener en cuenta que la calidad biológica de la proteína está también influenciada por las cantidades relativas de aminoácidos esenciales y no esenciales.

La eficiencia de utilización de aminoácidos esenciales depende de la cantidad total de nitrógeno presente en la dieta. Cuanto más alta sea ésta, menor será el consumo de aminoácidos esenciales requeridos para lograr el balance nitrogenado. En suma, el requerimiento de aminoácidos esenciales no es un valor absoluto, sino que debe ser una determinada proporción de la ingesta total de nitrógeno.

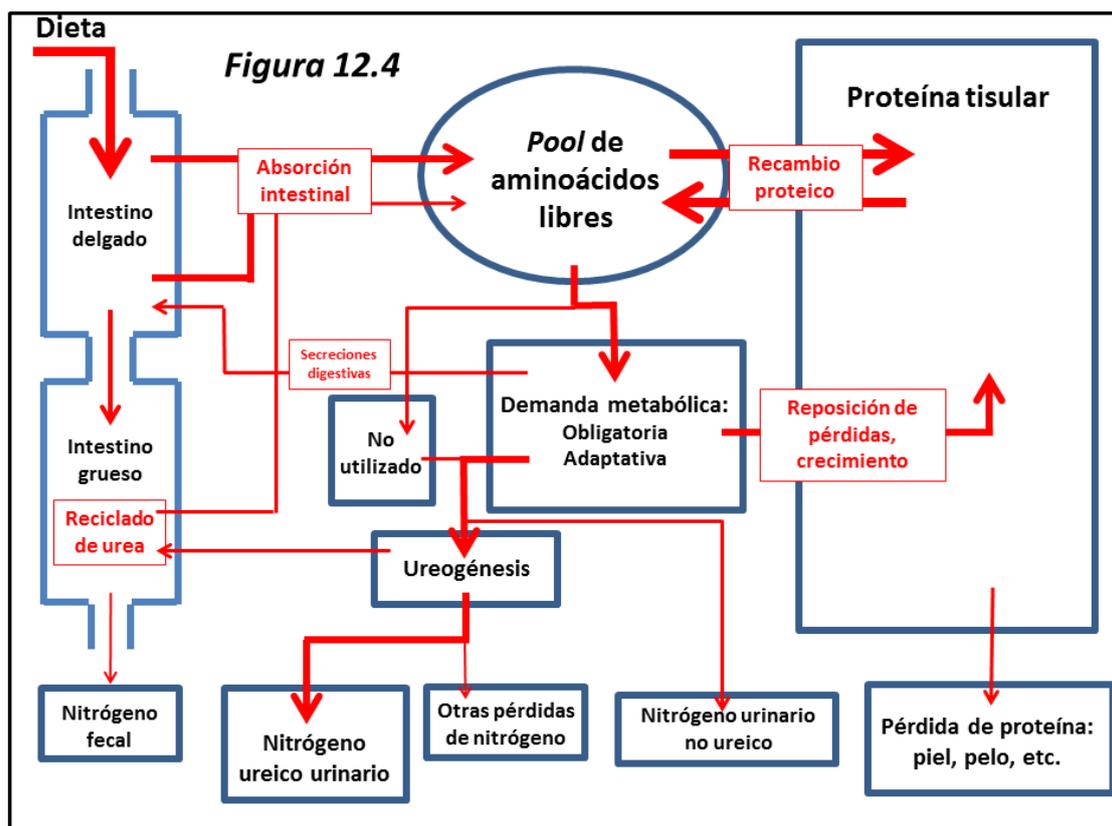
12.5.3 Modelo metabólico global para proteínas

La **figura 12.4** nos muestra esquemáticamente los flujos metabólicos globales relevantes en cuanto al requerimiento dietario de proteínas y aminoácidos.

Podemos considerar la existencia de un *pool* central de aminoácidos libres, íntimamente ligado al conjunto de proteínas tisulares a través de síntesis y degradación de las mismas (recambio proteico, *turnover*), que supone el flujo metabólico más importante. En condiciones normales, la síntesis y la degradación son prácticamente iguales, salvo aquellos aminoácidos que han sufrido modificaciones postraduccionales (que son una mínima parte).

La proteína tisular se elimina de una forma constante a través de las descamaciones de piel y anexos (pelo, uñas, etc.) y de la mucosa intestinal; y el proceso de biosíntesis se ve incrementado en condiciones de crecimiento, embarazo y lactancia. En estas condiciones es la demanda metabólica (ver más adelante) quien suministra los aminoácidos necesarios para estos procesos.

El *pool* de aminoácidos está por otra parte alimentado a través de la absorción digestiva de los aminoácidos procedentes de las proteínas dietarias, que en su mayor parte tiene lugar en el intestino delgado. A esta absorción hay que añadir el nitrógeno procedente del reciclado de la urea en el intestino grueso (transformada por la flora intestinal a amoníaco o bien a aminoácidos).



Una porción significativa del *pool* de aminoácidos debe satisfacer la llamada Demanda Metabólica. Esta demanda presenta dos componentes: (a) la demanda obligatoria, que en su mayor parte consiste en la transformación de los aminoácidos a metabolitos centrales a partir de los que se sintetizan otros compuestos nitrogenados indispensables, como por ejemplo nucleótidos y porfirinas; o bien la síntesis de otros aminoácidos necesarios para la reposición de pérdidas en las proteínas tisulares. Otro componente de la Demanda Metabólica es (b) la demanda adaptativa, relacionada en parte con la demanda energética total, que tiene lugar cuando la ingesta energética de otros nutrientes es insuficiente y se requieren aminoácidos para la síntesis de glucosa o ácidos grasos (por ejemplo, en condiciones neoglucogénicas)

El suministro de aminoácidos esenciales se hace tanto más importante cuanto menor sea el nitrógeno total de la dieta. Para dietas conteniendo cantidades suficientes o mayores de proteína, el requerimiento de estos aminoácidos está en gran parte mantenido por el propio recambio (*turnover*) de las proteínas tisulares.

El nitrógeno sobrante de la demanda energética total se elimina en forma de urea, cuyo principal contingente se excreta en orina, aunque también es en parte segregada en el intestino grueso, donde con el nitrógeno procedente de las secreciones colónicas es transformado por la flora intestinal en amoníaco o incluso en aminoácidos. Todo esto hace que el nitrógeno fecal, en condiciones normales, suponga una mínima parte del flujo intestinal total de nitrógeno.

Otras pérdidas de nitrógeno que afectan al *pool* de aminoácidos son las pérdidas no urinarias (por ejemplo, en el sudor y otras secreciones) y el nitrógeno urinario no ureico, como por ejemplo creatinina y ácido úrico.

12.5.4 Requerimientos dietarios de proteína y aminoácidos

La utilización dietaria de las proteínas depende de dos factores que no son fáciles de medir: la **digestibilidad** de la proteína, y su **valor biológico**, que cuantifica en qué medida el perfil de aminoácidos de la proteína dietaria se corresponde con los requerimientos del organismo.

La digestibilidad de la proteína es la proporción de la proteína alimentaria que se absorbe, y se mide a partir del contenido en nitrógeno del alimento, por una parte, y de las heces, por otra, teniendo en cuenta la cantidad de nitrógeno endógeno excretado por esta vía, el cual se estima a partir de dietas exentas de proteína, esto es:

$$D(\%) = \frac{I - (F - F_k)}{I} \times 100$$

Donde **I** es el nitrógeno entrante en la dieta, **F** el nitrógeno fecal total y **F_k** el nitrógeno presente en heces tras una dieta exenta de proteína.

El valor biológico refleja la eficiencia con la que el nitrógeno absorbido es utilizado, y se calcula como

$$V(\%) = \frac{I - (F - F_k) - (U - U_k)}{I - (F - F_k)} \times 100$$

Donde **I** es el nitrógeno entrante en la dieta, **F** el nitrógeno fecal total, **F_k** el nitrógeno fecal ante una dieta exenta en proteínas, **U** la pérdida urinaria de nitrógeno y **U_k** la pérdida urinaria de nitrógeno ante una dieta exenta de proteínas.

Tabla IV

Digestibilidad de algunas proteínas alimentarias

Alimento	Digestibilidad total (%)
Dieta mixta	96
Legumbres	78
Maíz	85
Leche (vaca)	94
Queso (vaca)	95
Avena (copos)	86
Harina de soja	86
Proteínas de soja	95
Harina de trigo	96

Se presentan a continuación los valores recomendados para el contenido proteico de la dieta en relación a la edad y otras circunstancias, según la Organización Mundial de la Salud (WHO). Esta organización define la ingesta habitual segura como el percentil 97.5 de la distribución de requerimientos individuales dentro de un grupo de edad (nominalmente media + 1.96 DS). Se debe tener en cuenta que esta recomendación alude a individuos normales. En otras circunstancias (convalecencia, recuperación de una malnutrición, etc.) esta ingesta segura deberá ser aumentada de acuerdo con cada caso en particular.

Los requerimientos se expresan como gramos por kilogramo de peso corporal (g/kg) y día para individuos que entren en el intervalo aceptable de talla y peso (y edad en niños).

Requerimiento proteico en adultos

Se consideran adultos los mayores de 18 años y se considera que el requerimiento es el mismo para ambos sexos, y para pesos corporales dentro del intervalo aceptable. El valor aceptado como seguro es el de 0.83 g/kg diarios; no se especifica un límite superior, aunque valores mayores de 3-4 veces el valor recomendado no pueden ser tomados como 100 % seguros.

Requerimiento proteico en niños y jóvenes

La tabla V muestra las recomendaciones para niños y jóvenes según edades y sexos. Estos requerimientos se expresan como g/kg.día y como g totales para aquellos casos en los que el peso esté alejado de la distribución normal para los intervalos de edad que se presentan:

Tabla V

Ingesta segura de proteínas en lactantes, niños y jóvenes

Edad	Niños			Niñas		
	Peso	g/kg.día	g totales	Peso	g/kg.día	g totales
0.5	7.8	1.31	10.2	7.2	1.31	9.4
1	10.2	1.14	11.6	9.5	1.14	10.8
1.5	11.5	1.03	11.8	10.8	1.03	11.1
2	12.3	0.97	11.9	11.8	0.97	11.4
3	14.6	0.90	12.1	14.1	0.90	12.7
4-6	19.7	0.87	17.1	18.6	0.87	16.2
7-10	28.1	0.92	25.9	28.5	0.92	26.2
11-14	45.0	0.90	40.5	46.1	0.89	41.0
15-18	66.5	0.87	57.9	56.4	0.84	47.4

Requerimiento proteico en el embarazo y la lactancia

Los requerimientos extra de proteínas en estas circunstancias aparecen en la tabla VI expresados como requerimientos adicionales de energía y la fracción de ésta que ha de ser cubierta por proteína:

Tabla VI

Requerimientos proteicos en embarazo y lactancia (ingesta segura)

	Complemento, g/día	Energía adicional, kJ	Fracción proteína/energía
Embarazo:			

Trimestre 1º	1	375	0.04
Trimestre 2º	10	1200	0.11
Trimestre 3º	31	1950	0.23
Lactancia			
Primeros 6 meses	19	2800	0.11
Después 6º mes	13	1925	0.11

12.6 Micronutrientes (vitaminas y oligoelementos) en la dieta humana

12.6.1 Generalidades

Además de los tres macronutrientes básicos: carbohidratos, lípidos y proteínas, la dieta humana requiere la presencia esencial de determinados micronutrientes, así llamados porque su requerimiento es órdenes de magnitud menor que el de aquéllos. Los micronutrientes de la dieta humana son (a) moléculas orgánicas complejas con funciones definidas en el metabolismo y cuya biosíntesis es imposible en el organismo humano, y que denominamos, genéricamente, **vitaminas**; (b) elementos inorgánicos distintos de los macroelementos que constituyen el principal contingente de la dieta y de las biomoléculas (C, H, N, O, P y S), y que son requeridos, en general, para funciones metabólicas muy definidas y concretas por formar parte de moléculas con funciones imprescindibles en el metabolismo humano, y que genéricamente son conocidos como **oligoelementos** o **elementos traza**. La presencia obligatoria de estos componentes en la dieta se manifiesta porque su déficit conduce a las llamadas **enfermedades carenciales**; y en algunos casos, un exceso de los mismos en la dieta puede asimismo resultar nocivo para el organismo.

El requerimiento de estos micronutrientes se diferencia cuantitativamente de los componentes esenciales que hemos visto hasta ahora: ácidos grasos y aminoácidos esenciales; sus necesidades se miden en miligramos/día o microgramos/día; así como de aquellos elementos inorgánicos presentes en la dieta y en los líquidos corporales que determinan sus principales propiedades iónicas, como sodio, potasio, cloro, magnesio y calcio; aunque en el caso de estos dos últimos, estudiaremos su presencia en la dieta por presentar a lo largo del ciclo vital circunstancias en las que se hace necesario un aporte adicional.

La condición indispensable para una ingesta adecuada de micronutrientes es la **dieta variada**. Por esa razón, las enfermedades carenciales suelen aparecer en personas o colectivos en los que la alimentación es esencialmente monótona. Actualmente, esto sigue siendo un peligro en los países en vía de desarrollo, en los que muy frecuentemente la dieta consta de un solo componente base, como arroz, maíz, tubérculos o cereales. Por lo tanto, antes de pasar a estudiar los distintos micronutrientes, veremos algunas recomendaciones de la WHO en cuanto a la corrección de las dietas a efectos de complementar su contenido con micronutrientes. Estas recomendaciones aluden bien a la **diversificación** (complementar el alimento básico con otros más ricos en micronutrientes), al **enriquecimiento** (adición artificial de micronutrientes a dietas base a nivel de distribución al por mayor) y a la **suplementación** (administración farmacológica de micronutrientes).

12.6.1.1 Diversificación de alimentos

En general, las dietas monótonas suelen estar basadas en cereales (como el arroz o el maíz) o en tubérculos (como la patata y la mandioca). Estas dietas suelen ser pobres en micronutrientes, y en particular en retinoides (vitaminas A), ácido ascórbico (vitamina C), ácido fólico, hierro y zinc. Los párrafos que siguen son meramente orientativos y no exhaustivos sobre cómo incrementar el contenido en micronutrientes de dietas monótonas.

Retinoides (Vitamina A)

Las dietas a base de cereales o tubérculos son particularmente deficientes en retinoides. Este déficit puede muy fácilmente corregirse introduciendo en la dieta fuentes vegetales de carotenoides, que funcionan como provitaminas y son fácilmente transformadas en las moléculas activas por el metabolismo. Así, la adición de 21 g de zanahorias cocidas a la dieta diaria permite obtener ampliamente el requerimiento diario de vitamina A. Otras fuentes vegetales de esta vitamina son mango, papaya y melón; asimismo la vitamina A está presente en alimentos de origen animal; con cantidades como 20 g de pescado o de hígado de pollo se cubren también las necesidades diarias de este micronutriente a cualquier edad.

Ácido ascórbico (Vitamina C)

El requerimiento mínimo diario de vitamina C puede adquirirse ampliamente por la adición de algún cítrico a la dieta (naranjas, limones, limas, etc.); otras fuentes vegetales ricas en ascorbato son kiwi, fresas, papaya, mango, melón, espinacas, tomates, espárragos trigueros, brécol y coles de Bruselas. Al ser el ácido ascórbico bastante termolábil, se recomienda un mínimo cocinado de estos alimentos.

Ácido fólico (vitamina B₉)

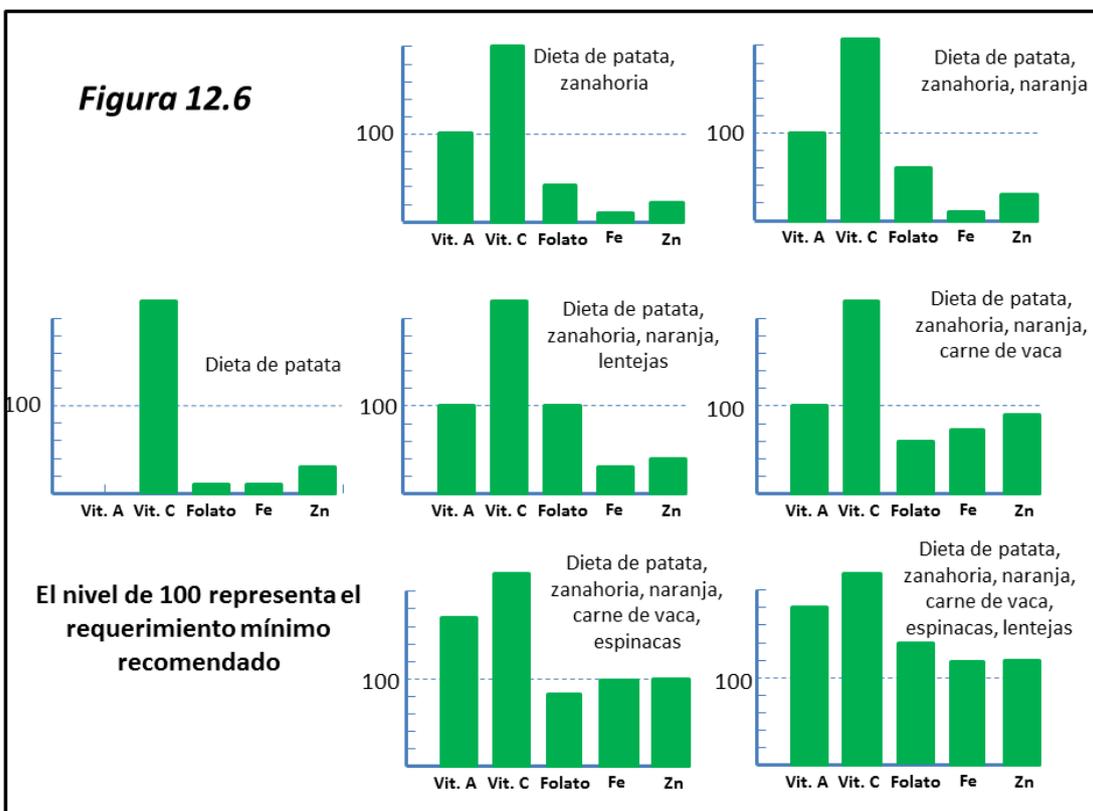
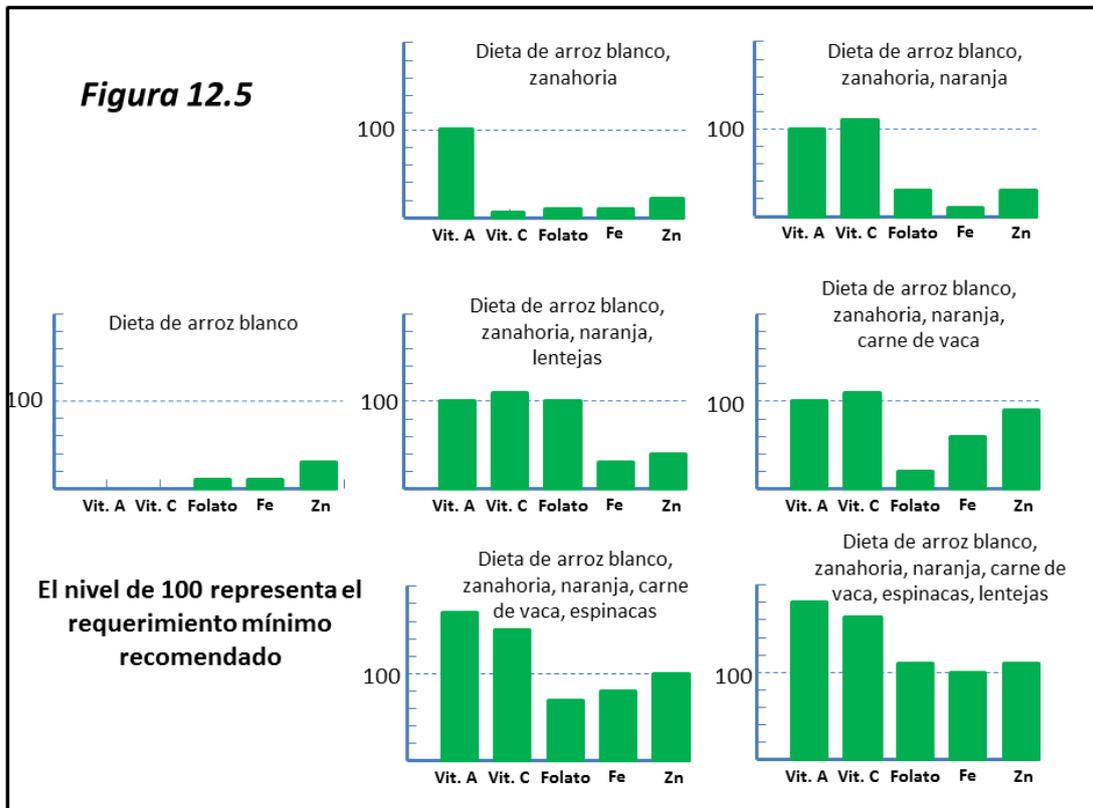
Este micronutriente se considera hoy día esencial no sólo como prevención de anemias macrocíticas, sino también para el normal desarrollo embrionario y fetal, además del mantenimiento de la salud cardiovascular y la función cognitiva en personas mayores. Las dietas a base de cereales o tubérculos son muy deficientes en folato, pero puede ser enriquecidas muy fácilmente con legumbres (lentejas, guisantes) y vegetales o brotes verdes (como espinacas, coles de Bruselas, brotes de soja, etc.). Los alimentos de origen animal son asimismo ricos en folato. Al igual que en el caso del ácido ascórbico, la cocción extrae el folato hacia el agua, por lo que se recomienda la ingesta cruda de los vegetales o el consumo del agua de cocción.

Hierro y zinc

Las dietas monótonas basadas en cereales o tubérculos son especialmente deficitarias en estos dos elementos. El déficit de hierro puede corregirse nominalmente por la adición de legumbres (lentejas, por ejemplo); pero el hierro no hemínico, como el contenido en estos alimentos, tiene una biodisponibilidad bastante pobre. Por ello se recomiendan fuentes animales (con hierro hemínico) para la ingesta de este elemento. Algo parecido podemos decir respecto al zinc.

El ácido ascórbico favorece la absorción de hierro; pero hay también componentes inhibitorios de la absorción de estos metales. En particular, muchos alimentos base, como el cereal integral (cuscús, gofio, etc.) contienen fitatos (inositol hexafosfatos), compuestos que forman complejos no absorbibles con el zinc y en menor medida con el hierro. La práctica de la fermentación de cereales que contienen fitato previa a su consumo elimina a éstos y favorece la absorción de hierro y de zinc.

A título de ejemplo, las **figuras 12.5 y 12.6** representan cómo se puede alcanzar el mínimo diario de algunos micronutrientes vitamínicos mediante la diversificación de los alimentos, referidos a dietas base de arroz y patata, respectivamente.



12.6.1.2 Enriquecimiento de alimentos

Consiste en la adición de nutrientes, generalmente a gran escala (en el nivel de distribución al por mayor) a los alimentos base. Esta práctica es costo-efectiva y ha dado resultados excelentes en muchos casos; por ejemplo, la adición de hierro a la harina de trigo y de yoduro potásico a la sal común.

Hierro

La enriquecimiento de alimentos en hierro es recomendable cuando las dietas base son deficitarias o su biodisponibilidad es pobre, como ocurre prácticamente en todo el mundo en vías de desarrollo y en poblaciones vulnerables en países desarrollados (mujeres en edad reproductiva, vegetarianos, etc.).

El hierro se presenta en dos formas distintas en los alimentos. Una es el hierro hemínico, presente en carnes y pescado; su biodisponibilidad es alta, se absorbe fácilmente y no se ve afectado por otros componentes dietarios. Otra es el hierro no hemínico, cuya absorción es bastante más difícil (2-10 %) y muy dependiente de la presencia concomitante en la dieta de inhibidores de la absorción (fitatos, polifenoles, calcio, fosfato) o de favorecedores (ácidos ascórbico y cítrico, péptidos ricos en cisteína, etanol y productos de fermentación).

Ejemplos de alimentos que se enriquecen en hierro son la harina de trigo, derivados de maíz, arroz, sal común, azúcar y salsa de soja.

Yodo

El yodo en la tierra cultivable es bastante escaso, de manera que en muchas regiones el alimento cultivado en las mismas es deficitario en yodo y esta deficiencia se manifiesta en patología tiroidea (hipotiroidismos, bocio hipotiroideo, cretinismo, etc.). Sólo los alimentos de origen marino son fuentes naturales ricas en yodo.

Por esa razón, el enriquecimiento de la sal común con yoduro potásico (25-50 mg/kg de sal), obligatorio en casi todos los países, ha demostrado ser la mejor manera de erradicar enfermedades causadas por la deficiencia en yodo.

Zinc

El zinc es un elemento con poca o ninguna fuente de reserva, por lo que es virtualmente imposible sostener un suministro adecuado si no es mediante alimentos de origen animal. En el momento actual se está estudiando la posibilidad de enriquecer con zinc los alimentos cereales base.

Ácido fólico

La presencia de ácido fólico en la dieta es crucial en mujeres en edad reproductiva, pues este componente previene la prematuridad y los defectos en la formación del tubo neural (espina bífida, anencefalia). Aunque una dieta variada provee de las cantidades mínimas necesarias, en algunos países (Estados Unidos) se ha establecido el enriquecimiento obligatorio con ácido fólico de productos derivados de cereales (140 mg/100 g).

12.6.1.3 Suplementación de alimentos.

Por suplementación entendemos la administración periódica de preparaciones farmacológicas cuando se hace necesario en personas o grupos con riesgo elevado de deficiencias. Se recomienda que la suplementación quede restringida a grupos de riesgo que no puedan satisfacer los requerimientos mediante la alimentación convencional (mujeres en edad reproductiva, lactantes, personas mayores y grupos socioeconómicos de riesgo como situaciones de emergencia, refugiados, etc.).

Así, la suplementación en hierro es la única opción válida para prevenir deficiencia durante el embarazo; y asimismo, la administración de ácido fólico debe ser prácticamente obligatoria en estas mismas circunstancias para prevenir defectos en la formación del tubo neural.

12.6.2 Vitaminas en la dieta humana: Vitaminas hidrosolubles

El arroz y el trigo son dietas base en muchas partes del mundo. Un refinado excesivo de estos alimentos elimina una gran cantidad de vitaminas del complejo B contenidas en estos alimentos, dando lugar a síntomas de deficiencia. Actualmente esto es particularmente importante en poblaciones desplazadas y en refugiados.

Tiamina (vitamina B₁)

La tiamina es el componente vitamínico de la coenzima tiamina pirofosfato, requerida en diversas reacciones de descarboxilación, oxidativa o no oxidativa. Actúa también como cofactor en las reacciones catalizadas por la transcetolasa.

El déficit de tiamina resulta en una neuropatía conocida como **beri-beri**, que clásicamente se presenta en una de dos formas: paralítica (seca) y edematosa (húmeda). Aparece en lactantes cuya madre se alimenta básicamente de arroz descascarillado. En países industrializados la carencia de tiamina se manifiesta en el **síndrome de Wernicke-Korsakoff**, asociado al alcoholismo crónico que cursa con déficit alimentario.

Los indicadores utilizados en el déficit de tiamina son: excreción urinaria, actividad transcetolasa eritrocitaria, tiamina eritrocitaria, y niveles de piruvato/lactato en sangre.

Los niveles recomendados para la nutrición normal oscilan entre 0.2 mg/día (lactantes) y 1.2 mg/día (adultos), aumentando esta cantidad hasta 1.5 mg/día en circunstancias de embarazo y lactancia.

Riboflavina (vitamina B₂)

La riboflavina es el componente vitamínico de las coenzimas FMN (flavin mononucleótido) y FAD (flavin adenin dinucleótido), grupos prostéticos de una gran cantidad de flavoproteínas que participan generalmente en reacciones redox con un potencial de oxido-reducción relativamente alto (por ejemplo, oxidasas).

La deficiencia de riboflavina normalmente cursa con la deficiencia concomitante de otras vitaminas del complejo B, por lo que es difícil definir la sintomatología específica. Algunos trastornos relacionados con la arriboflavinosis son: queilosis, estomatitis angular, dermatitis seborreica y alteraciones de las vías respiratorias superiores. Esta deficiencia aparece con cierta frecuencia ante trastornos digestivos diarreicos en la infancia, ligados algunas veces a la intolerancia a la lactosa. Pueden aparecer síntomas de arriboflavinosis en situaciones de malabsorción, como en la enfermedad celíaca o en resecciones quirúrgicas extensas del tubo digestivo. También son grupos de riesgo los recién nacidos que reciben fototerapia por ictericia neonatal (dada la fotolabilidad de las flavinas).

Los indicadores metabólicos de deficiencia en riboflavina son la excreción urinaria, la actividad de la glutatión reductasa eritrocitaria y el contenido eritrocitario en flavinas.

Se recomiendan ingestas diarias comprendidas entre 0.3 mg/día (lactantes) y 1.3 mg/día (adultos). En embarazo y lactancia estas cantidades se aumentan hasta 1.6 mg/día.

Niacina (vitamina B₃)

La niacina (bajo las formas de nicotinamida o de ácido nicotínico) es la porción vitamínica (es decir, no sintetizable por el organismo) de las coenzimas NAD (niacin adenin dinucleótido) y NADP (niacin adenin dinucleótido fosfato). Ambas actúan como cofactores redox de potencial de oxidorreducción relativamente bajo. NAD aparece ligado a una gran cantidad de deshidrogenasas de gran importancia en el metabolismo energético, y en particular mitocondrial. Asimismo actúa como donador de la porción ADP-ribosa de la molécula en reacciones ligadas a la reparación del DNA y la movilización del calcio. NADP (su forma reducida NADPH) participa en reducciones biosintéticas ligadas a la síntesis de ácidos grasos y esteroides y en reacciones de destoxicación, y se produce fundamentalmente en la ruta pentosa-fosfato.

La deficiencia en niacina conduce al síndrome complejo denominado **pelagra**, una enfermedad consuntiva asociada a una dermatitis bilateral y simétrica, demencia provocada por encefalopatía y diarrea a resultas de la inflamación de la mucosa intestinal. Raramente se presenta como un síndrome aislado, pues suele asociarse a otras deficiencias, particularmente de riboflavina (vitamina B₂) y piridoxol (vitamina B₆).

Los indicadores bioquímicos para el diagnóstico de la deficiencia son la excreción urinaria de niacina, la concentración plasmática de metabolitos y el contenido eritrocitario en NAD y NADP.

Las cantidades recomendadas oscilan entre 2 mg/día para lactantes y 16 mg/día para adultos. Esta cantidad debe aumentarse en embarazo y lactancia a 18 mg/día debido al requerimiento energético extra en estas circunstancias.

Ácido pantoténico (vitamina B₅)

El ácido pantoténico es el componente no sintetizable de las panteteínas, que forman parte o de la coenzima A o de la ACP (*Acyl Carrier Protein*), fundamentales en el metabolismo degradativo (coenzima A) o biosintético (ACP) de los ácidos grasos y de muchos otros ácidos orgánicos o cuerpos cetónicos en el metabolismo.

La presencia generalizada de ácido pantoténico en casi todos los alimentos hace muy difícil la definición de un síndrome carencial de esta vitamina. No obstante, se ha estudiado el efecto en humanos de un análogo competitivo, el ω -metil pantotenato, para determinar los signos y síntomas de la deficiencia: alteraciones conductuales, hipotensión postural, taquicardia, dolores epigástricos con anorexia y estreñimiento, alteraciones sensitivas y reflejos tendinosos hiperactivos.

Como indicadores bioquímicos se utilizan los niveles sanguíneos y la excreción urinaria; los niveles intraeritrocitarios parecen más fiables que los plasmáticos.

Las cantidades recomendadas oscilan entre 1.7 mg/día para lactantes y 5 mg/día para adultos, llegando a 7 mg/día en embarazo y lactancia.

Piridoxol o piridoxina (vitamina B₆)

Las formas metabólicamente activa son el piridoxal fosfato y la piridoxamina fosfato. Participan en una gran cantidad de reacciones del metabolismo de aminoácidos (aminotransferasas, descarboxilasas, racemasas, dehidratasas) en la síntesis de porfirinas (δ -aminolevulinato sintasa), en la glucógeno fosforilasa y en la síntesis de bases esfingoides.

No se puede discernir una patología estricta de deficiencia en piridoxina, por ser concomitante a otros déficits de complejo B. Se suele sospechar ante niveles disminuidos de piridoxal fosfato plasmático y de su producto de excreción ácido 4-piridóxico. Desciende también la síntesis y los niveles de aminotransferasas, aumento del xanturenato urinario y descenso en la producción de γ -aminobutirato (GABA). También puede aparecer una anemia sideroblástica, y un síndrome convulsivo en lactantes.

Las cantidades recomendadas van desde 0.1 mg/día en lactantes hasta 1.7 mg/día en adultos, subiendo hasta 2.0 en casos de embarazo y lactancia.

Biotina (vitamina B₇)

La biotina, unida al grupo ϵ -amino de lisina (biocitina) es el grupo prostético propio de carboxilasas dependientes de ATP (p.e., piruvato carboxilasa, acetyl-CoA carboxilasa) funcionando, bajo la forma de carboxibiotina, como intermedio entre HCO_3^- (forma hidratada del CO_2) y el sustrato que debe ser carboxilado.

La deficiencia humana está bien documentada gracias al **síndrome de la clara de huevo**, que aparece al consumir grandes cantidades de la misma. Esto es debido a la presencia en la clara de huevo de la proteína avidina, que fija biotina con una enorme afinidad. La deficiencia puede aparecer también ante diversos tipos de malabsorción intestinal. El síndrome carencial cursa con dermatitis de tipo eritematoso/seborreico, conjuntivitis, alopecia y anomalías del sistema nervioso central como hipotonía, somnolencia, depresión y alucinaciones.

Un indicador bioquímico es la excreción urinaria de 3-hidroxiisovalerato. La excreción de éste metabolito refleja la baja actividad de la β -metilcrotonil-CoA carboxilasa ligada a un déficit de biotina. También la determinación directa de biotina en la orina, mediante un ensayo basado en la fijación a avidina.

La ingesta recomendada de biotina oscila entre 5 mg/día para lactantes y 30 mg/día en adultos, subiendo hasta 35 mg/día en el embarazo y la lactancia.

Ácido fólico (vitamina B₉)

El ácido fólico es la base de una familia de coenzimas que actúan en reacciones de intercambio de grupos monocarbonados, de importancia fundamental en la síntesis de ácidos nucleicos, y por tanto, en todos los procesos ligados a la información genética. Las coenzimas folínicas actúan también en la síntesis de S-adenosil-metionina, el principal donador de grupos metilo en el metabolismo. Las coenzimas se producen a través de la reducción de folato a tetrahidrofolato (THF), el cual puede aceptar diversos grupos monocarbono (formil, metilen, metenil, metil, formimino, etc.) para participar en las correspondientes reacciones de donación o captación de los mismos. Químicamente se trata de una pteridina (reducida en el THF) unida a ácido 4-aminobenzoico que se esterifica a un residuo de glutamato, o más frecuentemente, a un poliglutamato. La forma base, oxidada, que es el ácido fólico o folato, es bastante más estable químicamente que las formas reducidas, aunque son éstas las que aparecen en los componentes de la dieta, por lo cual son bastante susceptibles de inactivación. El folato es reducido por el metabolismo a dihidrofolato (DHF) y posteriormente a tetrahidrofolato gracias a la dihidrofolato reductasa.

La deficiencia en folato se manifiesta en una **anemia macrocítica**; en casos graves y prolongados conduce a una **neuropatía** por desmielinización. Pero quizá la circunstancia más importante en el déficit dietario de folatos se manifiesta en defectos en la **formación del tubo neural** durante el desarrollo embrionario, dando lugar a **espina bífida** o a **anencefalia**. Esto hace que hoy se considere obligatoria la administración de ácido fólico durante el embarazo, particularmente en las etapas tempranas del mismo. Dadas las dificultades de evidenciar un embarazo precoz, en algunos países, como Estados Unidos, es obligatorio el enriquecimiento de productos derivados de cereales con ácido fólico (las dietas base de arroz o cereales son deficitarias en ácido fólico)

Las cantidades recomendadas de esta vitamina oscilan entre 80 µg/día en lactantes y 400 µg/día en adultos, incrementando esta cantidad hasta 600 µg/día en el embarazo y lactancia.

Cobalamina (vitamina B₁₂)

Químicamente es una molécula compleja, en cuyo centro hay un anillo de corrina (un tetrapirrol cíclico) que coordina un átomo de cobalto. En mamíferos sólo se conocen dos enzimas dependientes de vitamina B₁₂: una es la metionina sintasa, que utiliza una metilcobalamina, y otra es la metilmalonil-CoA mutasa, cuya coenzima es una adenosil cobalamina. En otros organismos se encuentran otras formas de la coenzima (hidroxicobalamina y acuocobalamina). La forma sintética de la vitamina utilizada en suplementos alimenticios es la cianocobalamina, en la que una posición de coordinación del cobalto está ocupada por ion cianuro.

La vitamina B₁₂ solamente es sintetizada por bacterias, y normalmente entra en la alimentación humana a través de alimentos de origen animal (hígado, leche, lácteos en general, carne, huevos, etc.). En algunos mamíferos la flora bacteriana intestinal es capaz de sintetizar esta vitamina (aunque esto no ocurre, al parecer, en el organismo humano).

La absorción de la vitamina B₁₂ es compleja. En la dieta aparece unida a proteínas, unión que se rompe al pH ácido del estómago, pero es inmediatamente fijada por algunas glicoproteínas llamadas haptocorrinas, que la protegen del ataque ácido. Las células parietales del estómago producen otra proteína con afinidad por la vitamina B₁₂, el llamado factor intrínseco, que es el responsable último de la absorción de la misma; ahora bien, al pH del estómago no hay una fijación significativa de B₁₂ por parte del factor intrínseco; pero al pH más alcalino del duodeno y del intestino delgado, la vitamina se disocia de las haptocorrinas, y se fija al factor intrínseco, con lo cual es absorbida por los enterocitos de la parte distal del intestino delgado. Una vez absorbida, la vitamina B₁₂ se concentra en el hígado.

El síndrome carencial de vitamina B₁₂ es la llamada **anemia perniciosa**, una enfermedad autoinmune en la cual se producen anticuerpos contra las células parietales del estómago, impidiendo la producción de factor intrínseco y por tanto, la absorción de vitamina B₁₂. Los síntomas clínicos de la misma son anemia y neuropatía por desmielinización.

Son grupos de riesgo las personas cuya dieta sea esencialmente vegetariana; las plantas no producen B₁₂.

La ingesta diaria de vitamina B₁₂ oscila entre 0.4 µg/día en lactantes hasta 2.4 µg/día en adultos. En embarazo y lactancia, esta cantidad sube hasta 2.8 µg/día.

Ácido ascórbico (vitamina C)

El ácido ascórbico se produce a partir de glucosa en muchos animales, con la importante excepción de los primates y el cobaya. Para el hombre, pues, se trata de una vitamina, la vitamina C.

Su función es la de cofactor en reacciones de oxidorreducción. En el hombre se conocen 8 reacciones dependientes de ácido ascórbico: tres participan en la hidroxilación del colágeno, una en la síntesis de noradrenalina, otra en la amidación terminal de hormonas peptídicas y otra en el metabolismo de la tirosina. Se trata de monoxigenasas y dioxigenasas.

El síndrome carencial de ácido ascórbico es el **escorbuto**, enfermedad que afectaba antiguamente a las tripulaciones de buques expuestas a singladuras muy prolongadas en el tiempo, y cuya alimentación se realizaba a base de conservas. Las tres manifestaciones más típicas del escorbuto son: hemorragias gingivales, dolor en extremidades y manifestaciones hemorrágicas. El agravamiento de la enfermedad conduce a edema, úlceras generalizadas, imposibilidad de cicatrización de heridas y la muerte.

El ascorbato se encuentra en muchas frutas y verduras; en los cítricos es particularmente abundante, pero también se presenta en melones, cerezas, kiwi, mango, papaya, fresas y sandía, entre las frutas; y en el repollo, brécol, coles de Bruselas, coliflor, pimientos crudos, tomate y patatas, entre las verduras. Un problema asociado a estas fuentes alimenticias es la labilidad química del ácido ascórbico. La pérdida de vitamina C por el hervido de la leche ha sido causa de muchos casos de escorbuto infantil. Otras circunstancias que pueden afectar al ácido ascórbico son las manipulaciones de transporte y almacenamiento de verduras, el cocinado y la cloración del agua. Asimismo, dada su hidrosolubilidad, la cocción de alimentos extrae una gran cantidad de ácido ascórbico hacia el agua. El pH bajo protege a la vitamina C; de ahí su presencia de en coles fermentadas como el sauerkraut.

La ingesta recomendada de ácido ascórbico va desde los 25 mg/día en lactantes hasta 45 mg/día en adultos; en embarazo y lactancia, estas cantidades aumentan hasta 70 mg/día.

La ingesta exagerada de ácido ascórbico conduce a trastornos digestivos y a la precipitación de metabolitos poco solubles en las vías urinarias (cálculos de oxalato). Por estas razones, se considera que el consumo de ácido ascórbico no debe nunca superar 1 g/día.

Alimentos recomendados para la ingesta normal de vitaminas hidrosolubles:

Tiamina (vit. B₁): Carne de cerdo, hígado, cereales integrales, legumbres

Riboflavina (vit B₂): Leche y productos lácteos, carnes, verduras

Niacina (vit. B₃): Hígado, carnes magras, cereales integrales y legumbres

Ácido pantoténico (vit. B₅): Tejidos animales, cereales integrales y legumbres

Piridoxina (vit. B₆): Carnes, verduras, cereales integrales

Biotina (vit. B₇): Hígado, levadura, yema de huevo, harina de soja, cereales integrales

Ácido fólico (vit. B₉): Hígado y verduras frescas en cantidad

Cobalamina (vit B₁₂): Hígado, lácteos, y en general, alimentos de origen animal.

Ácido ascórbico (vit. C): Cítricos, frutas y verduras frescas.

12.6.3 Vitaminas en la dieta humana: Vitaminas liposolubles

Retinoides (Vitamina A)

Son una familia de compuestos poliprenoides que constituyen un nutriente esencial para el funcionamiento normal del sistema visual, para el crecimiento y desarrollo, para el mantenimiento de la integridad de los epitelios, para la función inmune y la reproducción. Normalmente aparecen en la dieta como retinol o como carotenoides, estos últimos funcionando como provitaminas.

Su carácter fuertemente lipofílico hace que su absorción intestinal dependa de la integridad de todo el sistema de absorción de lípidos; en condiciones en las que este sistema falla y se produce esteatorrea (enfermedades del páncreas o del hígado y algunas gastroenteritis) la absorción de retinoides y carotenoides puede verse comprometida. Formando parte de micelas lipídicas son absorbidos por los enterocitos, en los cuales una porción considerable de carotenoides son transformados en retinol. Unos y otros son empaquetados en los quilomicrones y pasan vía linfática a la circulación general. En su mayor parte persisten en los restos de quilomicrones y son captados por el hígado, que es el principal reservorio de estos compuestos, normalmente en forma de retinil-ésteres.

La hidrólisis de éstos da lugar a retinol libre que pasa a la circulación donde es transportado por una proteína específica, la proteína fijadora de retinol (*Retinol Binding Protein*, RBP). el

complejo retinol-RBP se asocia a otra proteína circulante, la transtiretina. Este complejo va liberando retinol a los tejidos.

En los tejidos el retinol se oxida a sus productos activos, retinal y ácido retinoico. El retinal es el grupo prostético de la proteína fotosensible rodopsina, presente en los bastones de la retina y responsable de la visión adaptada a la oscuridad. El ácido retinoico interacciona con receptores nucleares específicos ejerciendo su acción sobre la transcripción, lo cual afecta a cientos de genes. Los retinoides también son necesarios durante el desarrollo embrionario. Los metabolitos inactivos de los retinoides son eliminados por vía biliar en forma de glucurónicos. No se conoce ningún metabolito urinario procedente de estos compuestos.

La función mejor conocida de los retinoides es su papel en el ciclo visual. El retinal (forma aldehídica del alcohol retinol) en su forma isomérica 11-cis se une a un residuo de lisina de la rodopsina. La incidencia de un cuanto de luz activa a la rodopsina y se produce una cascada de activaciones que culmina con el impulso nervioso. Al tiempo el retinal se isomeriza a la forma todo-trans y se disocia de la rodopsina. Una isomerasa vuelve a producir el 11-cis que se une nuevamente a la opsina, con lo que se completa el ciclo (ver Biomoléculas, cap. 6). Dado que los bastones retinianos son los responsables de la visión en oscuridad y la acomodación a la misma, es la **ceguera nocturna** la primera y más precoz consecuencia del déficit de vitamina A.

Pero los retinoides tienen también otros efectos muy importantes. El déficit de vitamina A afecta especialmente al crecimiento y diferenciación de los epitelios. Una consecuencia es la disminución de la secreción mucosa, con queratinización progresiva de las mucosas, lo cual favorece las infecciones y lesiones. Esto se manifiesta precozmente en la conjuntiva ocular, produciendo **xeroftalmía**.

La acción de los retinoides, aparte del ciclo visual, se ejerce sobre receptores nucleares específicos que fijan derivados de ácido retinoico. Los complejos receptor/retinoide se fijan a elementos de respuesta situados proximalmente a los genes regulados por estos compuestos; se estima en más de un centenar los genes susceptibles de regulación por retinoides.

La deficiencia en vitamina A aparece fundamentalmente en poblaciones cuya ingesta de la misma es sobre todo en forma de carotenoides vegetales pero en las que el componente lipídico de la dieta es mínimo. Mientras que el retinol es absorbido en un 90 %, la absorción de los carotenoides es mucho más problemática, dependiendo de la forma física de la presentación. El factor principal, no obstante, es la falta de lípidos en la dieta.

Las fuentes alimenticias de vitamina A son esencialmente animales: leche humana, carnes, hígado y aceites marinos (de hígado de bacalao, por ejemplo), yema de huevo, leche y productos lácteos. Algunos alimentos se enriquecen con vitamina A, como mantequillas, margarinas, e incluso cereales y azúcar. Las provitaminas A (carotenoides) se encuentran en vegetales como la espinaca, verduras amarillas (calabazas y zanahorias) y en frutos no cítricos como mangos, albaricoques y papayas. Estos productos ricos en carotenoides presentan una menor capacidad de producir vitamina A, pero también su coste económico es mucho más bajo.

Las cantidades recomendadas de vitamina A se estiman en 375 $\mu\text{g}/\text{día}$ de equivalentes de retinol para lactantes hasta los seis meses; cantidad que sube hasta 600 $\mu\text{g}/\text{día}$ en la edad adulta, incrementando hasta 800 $\mu\text{g}/\text{día}$ en embarazo y lactancia. Por otra parte, la lactancia materna exclusiva hasta los seis meses garantiza perfectamente el aporte de vitamina A.

Calciferoles (vitamina D)

Los calciferoles son esteroides modificados que se requieren en el organismo para mantener los niveles normales de calcio y fosfato, necesarios a su vez para la mineralización normal del tejido óseo, la contracción muscular, la conducción nerviosa y en general, para el mantenimiento de todas las funciones celulares: metabolismo, señalización, etc. También se ha comprobado que modulan el ciclo celular, deteniendo la proliferación e induciendo la diferenciación de determinadas células especializadas: precursores osteoclastos, enterocitos, queratinocitos, etc. También presentan propiedades inmunomodulatorias; estas últimas, junto con su efecto sobre la diferenciación celular son las que explican su efecto en el tratamiento de la psoriasis.

Los calciferoles pueden ingresar en el organismo de dos maneras: (1) a través de la dieta; se distinguen dos principios activos: la vitamina D₂ o ergocalciferol, procedente sobre todo de fuentes vegetales, y la vitamina D₃ o colecalciferol, de fuentes animales. Los efectos de uno y otro son exactamente iguales. (2) Mediante la transformación metabólica del colesterol, lo que probablemente sea la principal fuente de vitamina D en países con un nivel adecuado de insolación. En este caso, un metabolito del colesterol, el 7-dehidrocolesterol, es transformado por la radiación ultravioleta (UV) del sol en colecalciferol (vitamina D₃). Por esta razón, las deficiencias en vitamina D suelen observarse en países donde el nivel de insolación es bajo (países de latitudes altas). Esta deficiencia conduce al **raquitismo**, enfermedad que cursa con defectos en la formación normal de hueso. La producción endógena de colecalciferol hace que estos compuestos no se consideren propiamente como vitaminas, ya que su producción es perfectamente posible siempre que exista un nivel adecuado de irradiación solar.

Las formas activas de vitamina D son derivados hidroxilados del colecalciferol. En el hígado, el colecalciferol es hidroxilado a 25-hidroxicolecalciferol (calcidiol); y éste, en el riñón, es nuevamente hidroxilado a 1,25 dihidroxicolecalciferol (calcitriol), que es el metabolito verdaderamente activo, considerándose los demás como provitaminas.

Colecalciferol y sus metabolitos circulan en sangre unidos a una α -globulina, dado su carácter fuertemente lipofílico. El calcitriol actúa de manera parecida a las hormonas esteroideas, uniéndose a un receptor nuclear específico. La unión calcitriol-receptor se fija a sus correspondientes elementos de respuesta del DNA, reclutando otros factores de transcripción e induciendo la transcripción de determinados genes: proteínas transportadoras de calcio, proteínas de la matriz ósea, proteínas reguladoras del ciclo celular, etc. Estos estímulos genéticos determinan un aumento en la absorción intestinal de calcio y fosfato junto con la movilización de calcio y fosfato por reabsorción ósea; ambos efectos se traducen en una elevación de los niveles séricos de calcio y fosfato, acción similar en este sentido a la que induce la hormona paratiroidea o PTH.

Cuando la glándula paratiroides detecta un descenso en el calcio sérico, se produce liberación de PTH, la cual estimula la actividad de la 1-hidroxilasa renal con producción de calcitriol. La elevación del calcio inhibe la síntesis de PTH; pero ésta también es inhibida por el calcitriol, un típico efecto *feedback* en las secreciones hormonales.

El calcitriol presenta además otros efectos fisiológicos; induce la fusión y diferenciación de macrófagos para formar osteoclastos; inhibe la producción de interleukina-2 en linfocitos T activados. También hay efectos en otros tejidos, como cerebro y piel, aunque no están bien definidos. Los análogos farmacológicos de la vitamina D se emplean hoy día ampliamente en el tratamiento de síndromes hiperproliferativos, como la psoriasis.

La primera infancia constituye un grupo de riesgo para el déficit de vitamina D. El recién nacido nace con reservas hepáticas de colecalciferol; pero la leche materna es deficitaria en vitamina D. Por esa razón, los lactantes alimentados exclusivamente de leche materna pueden

presentar riesgo de déficit en vitamina D, sobre todo los habitantes de latitudes altas cuando los seis primeros meses de vida coinciden con el invierno, tiempo en el cual la exposición solar es mínima.

La adolescencia constituye también un tiempo en el que se requiere un aporte extra de vitamina D por las necesidades de un crecimiento acelerado. Ahora bien, el nivel de insolación que reciben las poblaciones adolescentes es sustancialmente mayor que en la primera infancia.

Igualmente, en la edad avanzada se recomienda una ingesta más abundantes de vitamina D, dado el riesgo de osteoporosis; se ha asociado este riesgo a una menor transformación cutánea de 7-dehidrocolesterol a coledalciferol.

A diferencia de otros micronutrientes, no parece que haya necesidad de elevar la ingesta de vitamina D en el embarazo y la lactancia.

A la hora de determinar las necesidades de vitamina D se deben tener en cuenta los siguientes factores:

- Latitud y estación del año; ambos influyen el nivel de insolación. Esto es particularmente importante en la primera infancia.
- Envejecimiento: el adelgazamiento de la piel disminuye la eficiencia de conversión de 7-dehidrocolesterol a coledalciferol.
- Pigmentación cutánea: la pigmentación reduce el nivel de radiación UV que alcanza las zonas activas de la piel en la transformación a coledalciferol.
- Vestimenta: cubrir enteramente la piel expuesta al sol por razones sociales, culturales o religiosas reduce el nivel de insolación.
- Uso de protectores solares: los protectores solares protegen eficazmente contra la radiación UV pero comprometen la transformación a coledalciferol.

Las cantidades recomendadas para la ingesta de vitamina D son de 5 µg/día hasta la tercera edad donde deben subir a 10-15 µg/día.

Tocoferoles y trocotrienoles (vitamina E)

La vitamina E es el principal antioxidante liposoluble en la defensa del organismo contra el *stress* oxidativo. Con el nombre de "vitamina E" nos referimos a una familia de compuestos derivados del 6-cromanol que difieren en la posición de determinados grupos metilo en su estructura. El más potente de todos ellos es el α-tocoferol, y nos referiremos siempre a este compuesto a partir de ahora.

Se trata de un antioxidante fenólico que dona fácilmente el hidrógeno de su grupo hidroxilo a radicales libres, los cuales pierden entonces su actividad. El tocoferol pasa a ser un radical libre a su vez, pero mucho menos reactivo y se combina fácilmente con otros radicales libres tocoferílicos, dando lugar a tocoferil-quinonas, que pueden ser eliminadas en la secreción biliar. Se cree también que el tocoferol es rápidamente regenerado a su forma activa α-tocoferol por otros antioxidantes.

El papel fisiológico principal es la protección de los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), otros componentes de la membrana celular y las lipoproteínas LDL contra su oxidación por radicales libres. Se ha demostrado que la peroxidación de lípidos está asociada con numerosas condiciones patológicas.

Al ser una molécula lipofílica, su absorción intestinal depende de la integridad del sistema de absorción de lípidos (sales, biliares, emulsificación, etc.); por lo cual, de la misma manera que en el caso de otras vitaminas liposolubles, su absorción está condicionada a la presencia de una cantidad adecuada de lípidos en la dieta. Una vez absorbido, el tocoferol es transportado en los quilomicrones; en parte es transferido a las HDL y en parte aparece en las LDL; su entrada en la célula depende de la interacción de éstas con su receptor.

La deficiencia en vitamina E está sobre todo estudiada en modelos animales, no conociéndose prácticamente nada de su deficiencia en la especie humana. Los trastornos apreciados en animales de experimentación son miopatías del músculo estriado y miocárdico, neuropatías y necrosis hepática; los signos de deficiencia precoces son niveles elevados de productos de peroxidación de lípidos en sangre y elevación de marcadores de miopatía como la creatin kinasa.

La vitamina E está presente en fuentes vegetales (particularmente aceites vegetales) y animales; y muy frecuentemente se añade como elemento de enriquecimiento en margarinas y mantequillas. Este hecho y lo escaso de nuestro conocimiento respecto a la deficiencia en la especie humana, hace concluir que muy probablemente casi todas las dietas tienen el nivel adecuado de vitamina E.

Naftoquinonas (vitamina K)

Es una familia de micronutrientes liposolubles que se necesitan para una única y determinada función: la modificación postraduccional de residuos de ácido glutámico a ácido γ -carboxiglutámico en proteínas que fijan calcio (proteínas vitamina K-dependientes, o proteínas Gla) y que participan en el proceso de la coagulación de la sangre. Otras proteínas sometidas a esta modificación son la osteocalcina y la proteína Gla de la matriz ósea, pero sus funciones son por ahora desconocidas.

La acción de estas vitaminas tiene una gran importancia farmacológica, debido al uso generalizado de antagonistas de la vitamina K, como warfarina o cumarinas, en la prevención de coagulaciones intravasculares.

Químicamente poseen en común un grupo 2-metil 1,4-naftoquinona y se diferencian por la naturaleza de una cadena lateral poliprenoide en la posición 3. Pueden ser sintetizadas por plantas y bacterias. En plantas se trata sobre todo de la filoquinona (vitamina K_1), con una cadena lateral fitil (saturada); en bacterias, de la menaquinona (vitamina K_2) con una cadena lateral insaturada. La 2-metil 1,4 naftoquinona (también llamada menadiona) puede considerarse como provitamina, ya que el organismo puede añadirle la cadena lateral poliprenoide.

Las proteínas susceptibles de γ -carboxilación son los factores II (protrombina), VII, IX y X de la cascada normal de coagulación; así como las proteínas C y S, que tienen un efecto anticoagulante; a pesar de esta disparidad, los efectos de la vitamina K son enteramente procoagulantes. Los factores de coagulación, al ser activados por la cascada proteolítica, son fijadores eficientes de ion Ca^{++} . En presencia de este ion, estos factores se fijan a una superficie

fosfolipídica de las plaquetas constituyendo una configuración activa que produce trombina, enzima necesaria para la polimerización del fibrinógeno.

Al igual que otras vitaminas liposolubles, las vitaminas K se absorben junto con los demás lípidos, dependiendo por tanto su absorción de la formación eficiente de micelas basadas en sales biliares. A partir de los quilomicrones se reparten entre HDL y LDL y entran en los tejidos mediante el receptor celular de estas últimas. Su lugar preferente de almacenamiento es el hígado.

Los recién nacidos hasta los seis meses de edad son un grupo de riesgo respecto al déficit de vitamina K, lo que puede dar lugar al síndrome hemorrágico del recién nacido, mejor conocido como síndrome hemorrágico por déficit en vitamina K. Por esta razón se recomienda la profilaxis mediante la administración de la vitamina en este grupo de edad. Prácticamente no se conocen síndromes carenciales de vitamina K en adultos.

Las vitaminas K aparecen prácticamente en todos los alimentos. Los tejidos fotosintéticos de los vegetales son una fuente rica en filoquinona (vitamina K₁). Asimismo lo son los aceites vegetales (en particular de soja y de oliva; no así los de girasol o maíz). Un problema es su biodisponibilidad; la íntima asociación de la filoquinona con la membrana de los tilacoides del cloroplasto dificulta su absorción (un 10% comparado con el 80 % de la filoquinona pura). La filoquinona presente en aceites vegetales presenta una biodisponibilidad significativamente más alta. Igualmente, se ha demostrado la absorción de una cantidad significativa de vitamina K producida por la microflora intestinal.

Las recomendaciones de la WHO para vitamina K son: en lactantes, 77 µg/día; niños de dos años, 24 µg/día, subiendo hasta 70-80 µg/día para adultos. No hay recomendaciones especiales para embarazo y lactancia.

12.6.4 Elementos minerales en la dieta humana

12.6.4.1 Calcio

El calcio es un elemento básico en la dieta dada su presencia en el hueso y como modulador, regulador y elemento indispensable de una gran cantidad de procesos fisiológicos, como la coagulación de la sangre, la contracción muscular y la neurotransmisión, así como su participación en numerosos procesos de señalización celular.

El balance de calcio está mantenido por la relación entre ingesta, absorción y excreción. Hay una gran variación en la ingesta cálcica entre las distintas poblaciones, determinada sobre todo por su contenido en lácteos. La ingesta mínima corresponde a los países asiáticos y la más alta a países desarrollados, particularmente en Canadá, Estados Unidos y Europa.

El calcio que llega al tubo digestivo se absorbe mediante un sistema saturable de transporte y además por una difusión no mediada. El sistema de transporte es activo al máximo ante dietas pobres en calcio. Una ingesta mayor determina que la absorción no mediada cobre más y más importancia. El componente no absorbido se excreta en las heces junto con parte del calcio contenido en las secreciones digestivas. Ante una ausencia total de calcio alimentario, el calcio contenido en heces es el procedente de las secreciones, y se estima en aproximadamente 200 mg (5 mmol).

La absorción de calcio está condicionada por muchos factores. Por ejemplo, la presencia de compuestos que forman complejos con el calcio, como el ion fosfato. La relación relativamente alta calcio/fosfato de 2.2 de la leche humana frente a 0.77 en la leche de vaca es un factor que explica la mejor absorción que se obtiene a partir de aquélla. Otro factor de gran importancia es la concentración sérica de calcitriol (1,25 dihidroxicolecalciferol). La actividad 1-hidroxilasa del riñón, productora de calcitriol a partir de calcidiol (25 hidroxicolecalciferol), se relaciona inversamente con las concentraciones séricas de calcio y fosfato y directamente con el nivel de PTH. Los fitatos, presentes en la cascarilla de muchos cereales, en frutos secos y en legumbres, forman fitatos cálcicos insolubles en el tracto gastrointestinal.

La absorción verdadera es el calcio total absorbido en el intestino y contiene componentes de la dieta y de las secreciones digestivas. El calcio neto absorbido es la diferencia entre el calcio dietario y el calcio fecal; numéricamente es lo mismo que el calcio verdadero absorbido menos el calcio fecal endógeno. Para ingestas de calcio igual a cero, todo el calcio fecal es endógeno y representa el componente no absorbido de las secreciones digestivas. El calcio neto absorbido es entonces negativo hasta ingestas de 200 mg (5 mmol). Cuando la ingesta alcanza este nivel, se igualan el dietario y el fecal y la absorción neta es de cero. A medida que la ingesta aumenta la absorción neta también lo hace, rápidamente al principio, pero aplanándose después, a medida que el sistema de transporte se satura, alcanzando linealidad con una pendiente del 5-10 %.

El calcio urinario es la fracción del calcio plasmático que no es reabsorbido en los túbulos renales. Ante una filtración glomerular de 120 mL/min y un calcio iónico de 1.60 mmol/L, se filtran en torno a los 0.20 mmol/min (290 mmol/día). Dado que la cifra normal de calcio excretado es de 4-5 mmol/día, se deduce que el calcio es reabsorbido prácticamente en un 98-99 %. Siempre hay una pérdida obligatoria de calcio en la orina (al igual que en las heces). El límite inferior está en torno a 3.5 mmol/día, dependiendo también de la ingesta de proteína y sal. Hay también una pérdida significativa de calcio a través de la piel, pelo y uñas, que se estima en 40-80 mg/día (1-2 mmol/día).

Se requiere un balance positivo de calcio en la etapa de crecimiento, particularmente en los primeros dos años de vida y durante la adolescencia. Grupos de riesgo son las mujeres embarazadas (sobre todo en el último trimestre), mujeres lactantes, mujeres postmenopáusicas y posiblemente viejos sin distinción de sexo.

En la primera infancia el incremento diario de calcio esquelético es de 2.5 mmol (100 mg). El calcio urinario está en torno a los 0.25 mmol/día (10 mg/día), y es virtualmente independiente de la ingesta, siendo las pérdidas insensibles las mismas. Por tanto, hay un requerimiento de unos 120 mg/día (3 mmol/día). Con lactancia materna, una absorción de 120 mg requiere una ingesta de 240 mg (6 mmol) y recomendada de 300 (7.5 mmol). Con leche de vaca, se requieren 300 mg y se recomiendan 400 mg.

En escolares, la acumulación de calcio óseo va desde 120 mg (3 mmol) a los dos años hasta 400 mg (10 mmol) a los 10 años. El requerimiento medio se estima en 440 mg (4.5 mmol) y el recomendado, de 600 mg (15 mmol). En la adolescencia, 1040 mg/día (26 mmol) y recomendación de 1300 (32.5 mmol). En adultos, 520 mg (13 mmol) que aumenta a 840 mg por pérdidas insensibles; recomendado 1000 mg (25 mmol)

La causa más frecuente de osteoporosis es la menopausia, que se acompaña de un inequívoco aumento en la pérdida obligatoria de calcio de unos 30 mg/día. Este calcio urinario extra representa una pérdida ósea del 0.5-1.0 % en un año. Esta pérdida se compensa bien con un aumento en la ingesta de calcio de 260 mg/día, lo que hace una ingesta mínima de 1100 mg y una recomendada de 1300.

En el envejecimiento no hay una relación clara entre la ingesta de calcio y la reposición. No obstante, se recomienda un aumento de 300 mg/día.

En el embarazo se ha de tener en cuenta que el recién nacido contiene una media de 24 g de calcio, la mayor parte del cual se deposita en el tercer trimestre del embarazo, durante el cual el feto fija unos 240 mg diarios. Por ello, la ingesta mínima se estima en 940 mg y la recomendada 1200.

En cuanto a la lactancia, el contenido en calcio de la leche humana es de 36 mg/dL (9 mmol/L). Para una producción media de leche de 750 mL, esto viene a ser 280 mg de calcio. Para un calcio urinario materno de 100 mg/día y pérdida insensible de 60 mg/día, la absorción requerida es de 440 mg/día. Para un nivel de absorción aumentado (por efecto de la prolactina sobre la secreción de calcitriol) esto nos da un requerimiento de 1040 mg/día, con una ingesta recomendada de 1300 mg/día. Hay datos sobre pérdida ósea materna en la lactancia, pero ésta puede ser contrarrestada por un suplemento dietario.

12.6.4.2 Yodo

La única función fisiológica conocida hasta el momento para el yodo es la síntesis de hormonas tiroideas. Por tanto, el requerimiento dietario de yodo está determinado por el nivel de producción de estas hormonas en la glándula tiroidea.

El yodo de la dieta se absorbe en el intestino, previa su conversión a ion yoduro I^- , el cual se absorbe completamente. El yoduro es captado por la tiroidea y el riñón. La tiroidea lo emplea para la síntesis de hormona tiroidea (T3 y T4, ver sección 12.1.7), y el riñón lo excreta en forma de orina. El yodo urinario es una buena medida para calcular el requerimiento diario de yodo. Esta medida, junto con las determinaciones plasmáticas de T4 y TSH, reflejan muy bien el estado de la función tiroidea.

La deficiencia en yodo afecta a todos los grupos de edad, aunque su carencia en la vida fetal determina un daño cerebral irreversible. Se considera asimismo que son grupos de riesgo para la deficiencia en yodo las mujeres embarazadas y lactantes, así como los niños de menos de 3 años.

El déficit de yodo conduce a muy graves consecuencias en el período fetal, que van desde aborto hasta el cretinismo: oligofrenia, sordera congénita, enanismo, edema, etc. En las edades posteriores una consecuencia casi constante es el bocio: el déficit de yodo conduce a una síntesis muy escasa de hormonas tiroideas; al faltar el *feedback* que éstas ejercen sobre el eje hipotálamo-hipofisario, éste produce grandes cantidades de TSH, las cuales inducen una hiperplasia e hipertrofia de la glándula tiroidea (que conocemos como bocio). En zonas económicamente deprimidas cuyo suelo es pobre en yodo el bocio se presenta con una alta frecuencia (bocio endémico).

El contenido en yodo de los alimentos depende en gran medida del suelo cultivable del que proceden. Dada la solubilidad de yoduros y yodatos, tanto las glaciaciones como las inundaciones arrastran el yodo presente en la corteza terrestre hasta el mar. Razón por la cual el yodo es bastante escaso en la corteza terrestre y sin embargo abundante en el mar; en consecuencia, las principales fuentes de yodo dietario son los alimentos de origen marino.

Las cantidades recomendadas de ingesta de yodo son de 40 $\mu\text{g}/\text{día}$ hasta los seis meses de edad (la leche materna puede suministrar perfectamente esta cantidad en zonas libres de bocio endémico); 50 $\mu\text{g}/\text{día}$ hasta los 12 meses; 60-100 $\mu\text{g}/\text{día}$ para escolares y 150 $\mu\text{g}/\text{día}$ para

adolescentes y adultos. Esta cantidad debe aumentarse hasta los 200 $\mu\text{g}/\text{día}$ en el embarazo y la lactancia.

La deficiencia en yodo se presenta prácticamente en todas las regiones del mundo, dada su irregular y escasa presencia en la corteza terrestre. Algunos alimentos base, como la mandioca, tienen agentes antitiroideos como el tiocianato (que inhibe la síntesis de hormonas tiroideas). Para resolver estos problemas, una práctica generalizada es el enriquecimiento de la sal común con yoduro o yodato potásicos; ambos tienen una elevada biodisponibilidad y por ello los trastornos debidos a la insuficiencia en yodo están en franca disminución en todo el mundo.

12.6.4.3 Hierro

El hierro tiene muchas funciones absolutamente vitales en el organismo. Está presente en transportadores de oxígeno como hemoglobina o mioglobina; en transportadores electrónicos como los citocromos o los complejos Fe-S; en enzimas indispensables en el metabolismo como la citocromo oxidasa y muchas otras; y en enzimas fundamentales en procesos de síntesis hormonal, síntesis de neurotransmisores, destoxificación o lucha contra el *stress* oxidativo.

Los principales reservorios de hierro en el organismo son la hemoglobina de los hematíes y la mioglobina de los músculos. El hierro más directamente disponible se almacena en forma de ferritina y hemosiderina en el hígado y es transportado en plasma mediante la proteína transferrina.

A diferencia de otros elementos, el hierro no es excretado por orina o por vía intestinal. Las pérdidas de hierro del organismo corresponden a procesos de descamación celular (piel y mucosas del intestino, de las vías aéreas o de las vías urinarias). Se estiman estas pérdidas en unos 14 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$. Pero estas pérdidas son mucho más marcadas a través de la hemorragia menstrual en mujeres en edad fértil, lo que hace que éstas sean el principal grupo de riesgo de la ferropenia. Hoy también se da importancia a la pérdida a través del sudor en climas cálidos y húmedos.

El recién nacido a término tiene un contenido en hierro de unos 250-300 mg. Durante los primeros meses de vida, el contenido en hemoglobina disminuye dadas las mejores condiciones de oxigenación de la vida extrauterina, lo cual hace aumentar las reservas de hierro. Por esta razón el suministro de hierro está asegurado en lactantes pesar de que la leche materna es muy deficitaria en hierro. Pero este hecho no se da en prematuros, en los cuales es necesario un suplemento en hierro. Las necesidades de este elemento aumentan significativamente a partir del cuarto mes de vida extrauterina.

En este último período, el requerimiento de hierro aumenta significativamente, dado que el organismo no tiene reservas y únicamente recibe el hierro de la dieta; esta necesidad se ve cubierta si la dieta tiene cantidades suficientes de carne y ácido ascórbico. Las preparaciones de cereales que son un contingente importante a esta edad suelen estar enriquecidas en hierro y ácido ascórbico.

El requerimiento de hierro es también alto en la adolescencia, particularmente en el período de crecimiento rápido. En las niñas se incrementa aún más debido a la menarquia.

Las pérdidas menstruales de hierro suelen ser constantes para una misma mujer, pero hay bastante variación de unas a otras. La intensidad de la hemorragia menstrual está determinada por el contenido en activadores fibrinolíticos de la mucosa uterina. La pérdida menstrual

media se estima en unos 0.56 mg/día, que junto con las pérdidas basales y el crecimiento determina un requerimiento en exceso de 2.65 mg/día.

En mujeres postmenopáusicas el requerimiento de hierro se hace igual al de los hombres a la misma edad, dependiendo en ambos casos del nivel de actividad física. En la tercera edad las ferropenias no suelen ser debidas a déficit de ingesta, sino preferentemente a pérdidas.

El requerimiento en hierro aumenta significativamente durante el embarazo, debido al incremento en la masa de hemoglobina que requiere la madre para la oxigenación eficiente del feto. Este requerimiento se hace realmente importante en el tercer trimestre.

En lo que respecta a la absorción de hierro, podemos distinguir dos tipos: hierro hemínico y no hemínico. En la dieta humana las fuentes principales de hierro hemínico son hemoglobina y mioglobina procedentes de carne y pescado, mientras que el hierro no hemínico está presente en cereales y legumbres. El hierro hemínico se absorbe en un 25 % por término medio; pero puede subir hasta un 40 % en casos de ferropenia. El hierro no hemínico se absorbe mucho menos y en proporción bastante variable. En general, compuestos reductores que mantienen el hierro en estado ferroso facilitan su absorción; los compuestos que forman complejos con el hierro la inhiben.

Los factores que facilitan la absorción de hierro son: ácido ascórbico, carne y pescado, vegetales fermentados (sauerkraut, salsa de soja, etc.). Por el contrario, inhiben la absorción de hierro los fitatos (presentes, por ejemplo, en cereales integrales), las pastas, frutos secos, compuestos fenólicos (presentes en café, té, cacao, vinos tintos) y el calcio. Este último, presente en productos lácteos, interfiere significativamente con la absorción de hierro. Como ambos elementos son imprescindibles en la dieta, se recomienda evitar la administración conjunta o bien incrementar el contenido en hierro o su biodisponibilidad.

Las necesidades de hierro dietario se presentan en la tabla VII.

Tabla VII

Ingesta recomendada de hierro en función de biodisponibilidad

Grupo	Edad (años)	Peso medio (kg)	Ingesta recomendada (mg/día)			
			% Biodisponibilidad			
			15	12	10	5
Niños	0.5-1	9	6.2	7.7	9.3	18.6
	1-3	12.3	3.9	4.8	5.8	11.6
	4-6	19.2	4.2	5.3	6.3	12.6
	7-10	28.1	5.9	7.4	8.9	17.8
Hombres	11-14	45	9.7	12.2	14.6	29.2
	15-17	64.4	12.5	15.7	18.8	37.6
	>18	75	9.1	11.4	12.7	27.4
Mujeres	11-14	46.1	9.3	11.7	14	28
	11-14	46.1	21.8	27.7	32.7	65.4
	15-17	56.4	20.7	25.8	31	62
	>18	62	19.6	24.5	29.4	58.8

	Postmenopausia	62	7.5	9.4	11.3	22.6
	Lactancia	62	10	12.5	15	30

12.6.4.4 Magnesio

El ion magnesio es imprescindible en la funcionalidad de muchas enzimas implicadas en el metabolismo energético y en todos los procesos ligados a la información genética (síntesis de DNA, RNA y proteína). Se ha de tener en cuenta que el sustrato habitual de todos aquellos procesos ligados a la hidrólisis de ATP es en realidad el complejo ATP-Mg⁺⁺. El metabolismo del magnesio está íntimamente ligado a los flujos del ion potasio y por tanto, a los fenómenos de excitabilidad tisular. Igualmente, el metabolismo del magnesio está muy relacionado con el del calcio.

El principal reservorio de magnesio en el organismo es el hueso, en el que forma un componente superficial de la hidroxilapatita. Este magnesio es fácilmente intercambiable con el magnesio sérico.

La deficiencia en magnesio es poco frecuente, tanto en niños como en adultos. Los síntomas de la misma son difíciles de discernir dada su interrelación con el potasio; la depleción de magnesio conlleva un descenso en el contenido de potasio tanto intra- como extracelular.

El magnesio aparece en una gran cantidad de alimentos; verduras, legumbres, frutos secos, moluscos, harina de soja, etc. El contenido en magnesio es bajo en cereales muy refinados, tubérculos, mandioca y alimentos lipídicos en general.

Una ingesta alta de fibra disminuye la absorción de magnesio, debido probablemente a los fitatos presentes en la misma; pero este efecto sólo es importante en dietas pobres en magnesio.

Los requerimientos diarios de magnesio oscilan entre 26 mg/día para recién nacidos hasta los seis meses y 260 mg/día en la edad adulta; no hay diferencia entre sexos y no se requiere suplemento en el embarazo, aunque sí en la lactancia: 50 mg/día extra en madres lactantes.

12.6.4.5 Selenio

La demostración de la necesidad de selenio en la dieta es relativamente reciente (desde 1990 aproximadamente). Este elemento aparece implicado en la protección contra el *stress* oxidativo, el mantenimiento de las defensas ante infecciones y la modulación del crecimiento y desarrollo.

La mayor parte del selenio orgánico aparece en seleno-análogos de los tioaminoácidos: es decir, selenocisteína y en menor medida, selenometionina. Más raramente como sulfuros o selenio ácido-lábil. Entre las proteínas que contienen selenocisteína están diversas glutatión peroxidasas (citosólica, plasmática, gastrointestinal, extracelular), tioredoxina reductasa, yodotironina desyodasas (enzimas que producen T3 a partir de T4) y otras proteínas de función no aclarada (selenoproteínas P del plasma y W del músculo, posibles reservorios de este elemento).

La carencia o déficit de selenio no está bien definida clínicamente; se traduce en debilidad muscular y en casos graves, en insuficiencia cardíaca congestiva. Hay también mayor susceptibilidad a la infección (agravada en casos de infección por VIH) y al *stress* oxidativo. También son frecuentes los signos o síntomas de insuficiencia tiroidea.

No es infrecuente en personas mantenidas en dietas enterales o parenterales durante largo tiempo. La carencia de selenio parece estar implicada en dos enfermedades endémicas en algunas zonas de China y Siberia (enfermedad de Keshan y enfermedad de Kaschin-Beck). En ambas está demostrado el valor profiláctico de la administración de selenio.

La presencia de selenio en la dieta es muy variable respecto al origen geográfico. En general son pobres en selenio los suelos de origen glaciar (por ejemplo, en Europa septentrional). el contenido en selenio es máximo en alimentos de origen marino; algo menor en carnes y cereales; aunque en estos dos últimos casos, depende del contenido en el suelo cultivable.

Los compuestos de selenio son fácilmente absorbidos en cualquier forma (sobre todo selenitos, selenatos y selenoaminoácidos). Su biodisponibilidad se mide mediante la recuperación de la actividad glutatión peroxidasa en ratas previamente deprivadas de selenio.

Las cantidades recomendadas oscilan entre 5 µg/día para lactantes y 26 µg/día en adultos. En la lactancia esta cantidad debe incrementarse hasta 42 µg/día.

12.6.4.6 Zinc

El zinc es un componente esencial de un gran número de enzimas que participan en la síntesis y degradación de carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, así como en el metabolismo de otros micronutrientes. El zinc estabiliza la estructura molecular de componentes y membranas celulares. Muy especialmente, el zinc tiene un papel destacado en los procesos de transcripción y expresión genética. También participa en el sistema inmune, afectando tanto a la inmunidad celular como a la humoral.

Una deficiencia leve lleva a un crecimiento retardado y a un descenso en la respuesta inmune. La deficiencia grave lleva a trastornos graves del crecimiento, retardo en la maduración ósea y sexual, lesiones cutáneas, diarrea, alopecia, anorexia, susceptibilidad aumentada a infecciones y a cambios conductuales.

El zinc se absorbe, en general con bastante eficiencia, en el intestino delgado. Se excreta a través de la orina, y las descamaciones cutánea e intestinal. El ayuno incrementa las pérdidas urinarias de zinc, así como el ejercicio muscular intenso y las temperaturas elevadas que promueven pérdidas a través del sudor.

El organismo carece de reservorios específicos de zinc. Ahora bien, su nivel plasmático está mantenido por un mecanismo homeostático del que se conoce muy poco. No ha sido posible hasta el momento definir una enzima dependiente de zinc que pueda ser indicativa del estado nutricional respecto al mismo.

Las principales fuentes dietarias de zinc son la carne magra, cereales integrales y legumbres. La asimilación de zinc depende de factores dietarios. Las sustancias orgánicas de bajo peso molecular, como aminoácidos e hidroxiaácidos, favorecen la absorción de zinc. Por el contrario, compuestos orgánicos capaces de formar complejos inhiben su absorción. Unos inhibidores particularmente importantes son los fitatos; pero la presencia de proteínas de carne o de legumbres favorece la absorción incluso en presencia de fitatos. La presencia de éstos puede

ser reducida por activación o adición de fitasas. Éstas pueden activarse por la germinación de cereales o legumbres.

Las poblaciones de riesgo respecto al déficit de zinc, dado su papel en los procesos de expresión genética, son lactantes, niños, adolescentes y mujeres embarazadas. El déficit de zinc en jóvenes no sólo retarda el crecimiento, sino también incrementa la susceptibilidad a infecciones.

Los mayores requerimientos de zinc corresponden a los lactantes de hasta 6 meses (200 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$), descendiendo esta cantidad hasta 90 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ a los 10 años. En adultos, el requerimiento viene a ser de 60-80 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$.

12.6.4.7 Cobre

Es un elemento absolutamente esencial para el funcionamiento de sistemas enzimáticos tan importantes como la citocromo oxidasa mitocondrial, superóxido dismutasa 1 (SOD-1), dopamina- β -hidroxilasa, glutatión peroxidasa y otras.

Las principales fuentes alimenticias de cobre son los alimentos de origen animal (carne, pescado) y los cereales. Una cierta cantidad de la ingesta de cobre puede ser atribuida al agua de grifo, procedente de las cañerías.

El cobre se absorbe principalmente en el medio ácido del estómago y las porciones proximales del intestino delgado, formando probablemente complejos con el aminoácido histidina y péptidos; al parecer, zinc y cadmio compiten con la absorción de cobre, así como fitatos y fibra alimentaria. Una vez absorbido se fija fuertemente a la albúmina y a través de la circulación portal pasa al hígado donde se une a ceruloplasmina. En el hígado el cobre se almacena formando parte de metalotioneínas y circula en sangre ligado a la proteína ceruloplasmina.

La deficiencia pura de cobre está mal caracterizada. Ligadas al metabolismo del cobre se conocen la enfermedad de Wilson, con acumulación patológica de cobre en hígado y cerebro, dada la incapacidad de su fijación a ceruloplasmina, y la enfermedad de Menkes, un síndrome raro ligado al cromosoma X, que suele ser letal antes del séptimo año de vida, y que cursa con niveles anormalmente bajos de cobre plasmático.

WHO recomienda una ingesta entre 2 y 3 $\text{mg}/\text{día}$, correspondientes a 30 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$; esta cantidad se eleva en lactantes (80 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$), niños (40 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$), embarazo (50 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$) y lactancia (80 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$).

Bibliografía

Bibliografía general

Alberts, B., Bray D., Hopkin K., Johnson A. , Lewis J. , Raff M. , Roberts K. y Walter P.
Introducción a la Biología Celular. 2ª Edición
Panamericana, 2006

Baynes, J.W. and Dominiczak, M.H.
Bioquímica Médica. 3ª edición.
Elsevier, 2011.

Berg, J.M., Tymoczko, J.L. and Stryer, L.
Biochemistry. 7ª edición.
Freeman, 2011.

Feduchi, E.
Bioquímica. Conceptos esenciales
Panamericana, 2011

Devlin, T.M.
Textbook of Biochemistry with Clinical correlations. 7th ed.
Wiley, 2010.

Horton R.A., Moran L.A., Scrimgeour G., Perry M.
Principles of Biochemistry, 5th Edition
Prentice Hall, 2011

Koolman, J.
Bioquímica Humana. Texto y Atlas
Panamericana, 2012

Lehninger, A.L.
Principles of Biochemistry. 5th ed.
Freeman, 2009.

Lozano, J.A.; Galindo, J.D.
Bioquímica y Biología Molecular para Ciencias de la Salud
McGraw-Hill, 2005

Luque, L., y Herráez, A.
Biología Molecular e Ingeniería Genética.
Ediciones Harcourt, 2001

Mathews, C.K., Van Holde, K.E. y Ahern KG (2002).
Bioquímica. 3ª edición.
Addison Wesley/Pearson Education. Madrid

McKee, T.

Bioquímica. Las Bases Moleculares de la Vida

McGraw-Hill, 2009

Nelson, D.L.; Lehninger, A.L.

Lehninger Principios de Bioquímica

Omega, 2009

Pratt, C.W.; Cornely, K.

Essential Biochemistry

Wiley, 2012

<http://www.wiley.com/college/pratt/0471393878/student/index.html>

Smith, C., Marks, A.D., Lieberman, M.

Bioquímica básica de Marks. Un enfoque clínico. 2ª edición

McGraw-Hill, 2005

Stryer, L.; Berg, J.M.; Tymoczko, J.L.

Bioquímica

Reverté, 2008

Voet, D.

Fundamentos de Bioquímica. La Vida a nivel molecular

Panamericana, 2007

Watson, J., Baker T., Bell S., Gann A., Levine M. y Losick, R.

Biología Molecular del Gen. 5ª Edición

Panamericana, 2006

Páginas web

Capítulo 1

<http://earthobservatory.nasa.gov/Features/CarbonCycle/page1.php>

<http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages/C/CarbonCycle.html>

<http://www.columbia.edu/~vjd1/carbon.htm>

<http://www.nature.com/scitable/knowledge/library/the-nitrogen-cycle-processes-players-and-human-15644632>

<http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages/N/NitrogenCycle.html>

<http://www.hort.purdue.edu/rhodcv/hort640c/nuptake/nu00003.htm>

Capítulo 4

<https://www.bio.cmu.edu/courses/03231/LecF04/Lec29/lec29.html>

Capítulo 7

http://bioquest.org/bedrock/oklahoma_city_01_05/cathepsin_background_information.pdf

http://www.vivo.colostate.edu/hbooks/pathphys/digestion/smallgut/absorb_acids.html

<http://www.hort.purdue.edu/rhodcv/hort640c/ammonia/am00006.htm>

<http://www.rcsb.org/pdb/101/motm.do?momID=30>

Capítulo 8

<http://themedicalbiochemistrypage.org/nucleotide-metabolism.php>

<http://seqcore.brcf.med.umich.edu/mcb500/nucsyl/nucmetab.html>

Capítulo 9

<http://www.slideshare.net/noelmd/xenobiotic-metabolism-2825134>

http://zoology.muohio.edu/oris/ZOO462/notes/03_462.html

http://en.wikipedia.org/wiki/Xenobiotic_metabolism

http://web.sls.hw.ac.uk/teaching/Derek_J/mol_tox/lectures/files/xenobiotic_metabolism/index.html

Capítulo 10

http://en.wikipedia.org/wiki/Ion_channel

http://www.scholarpedia.org/article/Ion_channels

<http://www.whatislife.com/reader/channels/channels.html>

<http://www.iuphar-db.org/>

http://en.wikipedia.org/wiki/Synthetic_ion_channels

<http://www2.montana.edu/cftr/ionchannelprimers/beginners.htm>

http://en.wikipedia.org/wiki/Ion_transporter

<http://courses.washington.edu/conj/membrane/transport.htm>

<http://www.bio.davidson.edu/Courses/Molbio/MolStudents/spring2010/Palmer/TheSodium-PotassiumPump.html>

<http://www.chem.utoronto.ca/coursenotes/GTM/JM/NaKpump/start.htm>

http://www.cs.stedwards.edu/chem/Chemistry/CHEM43/CHEM43/Projects04/ATPASES/PTYP_E_CALCIIUM.HTM

Capítulo 11

http://www.betterhealth.vic.gov.au/bhcv2/bhcarticles.nsf/pages/Metabolism_explained

<http://www.bmi-calculator.net/bmr-calculator/bmr-formula.php>

<http://www.rcjournal.com/cpgs/09.04.1073.html>

Capítulo 12

<http://www.fao.org/docrep/W8079E/W8079E00.htm>

<http://www.fao.org/docrep/007/y5686e/y5686e00.htm>

<http://www.who.int/nutrition/publications/nutrientrequirements/en/index.html>

<http://www.fao.org/docrep/004/Y2809E/y2809e00.HTM>