

## **TEMA 1.**

Concepto y Objetivos de la Bioquímica. Evolución histórica y estado actual.

Relación con otras ciencias experimentales.

### **Concepto de la Bioquímica.**

- Ciencia que estudia las bases moleculares de la vida o ciencia de la vida a nivel molecular.
- Parte de la química que estudia la composición y transformación de los seres vivos. (R. Academia Lengua Española).
- Ciencia que estudia los constituyentes químicos de los seres vivos, sus funciones y transformaciones, así como los procesos que controlan éstas (Herrera).
- Ciencia biológica que estudia la estructura, propiedades, localización y funciones de las moléculas en los seres vivos (MJ. Noriega).

¿Por qué estudiar Bioquímica en la Diplomatura de Enfermería?

- Pilar básico en la comprensión del ser vivo.
- Nexos de unión entre bioquímica y otras materias de las ciencias de la salud (fisiología, nutrición, farmacología, etc).
- Muchas enfermedades se producen por disfunciones analizables bajo parámetros bioquímicos (semiología y enfermería médico-quirúrgica).
- Probable evolución futura.
- Comprensión del proceso de desarrollo vital.
- Incremento del rigor y la profundidad científica del alumno para su futura carrera profesional.

### **Objetivo de la Bioquímica.**

EXPLICAR LAS ESTRUCTURAS Y FUNCIONES BIOLÓGICAS EN TÉRMINOS QUÍMICOS (LEHNINGER)

### **Divisiones y Clasificación.**

- BIOQUÍMICA ESTRUCTURAL O ESTÁTICA.
- BIOQUÍMICA DINÁMICA.
- BIOLOGÍA MOLECULAR.

ENFOQUE BIOQUÍMICO Y MOLECULAR DE LA ENFERMEDAD.

BIOQUÍMICA Y CIENCIAS DE LA SALUD.

## **TEMA 2.**

Bioelementos. Biomoléculas. Papel del agua en los seres vivos. Propiedades físico-químicas del agua. Disociación del agua. Concepto de pH y pK.

### **BIOELEMENTOS.**

Def.: elementos químicos que constituyen los seres vivos.

Clasificación (según su abundancia):

- Primarios: H, O, C, N (99%).
- Secundarios: Ca, P, K, S, Na, Cl (0.7%).
- Oligoelementos: Mn, I, Cu, Co, Zn, F, Mo, Se, Mg, Fe, Ni (< 0.01%).

Clasificación (según la función):

- Plástica o estructural: H, O, C, N, P, S.
- Esquelética: Ca, Mg, P, F, Se.
- Energética: C, O, H, P.
- Catalítica: Fe, Co, Cu, I.
- Osmótica y electrolítica: Na, K, Cl.

### **¿Por qué H, O, C y N?**

- Facilidad de formar enlaces covalentes entre ellos.
- Disponibilidad de los át. de carbono para la formación de esqueletos carbonados tridimensionales.
- Favorecer la multiplicidad de enlaces (dobles y triples) así como de la formación de enlaces que facilitan la formación de estructuras lineales, ramificadas, cíclicas, heterocíclicas, etc.
- Posibilidad de que con muy pocos elementos se originen una gran variedad de grupos funcionales.

### **ENFERMEDADES CARENCIALES**

(Déficit de oligoelementos)

- Cobalto: anemia, retraso del crecimiento.
- Cobre: anemia, def. esqueléticos, desmielinización, degeneración del S.N., lesiones cardiovasculares.
- Flúor: caries, alteraciones de la estructura ósea.
- Manganeso: retraso del crecimiento.
- Molibdeno: aumento de metionina en sangre, bocio.
- Selenio: miocardiopatías.
- Yodo: bocio.
- Zinc: inapetencia, falta de crecimiento, alteración en la curación de las heridas.

Tabla periódica de los elementos.

### **BIOMOLÉCULAS.**

(Principios inmediatos).

Def.: son las moléculas constituyentes de los seres vivos.

Los bioelementos se unen para formar las Biomoléculas.

Clasificación (según su naturaleza química):

- Inorgánica: agua, gases (O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>), sales inorgánicas (fosfato, bicarbonato, amonio).
- Orgánicas: glúcidos (glucosa, glucógeno), lípidos (triglicéridos, colesterol), proteínas (aminoácidos), ácidos nucleicos (ADN, ARN), metabolitos (piruvato, lactato).

Características: no gratuidad y gran diversidad.

Clasificación (según grado creciente de complejidad):

- Precusores (pm < 50d): agua, CO<sub>2</sub>, amonio.
- Intermedios metabólicos o metabolitos (pm 50–200 d): piruvato, oxalacetato o citrato.
- Unidades estructurales (pm 100–300 d): Biomoléculas (monosacáridos, aminoácidos, nucleótidos, glicerol, ácidos grasos).
- Macromoléculas (pm 106–109 d): ribosomas, cromatina o membranas.
- LA CÉLULA Y SUS ORGÁNULOS.

### **TIPOS DE ENLACES**

(Fuerza del enlace).

- COVALENTES (> 210 KJ/mol).
- FUERZAS INTERMOLECULARES.
- interacciones iónicas (4–80 KJ/mol).
- Puentes de hidrógeno (12–30 KJ/mol).
- Fuerzas de Van der Waals (0.3–9 KJ/mol).
- Interacciones hidrófobas (3–12 KJ/mol).

### **GRUPOS FUNCIONALES**

Las moléculas más sencillas derivadas del carbono son las construidas con carbono e hidrógeno y se denominan HIDROCARBUROS.

Fotocopia Pág. 15

### **PAPEL DEL AGUA**

- Biomolécula más abundante (65–70% del peso total del cuerpo).
- Variabilidad en la proporción según los tejidos.
- Su importancia se debe a que casi todas las reacciones bioquímicas del organismo tienen lugar en el seno del agua.
- Las intensas fuerzas de atracción entre las moléculas de agua son las que le confieren sus propiedades como disolvente y la débil tendencia a ionizarse es fundamental para la estructura y función de la Biomoléculas.

### **ESTRUCTURA MOLECULAR DEL AGUA**

- Carácter tetraédrico.
- Ángulo del enlace H–O–H: 104.5°.
- Dipolo eléctrico.
- La atracción electrostática entre el átomo de O<sub>2</sub> y el de H constituye los puentes de hidrógeno.
- Esta estructura condiciona las propiedades físico-químicas del agua.
- El mayor n° de enlaces ocurre cuando el H<sub>2</sub>O se encuentra en estado sólido (hielo) constituyendo una estructura regular cristalina (tetrahidrol).

Gráfico Pág. 17.

### **PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DEL AGUA.**

- Elevada temperatura de ebullición (100°).
- Densidad máxima a 4°C.
- Elevado calor específico (1 cal/g x ° C) = 15–16°C.
- Elevado calor de vaporización (536 cal/g).
- Elevada conductividad calorífica: termorregulación.
- Elevada constante dieléctrica: buen disolvente.
- Capacidad de hidratación o solvatación de iones.
- Disolvente de moléculas antipáticas: forma micelas.
- Disolvente de compuestos polares no iónicos: DISOLVENTE UNIVERSAL.
- Elevada tensión superficial: facilita emulsión grasas.
- Transparencia.
- Electrolito débil (anfolito o sustancia anfótera).

### **FUNCIONES BIOQUÍMICAS Y FISIOLÓGICAS DEL AGUA.**

- Componente estructural de las macromoléculas, por los puentes de hidrógeno.
- Disolvente universal.
- Sustrato o producto (metabolito intermedio) en las reacciones enzimáticas.
- Carácter termorregulador.

### **COMPARTIMENTACIÓN ACUOSA CORPORAL.**

- AGUA INTRACELULAR (70%).
  - Agua libre.
  - Agua ligada o asociada.
- AGUA EXTRACELULAR (30%).
  - Agua plasmática (7%): plasma y linfa.
  - Agua intersticial (23%): sinovial, pleural, peritoneal, etc.

### **INGESTA Y EXCRECIÓN DE AGUA EN LOS HUMANOS**

- Ingesta media: 2700 ml.
  - Bebida: 1300 ml.
  - Alimentos: 900 ml.
  - Oxidación metabólica: 500 ml.
- Excreción: 2700 ml.
  - Respiración: 500 ml.
  - Transpiración, evaporización: 700 ml.
  - Orina: 1400 ml.
  - Heces: 100 ml.

### **ALT. METABOLISMO HÍDRICO**

| Alteración     | Tipo      | Causas |
|----------------|-----------|--------|
| DESHIDRATACIÓN | ISOTÓNICA |        |

|             |                                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|-------------|----------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|             | HIPERTÓNICA<br>HIPOTÓNICA              | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Vómitos, diarrea, pérdida de sangre o plasma.</li> <li>• Aporte insuficiente de agua, pérdida de agua por piel, pulmones e intestino.</li> <li>• Aporte insuficiente o pérdida de sodio (insuficiencia renal, déficit aldosterona).</li> </ul> |
| HIDRATACIÓN | ISOTÓNICA<br>HIPERTÓNICA<br>HIPOTÓNICA | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Infusiones isotónicas, déficit de proteínas, insuficiencia cardíaca.</li> <li>• Infusiones o ingestión de soluciones hipertónicas, sd. Conn, sd. Cushing.</li> <li>• Aporte oral excesivo de agua, infusión de soluciones sin sal.</li> </ul>  |

## **DISOLUCIONES**

Disolución: combinación homogénea de varios componentes y con composición variable.

Mezcla: sistema heterogéneo, de composición variable, formado por 2 o más porciones diferentes, separadas por superficies netas (fases).

Suspensión: mezcla heterogénea que puede ser separada fácilmente por filtración, en la que el tamaño de las partículas es grande, de forma que puede sedimentar con mucha facilidad.

Soluto: sustancia que se disuelve (fase discontinua).

Disolvente: medio en el que se disuelve el soluto (fase continua).

Clasificación de las disoluciones (según naturaleza física de los componentes):

- Disoluciones en estado gaseoso:
  - Gas en gas: aire.
  - Líquido en gas: humedad.
  - Sólido en gas: partículas de polvo en aire.
- Disoluciones en estado líquido:
  - Gas en líquido: CO<sub>2</sub> en agua.
  - Líquido en líquido: alcohol en agua.
  - Sólido en líquido: azúcar en agua.
- Disoluciones en estado sólido (raras):
  - Gas en sólido: hidrógeno en paladio.
  - Líquido en sólido: mercurio en cobre.
  - Sólido en sólido: cobalto en níquel.

## **EXPRESIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE UNA DISOLUCIÓN**

- Expresadas en forma de porcentaje:

- Tanto por ciento en peso.
- Tanto por ciento en volumen.
- Tanto por ciento en peso/volumen.
- Expresadas en forma absoluta:
  - g/l ó mg/ml
  - mg/dl
- Molaridad: n° de moles soluto/1 L disolución.

Molalidad: n° moles soluto/1 Kg disolvente.

Normalidad: n° equiv.-gramo soluto/1L disolución.

### **TIPOS DE ELECTROLITOS**

Electrolitos: sustancias cuya disociación iónica en solución les hace capaces de conducir la corriente eléctrica.

Clasificación:

- ÁCIDOS.
- BASES.
- SALES.
- Ácidas: sustancias que al disociarse dan lugar a protones libres (H<sup>+</sup>): HCL.
- Básicas: sustancias que al disociarse originan iones hidroxilo (OH<sup>-</sup>): NaOH.
- Neutras: compuestos que originan iones distintos al ión H y al ión hidroxilo: NaCl.

### **TEORIAS SOBRE ACIDEZ Y BASICIDAD**

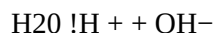
Ácido: sustancia que puede ceder protones.

Base: sustancia capaz de aceptar protones.

Un dador de protones y su correspondiente aceptor, forman un par ácido-base conjugados. Brönsted y Lowry

### **IONIZACIÓN DEL AGUA**

Ionización reversible



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

CONSTANTE DEL PRODUCTO IÓNICO DEL AGUA

$$[\text{H}^+] = [\text{OH}^-] = 10^{-7}$$

### **ESCALA DE pH (potencia de Hidrógeno)**

Def. de pH: logaritmo decimal de la concentración molar de iones hidrógeno, hidrogeniones e iones hidrónio,

con el signo cambiado,  $\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$ .

Def. de pOH: logaritmo decimal de la concentración molar de iones hidroxilo, con el signo cambiado,  $\text{pOH} = -\log [\text{OH}^-]$ .

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

Clasificación de las disoluciones en función del pH:

- ÁCIDAS: si el valor del pH es  $< 7$ .
- BASICAS: si el valor del pH es  $> 7$ .
- NEUTRAS: si el valor del pH es igual a 7.

### **MEDICIÓN DEL pH**

Usando colorantes:

- Tornasol.
- Fenolftaleína.
- Rojo fenol.

pHmetro: electrodo de vidrio.

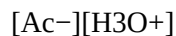
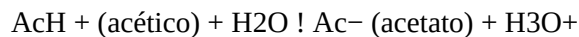
La medida del pH en sangre y la orina se utiliza para diagnosticar enfermedades (pH en sangre 7.4):

- ACIDOSIS: si el valor del pH es  $< 7.4$ .
- ALCALOSIS: si el valor del pH es  $> 7.4$ .

### **ÁCIDOS Y BASES DÉBILES**

La gran mayoría de ácidos y bases que regulan el pH de nuestro cuerpo son débiles y por tanto poco disociados.

Esta disociación o las constantes de equilibrio de las reacciones de ionización viene regida por la CONSTANTE DE DISOCIACIÓN O IONIZACIÓN del ácido o de la base, representada como  $K_a$  o  $K_b$ .



$$K_a = \frac{[\text{Ac}^-][\text{H}_3\text{O}^+]}{[\text{AcH}]}$$



### **CONCEPTO DE pK**

Definición de pK: logaritmo decimal de la constante de disociación del ácido y/o base, con el signo cambiado.

$$\text{pK}_a = -\log K_a \quad \text{pK}_b = -\log K_b$$

Cuanto más fuerte se disocie el ácido, menor es su pKa.

pKa de un ácido puede definirse como el valor del pH para el que el 50% se encuentra disociado. Es evidente de que a mayor fuerza del ácido, más débil es su base conjugada y viceversa.

$$pK_a + pK_b = pK_w = 14$$

Fotocopia pH y pK Pág. 33.

### **TEMA 3**

Soluciones tampón. Ecuación de Henderson–Hasselbalch. Tampones fisiológicos.

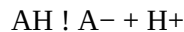
### **FUNDAMENTOS DE LAS DISOLUCIONES REGULADORAS**

Una disolución reguladora, amortiguadora, tampón o buffer está formada por:

- Un ácido débil y la sal de su base conjugada (ác. Acético/acetato sódico).
- Una base débil y la sal de su ácido conjugado (amoníaco/cloruro amónico).

Capacidad amortiguadora de una disolución reguladora es la cantidad de ácido o base que puede neutralizar dicha solución, con una variación máxima de una unidad en el pH de la disolución.

### **ECUACIÓN DE HENDERSON–HANSSELBALCH**



$$[A^-] [H^+] [AH]$$

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

$$[AH] [A^-]$$

$$[AH]$$

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

$$[A^-]$$

$$[sal]$$

$$[A^-] \quad pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[AH]}$$

$$pH = pK_a + \log \frac{[base]}{[ácido]}$$

$$[AH]$$

$$[base]$$

$$pH = pK_b + \log \frac{[base]}{[sal]}$$

$$[sal]$$



## DISOLUCIONES REGULADORAS FISIOLÓGICAS

- Amortiguador fosfato.
- Amortiguador bicarbonato: principal
- Proteínas.
- Hemoglobina.

### ACIDOSIS

- Acidosis metabólica.
  - Causas: cetoacidosis diabética, hipertermia, sepsis, infarto agudo miocardio, para cardiorrespiratoria, etc.
  - Compensación: hiperpnea respiratoria (pulmón), retención de bicarbonato (riñón).
  - Tratamiento: infusión de bicarbonato.
- Acidosis respiratoria.
  - Causas: insuficiencia ventilatoria, hipoventilación, bronquitis crónica, enfisema pulmonar, etc.
  - Compensación: aumento reabsorción bicarbonato a nivel renal.
  - Tratamiento: oxigenoterapia o respiración asistida.

### ALCALOSIS

- Alcalosis metabólica.
  - Causas: vómitos repetidos, síndrome de Conn (hiperladosteronismo), etc.
  - Compensación: hipoventilación respiratoria (pulmón), aumento de la excreción de bicarbonato (riñón).
  - Tratamiento: HCL diluido, ácido láctico, etc.
- Alcalosis respiratoria.
  - Causas: hiperventilación pulmonar (insuficiencia cardíaca, fiebre, etc.), crisis de ansiedad o histeria.
  - Compensación: mayor eliminación de bicarbonato a nivel renal.
  - Tratamiento: inspiración del CO<sub>2</sub> que espira por el propio paciente (bolsa de plástico).

### Concentraciones de iones en líquidos corporales

|                  | Suero      | Líquido<br>Intracelular |
|------------------|------------|-------------------------|
| Na <sup>+</sup>  | <b>140</b> | 12                      |
| K <sup>+</sup>   | 4.5        | <b>160</b>              |
| Ca <sup>++</sup> | 5          | 2                       |
| Mg <sup>++</sup> | 1.5        | <b>34</b>               |
| Cl <sup>-</sup>  | <b>104</b> | 2                       |

|                               |    |            |
|-------------------------------|----|------------|
| HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | 24 | 10         |
| Fosfato                       | 2  | <b>140</b> |

### Alteraciones patológicas

- El aumento del sodio en plasma se denomina HIPERNATREMIA.
  - Causas: deshidratación, síndrome de Conn (hiperladosteronismo), hiperproducción de cortisol (síndrome de Cushing).
- La disminución de la concentración de sodio en plasma se denomina HIPONATREMIA.
  - Causas: excesiva ingesta de agua, enfermedad de Addison (hipoaldosteronismo), quemaduras, diarreas.
- El aumento en la concentración de potasio se denomina HIPERPOTASEMIA O HIPERKALIEMIA.
  - Causas: destrucción celular, hemólisis o insuficiencia renal.
- El descenso de la concentración de potasio se denomina HIPOPOTASEMIA O HIPOKALIEMIA.
  - Causas: hiperladosteronismo (síndrome de Conn) y diuréticos.

E. ADDISON: hiponatremia + hiperpotasemia (hipoaldosteronismo).

E. CONN: hipernatremia + hipopotasemia (hiperladosteronismo).

### Gasometría arterial

| ACIDOSIS                      |       | ALCALOSIS  |              |       |
|-------------------------------|-------|------------|--------------|-------|
|                               |       | METABÓLICA | RESPIRATORIA |       |
|                               | D C   | D C        | D C          |       |
| pH                            | ! 7.4 | ! 7.4      | ! 7.4        | ! 7.4 |
| pCO <sub>2</sub>              | 40 !  | !!         | 40 !         | !!    |
| HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | !!    | 26 !       | !!           | 26 !  |

pH = 7.4 pCO<sub>2</sub> = 40 mm Hg HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> = 25 – 27 mmol/L

D = descompensada C = compensada

Ej.

pH = 7.2 = acidosis

pCO<sub>2</sub> = 80 mm Hg

pCO<sub>3</sub><sup>-</sup> = 26 mmol/ L

respiratoria como el problema está en el pulmón tenemos que aumentar el pH para que el riñón aumente el bicarbonato evitando que lo pierda por la orina. ( $\text{HCO}_3^-$  !pH).

## **TEMA 4**

Proteínas: concepto, clasificación y funciones.

Aminoácidos: estructura y clasificación.

Propiedades de los aminoácidos: estereoisomería, comportamiento ácido-base y reacciones químicas.

## **INTRODUCCIÓN**

- Proteínas (protos): primero o más importante.
- Son las macromoléculas más abundantes de las células vivas.
- Gran variedad y diversidad de funciones: enzimas, hormonas, anticuerpos, antibióticos, venenos, proteínas de la leche, etc.
- Papel central: son los productos finales más importantes de las rutas de información genética.
- Todas las proteínas están construidas por medio de enlaces covalentes a partir de 20 aminoácidos (20n).
- Proporcionan estructura, catalizan reacciones celulares y llevan a cabo multitud de funciones.
- las Biomoléculas más importantes para el desarrollo del organismo son las nitrogenadas:
  - Unidades básicas de las proteínas (aminoácidos).
  - Ácidos nucleicos (bases nitrogenadas).
  - Otras Biomoléculas de interés (porfirinas y aminas biogénicas).
- las diferencias entre péptidos y proteínas son ambiguas:
  - Longitud: péptido es aquel con < 30–50 aminoácidos. Si son mayores serían proteínas.
  - Existencia biológica: si la proteína es sintetizada en el laboratorio y no existe en algún organismo vivo se denomina péptido.

## **CLASIFICACIÓN**

- De acuerdo a la composición.
- Simples: formadas sólo por aminoácidos.
- Conjugadas: contienen además otro componente de distinta naturaleza química.
- Glicoproteínas: Ig, mucinas, proteoglicanos.
- Lipoproteínas: LDL (mala), HDL (buena).
- Nucleoproteínas: virus, cromosomas.
- Otras: metaloproteínas (ferritina), hemoproteínas, flavoproteínas.
- De acuerdo con su forma.
- Globulares: forma esférica u ovoide y son solubles.
- Fibrosas o Escleroproteínas: alargadas e insolubles (tejidos estructurales).
- De acuerdo con su solubilidad.
- Albúminas: solubles en agua fría.
- Globulinas: muy poco solubles en agua fría pero si en disolución salinas.
- Glutelinas: origen vegetal.
- Prolaminas: origen vegetal.
- Protaminas: contenidas en flujos seminales, solubles en agua.

- Histonas: presentes en el núcleo de células eucariotas (ADN). Pequeñas, básicas, solubles en agua y ácidos diluidos.
- Escleroproteínas: insolubles y son solubles por métodos de degradación.

## **FUNCIÓN BIOLÓGICA**

Este criterio es el más informativo aunque muy heterogéneo.

- Enzimáticas: muy variadas y especializadas.
- Transportadoras: Hemoglobina y lipoproteínas.
- Nutrientes y de reserva: ovoalbúmina, lactoalbúmina.
- Contráctiles y motiles: actina y miosina.
- Estructurales: colágeno, queratinas.
- Defensa: Inmunoglobulinas y anticuerpos, fibrinógeno y trombina, venenos de serpiente o toxinas bacterianas.
- Reguladoras: hormonas.
- Factores tróficos: para el desarrollo embrionario.
- Receptoras: proteínas de membrana a las que se unen las hormonas.
- Cromosómicas: Histonas.
- Toxinas: microorganismos, insectos o reptiles.

## **ESTRUCTURA DE LOS AMINOÁCIDOS**

COOH

%

H<sub>2</sub>N %C %H

%

R (cadena lateral)

### **ESTRUCTURA GENERAL DE LOS AMINOÁCIDOS PRESENTES EN LAS PROTEÍNAS.**

Los aminoácidos son moléculas orgánicas que como indica su nombre contienen un grupo amino (NH<sub>2</sub>) y otro ácido, carboxilo (COOH) unidos al mismo átomo de carbono (carbono α).

La presencia de 2 grupos (ácido y básico) les confiere 2 características importantes para su función:

- Sustancias anfóteras: se pueden comportar como ácidos o bases.
- Pueden reaccionar entre ellos para dar lugar a polímeros de cualquier longitud al existir siempre un grupo reactivo libre.

Fotocopia de la clasificación de los aminoácidos. Pág. 49.

## **AMINOÁCIDOS PROTEICOS MINORITARIOS**

- METILACIONES (metilhistidina).
- ACETILACIONES (acetil-lisina).
- HIDROXILACIONES (hidroxiprolina).
- FOSFORILACIONES.

- CARBOXILACIONES.
- DIMERIZACIONES.
- CICLACIONES.
- HIPERMODIFICACIONES (H. tiroideas).

### **AMINOÁCIDOS NO PROTEICOS**

- – AMINOÁCIDOS (los más abundantes): homoserina, mocisteína (! infarto), ornitina, citrulina (estas dos últimas ciclo urea).
- – AMINOÁCIDOS: –alanina que forma parte de una vitamina, ácido pantoténico.
- – AMINOÁCIDOS: ácido –aminobutírico (GABA) que actúa como neurotransmisor inhibitorio a nivel del sistema nervioso.

### **PROPIEDADES DE LOS AMINOÁCIDOS**

- ESTEROISOMERÍA. Debido a la forma tetraédrica de los C, va a dar lugar a e compuestos: levógiro grupo amino izq., destrogiro, a la derecha
- COMPORTAMIENTO ANFÓTERO Ó ÁCIDO–BASE (ZWITTERIÓN).
- ABSORCIÓN LUZ ULTRAVIOLETA (fenilalanina, tirosina y triptófano).
- REACCIONES DE IDENTIFICACIÓN (ninhidrina, fluorescamina, ftalaldehído).

### **TÉCNICAS PARA SEPARAR PROTEÍNAS**

- CROMATOGRAFÍA.
- Filtración en gel.
- Cromatografía de intercambio iónico.
- Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), más importante.
- Cromatografía hidrófoba.
- Cromatografía de afinidad.
- ELECTROFORESIS (Proteinograma).
- Disociante en geles de archilamida y/o agarosa.
- Isoelectroenfoque.
- ULTRACENTRIFUGACIÓN.
- ANTICUERPOS O INMUNOGLOBULINAS.

### **DERIVADOS DE LOS AMINOÁCIDOS** (interesante)

- – CETOÁCIDOS: cuando un aminoácido pierde el grupo amino (no son compuestos nitrogenados): –cetoglutarato, piruvato, oxalacetato.
- AMINAS BIÓGENAS: cuando un aminoácido pierde el grupo carboxilo: histamina y catecolaminas.
- POLIAMINAS: la descarboxilación de los aminoácidos ornitina y lisina da lugar a las diaminas putrescina y cadaverina. La putrescina es precursora de espermidina y espermita. Estos compuestos son importantes en la proliferación celular al interactuar con ácidos nucleicos y regular los procesos de transcripción y traducción.

### **PORFIRINAS**

- Forman parte de vitaminas y coenzimas.
- el anillo porfirínico esta formado por 4 anillos pentagonales nitrogenados, llamados pirrólicos unidos por puentes metilideno (CH–) en las posiciones 2 y 5 para formar una estructura cíclica.
- las porfirinas suelen unir un ión metálico en su interior.

En el reino vegetal: la clorofila. En el reino animal: hemoglobina (Fe, esencial para el transporte y utilización de O<sub>2</sub>) cuya degradación produce bilirrubina y los citocromos van a contener grupos porfirínicos.

## **TEMA 5**

Estructura primaria de las proteínas: enlace peptídico.

Estructura secundaria de las proteínas: hélice y conformación .

Estudio particular del colágeno.

## **ESTRUCTURAS DE LAS PROTEÍNAS**

- Las proteínas son macromoléculas y su estructura es muy compleja.
- Un ser humano produce entre 50.000 y 100.000 proteínas diferentes.
- Existen > 1.400 enfermedades genéticas humanas con la producción de proteínas defectuosas.
- Cada proteína tiene una estructura espacial tridimensional única que se denomina estructura nativa que es fundamental para su función química o estructural específica.

En resumen:

- La estructura tridimensional de una proteína viene determinada por la secuencia de aminoácidos.
- La función de una proteína depende de su estructura tridimensional.
- La estructura tridimensional de una proteína es única o casi única.
- Las fuerzas más importantes que estabilizan la estructura tridimensional específica de una proteína son interacciones no covalentes.

Fotocopia Pág. 59.

Existen 4 niveles en orden creciente de complejidad:

- Estructura primaria: secuencia de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos (covalentes) y la localización de los puentes disulfuro.
- Estructura secundaria: disposiciones regulares y repetitivas en el espacio de residuos adyacentes en una cadena polipeptídica. Las más importantes son la hélice y la conformación .
- Estructura terciaria: descripción de las relaciones espaciales entre todos los aminoácidos de un polipéptido (estructura tridimensional completa).
- Estructura cuaternaria: relación espacial de los polipéptidos o subunidades en la proteína global (Ej.: hemoglobina).

## **ENLACE PEPTÍDICO**

- Es el enlace covalente más importante que une aminoácidos en los péptidos y proteínas.
- Es un enlace de los de mayor relevancia desde el punto de vista biológico junto al enlace fosfodiéster.
- Es un enlace amida formado por la condensación entre el grupo – carboxilo de un aminoácido con el grupo – amino de otro, liberando una molécula de agua.
- Se originan dipéptidos, tripéptidos, oligopéptidos, polipéptidos y proteínas.

Características importantes del enlace peptídico:

- Enlace resistente a la hidrólisis (estable).
- Estructura tridimensional.
- Puede hidrolizarse hirviéndolo con agua fuerte, base y enzimas denominadas proteasas.

### **ESTRUCTURA PRIMARIA DE LAS PROTEÍNAS**

- Hace referencia al orden de los aminoácidos (secuencia de aminoácidos) y a la localización de los puentes disulfuro que definen la proteína.
- Aquí están las claves que determina el resto de la estructura proteica.
- Las cadenas laterales de los aminoácidos están unidas a los carbonos alfa y son ramificaciones de la cadena principal. El esqueleto de la cadena es común a todas las proteínas y lo específico es el orden en el que se encuentran las ramificaciones.
- La estructura 1ª puede determinarse por varias técnicas como la de Edman o del isotiocianato.
- La conformación nativa de una proteína está estabilizada por interacciones débiles de tal forma que la proteína es más estable cuanto mayor nº de interacciones débiles.

Fotocopia Pág. 62

### **ESTRUCTURA SECUNDARIA DE LAS PROTEÍNAS**

- Define las disposiciones regulares y con elementos de simetría que pueden encontrarse, al menos en parte de las cadenas polipeptídicas (relación espacial entre aminoácidos adyacentes).
- Debido a las restricciones de planaridad del enlace peptídico, la cadena puede adoptar 2 conformaciones estables:
- Disposición espacial en zig-zag donde los únicos parámetros que cambian son los ángulos de giro entre planos de enlaces peptídicos consecutivos.
- Las cadenas polipeptídicas se sitúan extendidas, conservando su disposición zig-zag bien en sentido paralelo o antiparalelo.

Fotocopia Pág. 63.

### **ESTRUCTURA –HÉLICE**

- La cadena polipeptídica se enrolla sobre si misma (rosca sacacorchos).
- La rotación es a derechas y las cadenas laterales de los L-aminoácidos se disponen hacia el exterior dando lugar a una estructura estable.
- Cada aminoácido esta girado 100° respecto al anterior por lo que los átomos de H y O del enlace peptídico se encuentra a lados distintos del plano y pueden formar puentes de hidrógeno los cuales son la principal fuerza de estabilización de esta estructura helicoidal.

Fotocopia Pág. 64

–queratinas, cabello, piel, epitelios y uñas.

Proteínas globulares.

### **CONFORMACIÓN –PLEGADA**

- Las cadenas se sitúan extendidas, conservando su disposición zig-zag bien en sentido paralelo o en antiparalelo (extremos amino y carboxilo contrapuestos).
- La disposición antiparalela es más compacta y frecuente.
- Las interacción por puente de hidrógeno son intercatenarios a diferencia de la estructura en –hélice que

son intracatenarios.

Fotocopia Pág. 65

–queratinas, Seda, escamas, garras y picos de aves.

## **CONSIDERACIONES**

Al considerar la estructura secundaria resulta útil clasificar las proteínas en 2 grupos principales:

- Proteínas fibrosas: sus largas cadenas polipeptídicas se ordenan formando largos filamentos u hojas (Ej.: colágeno y  $\alpha$ -queratinas).

Función estructural: protección, soporte y forma a la anatomía y fisiología de vertebrados.

- Proteínas globulares: cuyas cadenas polipeptídicas se pliegan en forma esférica o globular.

La mayor parte de enzimas y hormonas peptídicas son globulares.

## **ESTRUCTURA DEL COLÁGENO**

- Es la proteína fibrosa más importante por ser la más abundante del cuerpo humano (> 30%).
- Base del tejido conjuntivo (tendones, piel) y el constituyente principal de la matriz de los tejidos calcificados (hueso, dentina, esmalte).
- Su estructura primaria es única, levogira y formada en un 33% por aminoácidos glicina y un 20% prolina e hidroxiprolina.
- Las cadenas se agrupan en trímeros (triple hélice del colágeno) denominado tropocolágeno.
- Tiene poco valor alimenticio.
- Es estable pero no inerte (Ej.: piel).
- Es insoluble en agua. En función del número de enlaces será más o menos duro el colágeno.
- Enf: osteogénesis imperfecta y enf de Ehlers–Danlos.

## **TEMA 6**

Estructura terciaria de las proteínas. Desnaturalización.

Estructura cuaternaria de las proteínas. Estudio particular de la hemoglobina.

## **ESTRUCTURA TERCIARIA DE LAS PROTEÍNAS**

- Es la conformación tridimensional de la cadena polipeptídica entera. Define el conjunto de todas las interacciones covalentes o de otro tipo (puentes de hidrógeno, hidrófobas, de Van der Waals, iónicas) que gobiernan el plegamiento de la cadena en el espacio.
- Engloba todas las estructuras secundarias que pueden coexistir en diferentes partes de la proteína.
- La estructura terciaria define siempre toda la cadena, cada una de estas zonas individualmente se denomina dominio y corresponde a un nivel de organización intermedio entre la estructura secundaria y terciaria.
- En las proteínas fibrosas al tener las cadenas la misma orientación y estructura secundaria, la estructura terciaria coincide con la secundaria.

Fotocopia Pág. 69.

## **ESTRUCTURA CUATERNARIA DE LAS PROTEÍNAS**



- Define las interacciones que pueden existir entre varias cadenas polipeptídicas para formar una proteína (relaciones espaciales entre múltiples cadenas polipeptídicas que se encuentran fuertemente asociadas (ej: hemoglobina).
- Las proteínas que sólo tienen una cadena polipeptídica son monómeros y no tienen estructura cuaternaria. En otros casos las proteínas se denominan multímeros y según el número de subunidades: dímeros, trímeros, tetrameros, etc.
- Es frecuente que la estructura cuaternaria de las proteínas oligoméricas no sea única y existan 2 o más estados distintos que afectan a la actividad biológica de la proteína como la hemoglobina o enzimas alostéricas: tenso y relajado.

Fotocopia Pág. 70

## **PROPIEDADES DE LAS PROTEÍNAS EN DISOLUCIÓN**

La mayoría de las proteínas son globulares y se encuentran disueltas.

- Naturaleza poliiónica. Las proteínas presentan un punto isoelectrico (pI) que se define como el pH en el que su carga neta es nula y esto es esencial para que la proteína cumpla su función biológica. El pI está comprendido entre 6 y 8 salvo la pepsina (pI de 1.5) o las Histonas (pI > 8). Debido al carácter poliiónico, la solubilidad de las proteínas va a depender del pH y del contenido salino del medio.
- Naturaleza macromolecular. Las proteínas forman disoluciones coloidales y por tanto no son dializables.

## **DESNATURALIZACIÓN DE LAS PROTEÍNAS**

Desnaturalización es el proceso por el cual una proteína cambia su estructura nativa (estructura tridimensional) y por tanto su actividad biológica.

La desnaturalización más severa no afecta nunca a la estructura primaria, ya que si ello ocurre al proceso se le denomina DEGRADACIÓN o DIGESTIÓN.

La desnaturalización es generalmente un proceso irreversible.

## **RECAMBIO DE LAS PROTEÍNAS**

Las proteínas están siendo continuamente destruidas y resintetizadas = recambio.

Los índices de recambio se expresan en términos de tiempo requerido para que cambie la mitad del material.

Semivida del hepatocito (días), músculo (180 días), colágeno del tej. Conjuntivo (1000 días), proteínas del plasma (10 días), hematíes (120 días).

Cambios del nitrógeno y de las proteínas séricos son rápidos e indicadores útiles de procesos patológicos.

Pruebas que miden las proteínas del suero: Proteinograma (albúmina y globulinas), urea, creatinina y ácido úrico.

## **ESTUDIO DE LA HEMOGLOBINA**

- Es una proteína que pertenece al grupo de las hemoproteínas y está constituida por un grupo prostético (hemo) y otro proteico (globina).
- Supone el 33% del peso celular de la sangre.

Hematocrito es un indicador de la cantidad de hemoglobina circulante y su valor es del 35–45%.

- El grupo hemo está constituido por un anillo tetrapirrónico con un átomo de Fe en el centro y gracias a él se produce la unión con el oxígeno.
- Tipos de hemoglobina:
- Hemoglobina A1: .
- Hemoglobina A2: .
- Hemoglobina F: .
- Derivados de la HbA: HbA1c.
- Cadenas = 141 a.a; Cadenas , y = 146 a.a.

### **COOPERATIVIDAD O ALOSTERISMO**

- La hemoglobina es una proteína alostérica ya que cada molécula puede unir 4 moléculas de oxígeno.
- La unión de la 1ª molécula de oxígeno facilita la unión de la 2ª y las siguientes a las misma molécula de hemoglobina (cooperatividad).
- La hemoglobina con el oxígeno ligado se le denomina OXIHEMOGLOBINA.
- La unión con el oxígeno es reversible y depende de la concentración o presión parcial de oxígeno existente en el entorno de la molécula de hemoglobina.
- La liberación del oxígeno también presenta el fenómeno de cooperatividad.

Fotocopia Pág. 76

- La curva de disociación o saturación de la Hb adopta una forma sigmoidal que refleja el fenómeno de cooperatividad (la mioglobina no tiene fenómeno de cooperatividad aunque el O<sub>2</sub> se une más fácilmente a la mioglobina).
- La unión y liberación cooperativas del O<sub>2</sub> hacen de la Hb que sea el mejor transportador de O<sub>2</sub>.
- La razón del fenómeno de cooperatividad radica en la interacción entre los monómeros de la molécula (interacción hemo–hemo) de tal forma que la entrada de una molécula de O<sub>2</sub> conlleva un cambio de conformación de la cadena polipeptídica.

DESOXIHEMOGLOBINA: estructura cuaternaria forma T o tensa (tejidos periféricos).

OXIHEMOGLOBINA: estructura cuaternaria forma R o relajada (pulmones).

### **FACTORES QUE AFECTAN A LA LIBERACIÓN DE OXÍGENO**

- Presencia del metabolito 2,3–bifosfoglicerato (BPG): este metabolito se sintetiza en una vía derivada de la glucólisis. Disminuye la afinidad de la Hb por el O<sub>2</sub> [ej: enfermedades pulmonares (asma, enfisema) y la adaptación a la altura]. El BPG es el responsable de la menor afinidad por el O<sub>2</sub> de la HbA1 con respecto a la HbF.
- Efecto Bohr: el aumento de la acidez y de CO<sub>2</sub> produce un incremento de la liberación de O<sub>2</sub> ya que disminuye la afinidad de la Hb por el O<sub>2</sub>.
- Temperatura: el aumento de temperatura (fiebre) implica un aumento de la liberación de O<sub>2</sub> (requerimiento de O<sub>2</sub> es mayor).
- Monóxido de carbono (CO): este gas tóxico se une al átomo de O<sub>2</sub> de la Hb con una afinidad 210 veces superior a la de O<sub>2</sub>. Se produce la muerte al impedir la liberación de O<sub>2</sub> a los tejidos.

### **DIFERENCIAS ENTRE HEMOGLOBINA Y MIOGLOBINA**

| MIOGLOBINA | HEMOGLOBINA |
|------------|-------------|
|            |             |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Se localiza en el músculo.</li> <li>• Es 4 veces más pequeña que la hemoglobina.</li> <li>• Actúa como reserva suplementaria de oxígeno.</li> <li>• Facilita el movimiento de oxígeno dentro del músculo.</li> <li>• Es un monómero.</li> <li>• No presenta fenómeno de cooperatividad.</li> <li>• Curva de disociación-saturación: hiperbólica.</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Se localiza en los hematíes.</li> <li>• Es 4 veces más grande que la mioglobina.</li> <li>• Actúa como transportador y liberador de oxígeno.</li> <li>• El oxígeno va desde los alveolos pulmonares a los tejidos.</li> <li>• Es un tetrámero.</li> <li>• Presenta el fenómeno de cooperatividad o alosterismo.</li> <li>• Curva de disociación-saturación: sigmoidal.</li> </ul> |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

## **ALTERACIONES PATOLÓGICAS DE LA HEMOGLOBINA**

- HEMOGLOBINOPATÍAS.
- Hemoglobina S (drepanocítica).
- Hemoglobina M o metahemoglobina (Boston, Saskatoon, Iwate, Hyde-Park, Milwaukee).
- Hemoglobinas Hammersmith o Riverdale-Bronx (alteración de la estructura terciaria).
- Hemoglobinas Kempsey y Kansas (alteración de la estructura cuaternaria).
- TALASEMIAS.
- -talasemia: déficit de cadenas .
- -talasemia: déficit de cadenas . Más frecuentes en la región Mediterránea.

## **TEMA 7**

Proteínas plasmáticas. Separación de las proteínas plasmáticas: electroforesis.

Características de las principales proteínas plasmáticas. Inmunoglobulinas.

Bioquímica de la coagulación.

## **PROTEÍNAS PLASMÁTICAS**

- Diferencias entre suero y plasma:
- El plasma está constituido por la sangre exenta de elementos formes o células.
- El suero está formado por la sangre exenta de células, elementos formes y las proteínas de la coagulación.

2. Requisitos de las proteínas plasmáticas ( 50).

2.1. Ser secretadas activamente a la sangre.

2.2. No derivar de lesiones ni alteraciones de tejidos o células.

2.3. Ejercer su función fundamental en el sistema vascular.

2.4. Presentar mayor concentración en el plasma que en cualquier otro tejido.

2. La síntesis de proteínas plasmáticas ocurre en el retículo endoplásmico de los hepatocitos a excepción de las inmunoglobulinas que son sintetizadas por los linfocitos B.

3. La concentración de proteínas en plasma es de 6-8 g/100 mL de los cuales 3-5 g son albúmina y de 1.5-3 g es una mezcla de globulinas.

## **FUNCIONES GENERALES**

Las funciones inespecíficas o generales de las proteínas son:

- Mantenimiento de la presión oncótica de la sangre. Presión osmótico-coloidal o coloidosmótica es la presión osmótica (mecánica o hidrostática) ejercida por una disolución coloidal para mantener una disolución en equilibrio con su disolvente puro y evitar que éste atraviese una barrera semiimpermeable.
- Participación en el equilibrio hidroelectrolítico.
- Intervención en el proceso nutritivo.
- Transporte de ligandos: fármacos, hormonas, ácidos grasos, etc.

## **ELECTROFORESIS**

Las proteínas plasmáticas se clasifican en función de la solubilidad y la separación electroforética en 6 categorías:

1. Albúmina (55%): 3–5 g/100 mL. Transporte de aniones orgánicos y presión osmótica.
2. –globulinas (5%): 0.3–0.6 g/100 mL. Glucoproteínas y HDL.
3. –globulinas (9%): 0.4–0.9 g/100 mL. Haptoglobina (Hb), ceruloplasmina (Cu), VLDL.
4. –globulinas (13%): 0.6–1 g/100 mL. Transferrina (Fe), LDL.
5. –globulinas (11%): 0.7–1.5 g/100 mL. Inmunoglobulinas.
6. Fibrinógeno (7%): 0.2–0.4 g/100 mL. Coagulación sanguínea.

Las –globulinas son sintetizadas por los linfocitos B mientras que el resto de proteínas en el hígado. En las enf. Hepáticas existe un defecto importante de estas proteínas.

## **CARACTERÍSTICAS DE ALGUNAS PROTEÍNAS PLASMÁTICAS**

- Albúmina: es la más abundante, sintetizándose en el retículo endoplasmático del hígado. Actúa como transportador de sustancias y mantiene el volumen vascular (carácter coloidal) ya que el 80% de la presión osmótica del plasma se debe a ella.
- –antitripsina: inhibidor natural de la tripsina. Actúa como regulador de los procesos proteolíticos. No sólo actúa sobre la tripsina sino que también sobre la quimiotripsina o elastasa (proteasas).
- Otras –globulinas: trascortina (transporta corticoides), –antiquimiotripsina (antiproteasa), proteína transportadora de retinol (vitamina A), –lipoproteínas (HDL), etc.
- –fetoglobulina: se encuentra en el feto y desaparece tras el nacimiento. Se eleva en algunos tumores (ej: hepatocarcinoma).
- Haptoglobina: se une de forma irreversible a la Hb formando complejos que no pueden ser eliminados. 25% del total de globulinas.
- Ceruloplasmina: transportadora de cobre.
- Fracción : protrombina y plasminógeno involucrados en la coagulación sanguínea y colinesterasa sérica.
- Transferrina: proteína fijadora de hierro.
- –2 microglobulina: forma parte de las membranas de los linfocitos, plaquetas y otras células plasmáticas.
- Proteínas pertenecientes a la fracción : fibrinógeno (implicada en la coagulación), proteína C

reactiva (activa el sistema del complemento y promueve la fagocitosis leucocitaria y  $\gamma$ -lipoproteínas (LDL).

- Fracción  $\gamma$ -globulínica: constituida por las diferentes inmunoglobulinas como son IgG, IgA, IgM, IgD e IgE con función inmunológica.

Fotocopia pág. 86

1. La síntesis de una Ig específica se ve estimulada por un antígeno (Ag), una proteína o un carbohidrato complejo ajeno al propio individuo.
2. Inmunoquímica: estudia la química de Ag y anticuerpos (Ac) y los mecanismos de interacción.
3. Determinantes antigénicos o epítopos son los segmentos estructurales de un Ag que pueden desencadenar la producción de Ac específicos.
4. La reacción del Ac contra el Ag determina una serie de complejos mecanismos inmunológicos, celulares y humorales denominado respuesta inmunitaria.
5. Hapteno: molécula pequeña que no tiene capacidad de ser Ag pero que si se une a una molécula más grande puede convertirse en antigénica (ej: penicilina).

Fotocopia Pág. 87

1. La fracción  $\gamma$ -globulínica está integrada por Igs o Ac.
2. Existen 1.5–3 g/100 mL de  $\gamma$ -globulinas. Las principales son 5. IgG (80% de las Igs totales), IgA (13%), IgM (6%), IgD (1%) e IgE (0.002%).
3. Estructura: poseen todas muchas similitudes estructurales. Todos los tipos tienen 2 cadenas polipeptídicas pequeñas (ligeras) y dos grandes (pesadas) quedando unidas de forma covalente por enlaces disulfuro.
4. Las cadenas ligeras son comunes a todos los Ac. Hay 2 formas antigénicamente diferentes: Kappa y lambda que pueden estar presentes en cualquiera de los tipos, mientras que las pesadas son antigénica, inmunológica y químicamente específica para cada tipo de Ig. Las cadenas Kappa y lambda se diferencian en la secuencia de aminoácidos en la posición 191.

### **FUNCIONES DE LAS Igs**

La IgM se produce durante la respuesta inicial contra un microorganismo invasor. Es la inmunoglobulina más grande y contiene cinco unidades en forma de Y con dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas cada una. Las unidades se mantienen juntas mediante un componente denominado cadena J. El tamaño relativamente grande de la IgM limita su presencia al torrente circulatorio.

Respuesta inmunitaria primaria o inicial.

Las moléculas de IgG, también denominadas  $\gamma$ -globulinas, son los anticuerpos circulantes más abundantes. Una variante de ellas se fija a las superficies de las células. Las moléculas de IgG están formadas por una sola unidad en forma de Y y pueden atravesar con bastante facilidad las paredes de los vasos sanguíneos, también atraviesan la placenta y llevan parte de la protección inmunitaria materna al feto en desarrollo. La IgG desencadena además un mecanismo importante para la destrucción de las células extrañas que se denomina sistema del complemento.

Respuesta inmunitaria secundaria.

La IgA se encuentra en las secreciones corporales, como la saliva, el sudor y las lágrimas, y a lo largo de las paredes del intestino. Es el principal anticuerpo del calostro, la secreción inicial mamaria de la madre tras el parto, y de la leche. La IgA se encuentra en forma de monómero o de agregados de dos unidades de la molécula proteica en forma de Y. Las moléculas de IgA tienden a disponerse a lo largo de la superficie de las células corporales y a combinarse allí con los antígenos, como los situados en la superficie de una bacteria, con lo que impiden que la sustancia extraña se fije directamente a la célula corporal. La sustancia invasora puede eliminarse entonces del organismo junto con la molécula de IgA.

Secreciones.

Se sabe menos sobre las inmunoglobulinas IgD e IgE. Las moléculas de IgD se encuentran en la superficie de las células B., pero no se sabe mucho sobre su función. La IgE se asocia con algunas respuestas alérgicas del cuerpo, y sus concentraciones están elevadas en los individuos que sufren alergias. Las regiones constantes de las moléculas de IgE pueden unirse fuertemente a los mastocitos, un tipo de células del tejido conjuntivo que libera histaminas como parte de la respuesta alérgica. Tanto las IgD como las IgE están formadas por unidades sencillas en forma de Y.

Alergias.

Fotocopia Pág. 88.

### **ALTERACIONES PATOLÓGICAS**

- Por medio del Proteinograma conocemos cuales son las proteínas plasmáticas alteradas y por tanto la existencia de un proceso patológico (DISPROTEINEMIAS).
- HIPOALBUMINEMIA: déficit alimentarios, malabsorción de aminoácidos, cirrosis hepática, tumores, síndrome nefrótico, etc. En estos casos al disminuir la presión oncótica se produce EDEMAS.
- El defecto de  $\alpha_1$ -antitripsina puede indicar hepatopatía o enfisema.
- La Haptoglobina aumenta en infecciones, síndrome nefrítico y en procesos neoplásicos. Disminuye en hepatopatías y hemólisis.
- Ante situaciones como lesiones renales (proteinuria), coma y sepsis se produce un descenso global de proteínas.
- En infecciones, alergias, leucemias linfáticas y tumores malignos se produce un incremento de  $\gamma$ -globulinas y en los periodos de curación se produce un aumento de  $\alpha$ -globulinas.

### **BIOQUÍMICA DE LA COAGULACIÓN**

1. Tras una hemorragia se produce la hemostasia por medio de un tapón de fibrina. A este proceso se le denomina COAGULACIÓN SANGUÍNEA y se produce a través de una cascada de activación de proenzimas o zimógenos.

2. El mecanismo en cascada tiene varias ventajas;

- \* Amplificador de señal ya que la concentración de factores es muy pequeña.
- \* La producción de trombo de fibrina se realiza a gran velocidad (evita desangrarse).
- \* Se produce una buena homeostasis o regulación para impedir la producción de una trombosis.

3. Vía intrínseca.
4. Vía extrínseca.
5. Vía común.

### **REGULACIÓN DE LA COAGULACIÓN**

La ANTITROMBINAIII (serpina) inhibe a la trombina, XIIa, XIa, IXa y Xa.

Esta acción inhibitoria es activada por la HEPARINA.

Proteína C TROMBINA, TROMBOMODULINA Proteína C activada.

Proteína S TROMBINA Proteína S activada.

Va y VIIa Proteolisis, Proteína C/Proteína S activada Inactivación de Va y VIIIa.

### **FIBRINOLISIS**

Activador del plasminógeno ----- Activador del plasminógeno (tPA)

FIBRINA ! (unido a la fibrina)

(unido a la fibrina)

Plasminógeno <----- PLASMINA

(urocinasa y estreptocinasa) !

Coágulo de fibrina ----- Fibrina degradada.

El plasma contiene diversos inhibidores del tPA (inhibidor del activador tisular del plasminógeno: PAI-1) y de la plasmina que frenan la disolución del coágulo. El principal inhibidor es la -antiplasmina y su déficit origina hemorragias graves.

### **ALTERACIONES PATOLÓGICAS DE LA COAGULACIÓN**

- Todos los factores de la coagulación sanguínea son sintetizados por el hígado.
- Algunos de ellos sufren modificación mediante carboxilación postraducciona que requieren de la vitamina K presente en hortalizas y verduras.
- La carboxilación permite la fijación eficaz del calcio por parte de dichos factores entre los que se cuentan la protrombina (II), factores VII, IX y X y las proteínas C y S.
- Esta reacción es inhibida por el dicumarol y warfarina (anticoagulantes). Por tanto se puede inhibir a los anticoagulantes administrando dosis altas de vitamina K. El déficit de vitamina K origina hemorragias que pueden ser graves.
- La hemofilia es una enfermedad hereditaria, recesiva, ligada al sexo donde las mujeres son las portadoras asintomáticas. La más conocida es por déficit de factor VIII y cursa con hemorragias graves. Hoy se le puede administrar a los pacientes el factor VIII sintetizado por medio de ADN recombinante.
- Tiempo de protrombina: detecta anomalías de los factores I, II, V, VII, X. el tiempo normal es de 10 a 12 sg y esta prueba es importante para el seguimiento de la terapéutica anticoagulante y detección de

enf. sanguíneas.

- Tiempo de protrombina también en la analítica se denomina tiempo de Quick y/o actividad de protrombina. Luego existe otro tiempo que es el de tromboplastina parcial (TPTA).
- INR (Internacional normalized ratio) =  $(TP \text{ paciente} / TP \text{ normal})^{ISI}$ , corregido con la sensibilidad de la tromboplastina que se ha utilizado en el laboratorio

(ISI = International sensitivity index).

Pacientes con trombosis venosa: INR 2–3.

Pac con fibrilación auricular paroxística o prótesis biológica: INR 1.5–2.

Pacientes con prótesis metálicas: INR 3–4.

| FACTOR      | ENFERMEDAD               | FACTOR     | ENFERMEDAD               |
|-------------|--------------------------|------------|--------------------------|
| Protrombina | Hipoprotrombina. Def v K | Factor IX  | Hemofilia B. Defic vit K |
| Factor V    | Parahemofilia, Def vit K | Factor X   | Déficit vitamina K       |
| Factor VII  | Hemofilia A (enf von W)  | Factor XI  | Hemofilia C              |
| Factor VIII | Hemofilia clásica        | Factor XII | Síndrome de Hageman      |

## **TEMA 8. ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE LOS NUCLEÓTIDOS.**

### **BASES PURÍNICAS Y PIRIMIDÍNICAS.**

### **NUCLEÓSIDOS Y NUCLEÓTIDOS.**

### **INTRODUCCIÓN**

- Las Biomoléculas más importantes para el desarrollo del organismo son nitrogenadas.
- Los nucleótidos son compuestos ricos en energía que dirigen los procesos metabólicos.
- Las bases nitrogenadas dan lugar a los nucleótidos y éstos a las mayores macromoléculas existentes, los ácidos nucleicos.
- Los ácidos nucleicos (ADN y ARN) son los depositarios de la información genética.
- Un segmento de ADN que contiene la información necesaria para la síntesis de una proteína o ARN recibe el nombre de GEN.
- Los nucleótidos están formados por 3 componentes característicos:

1. Base nitrogenada.– Compuesto hetrocíclico.

2. Pentosa.– Compuesto heterocíclico.

3. Fosfato.

### **BASES NITROGENADAS**

1. Las bases nitrogenadas con propiedades básicas se dividen en 2 grupos:

a. PIRIMIDINAS.– Porque derivan de la pirimidina (un ciclo hexagonal con 2 átomos de nitrógeno).



b. PURINAS.– Porque deriva de la purina (2 ciclos condensados, uno hexagonal y otro pentagonal con 4 átomos de nitrógeno).

2. Las bases nitrogenadas de importancia fisiológica presentan grupos, amino o ceto o ambos, en diferentes posiciones de los ciclos purínico y pirimidínico.

3. Las 5 bases principales son:

PURINAS:

ADENINA (A)

GUANINA (G)

PIRIMIDINAS:

CITOSINA (C)

URACILO (U)

TIMINA (T)

- Tanto ADN como ARN contienen 2 bases purínicas principales (adenina y guanina) y 2 bases pirimidínicas principales (citosina que está presente en ADN y ARN; timina presente sólo en ADN; y uracilo presente sólo en ARN).
- La unión de la base con el azúcar (NUCLEÓSIDO) es por medio de un enlace –N–glucosídico con participación del N1 (pirimidina) o del N9 (purina) y el carbono 1' de la pentosa.
- Si al nucleósido se le añade 1 o más grupos fosfatos se forma el NUCLEÓTIDO estando el fosfato esterificado con el carbono 5'.
- En los ácidos nucleicos existen 2 tipos de pentosas: D–ribosa para el ARN y 2'–desoxi–D–ribosa para el ADN. Ambos tipos de pentosa se encuentran en forma furanosa (anillo cerrado de 5 miembros).

### **ENLACE FOSFODIÉSTER**

- Los nucleótidos o sus análogos desoxi se unen entre sí por enlaces fosfodiéster (EF) para formar una cadena polinucleótida (ácidos nucleicos).
- Los nucleótidos sucesivos del ADN y ARN están unidos covalentemente mediante puentes de grupos fosfatos. El grupo hidroxilo en 5' de un nucleótido está unido al grupo hidroxilo en 3' del siguiente nucleótido por un EF,
- Los esqueletos covalentes de los ácidos nucleicos consisten en unidades alternas de grupos fosfato y residuos de pentosa, mientras que las bases son grupos laterales unidos al esqueleto a intervalos regulares.
- Los esqueletos covalentes del ADN y ARN son hidrofílicos. La representación habitual del nucleótido es pACGTA.
- Ácido nucleico de cadena corta (< 50 nucleótidos) se denomina oligonucleótido y si es mayor polinucleótido.

### **PROPIEDADES DE LAS BASES DE LOS NUCLEÓTIDOS**

a) Las pirimidinas y purinas libres son compuestos débilmente básicos y altamente conjugadas.

b) Todas las bases absorben la luz ultravioleta.

c) Las purinas y pirimidinas son hidrófobas.

d) las interacciones entre bases son:

\* Hidrofóbica de apilamiento (estabilización de la estructura tridimensional de ac. Nucleicos).

\* Enlaces de hidrógeno (los patrones son A-T (U) y C-G: el apareamiento específico de 2 bases complementarias permite la duplicación de la información genética por la síntesis de cadenas de ácidos nucleicos complementarias a las ya existentes).

\* Van der Waals.

\* Dipolo-dipolo.

### **FUNCIONES DE LOS NUCLEÓTIDOS**

a. Actuar como subunidades de los ácidos nucleicos. Portadores de la información genética.

b. Portadores de energía química para impulsar una amplia variedad de reacciones bioquímicas. ATP es el portador central de energía química de la célula.

c. Componente de cofactores y coenzimas (ejemplos: CoA, NAD, FAD).

d. Mensajeros químicos. El AMPc que se forma a partir del ATP es el 2º mensajero.

### **TEMA 9. ENZIMAS: CONCEPTO Y CARACTERÍSTICAS GENERALES.**

#### **NOMENCLATURA Y CLASIFICACIÓN.**

#### **CENTRO ACTIVO. CATÁLISIS ENZIMÁTICA.**

#### **ISOENZIMAS Y ZIMÓGENOS.**

#### **CONCEPTO DE ENZIMA. NATURALEZA E IMPORTANCIA COMO CATALIZADOR.**

- Las reacciones químicas proporcionan energía y los componentes necesarios a la célula. Estas reacciones ocurren a una velocidad y circunstancias compatibles con la vida.
- La Enzimología, parte importante de la Bioquímica estudia a las ENZIMAS como proteínas catalizadoras, potentes y específicos, de las reacciones químicas de sistemas biológicos.
- La medición de la actividad enzimática en el plasma o tejidos es importante para el diagnóstico de enfermedades.
- En 1926, Sumner purificó y cristalizó por 1º vez una enzima, la ureasa. Actualmente se conocen más de 2000 enzimas.
- La actividad catalítica depende de la integridad de su conformación proteica nativa.
- HOLOENZIMA = COENZIMA O COFACTOR + APOENZIMA

#### **PRINCIPALES ENZIMAS IMPLICADAS EN PROCESOS PATOLÓGICOS.**

#### **FOTOCOPIA**

## **IMPORTANCIA DE LAS ENZIMAS**

- Elevada eficacia catalítica (aumentan millones de veces la velocidad de las reacciones químicas).
- Las enzimas se recuperan en su estado inicial tras cada ciclo catalítico (degradador).
- Son catalizadores específicos (tipo de reacción que catalizan y compuestos sobre los que pueden actuar).
- La célula posee mecanismos para regular la actividad catalítica de muchas enzimas clave del metabolismo.

En definitiva las enzimas son componentes esenciales para la célula ya que permiten que tenga lugar las reacciones esenciales para su desarrollo y que dichas reacciones se llevan a cabo de forma ordenada, regulada y adaptada a las necesidades metabólicas del organismo.

## **CATÁLISIS ENZIMÁTICA**

La velocidad de las reacciones químicas depende de:

1. Factores termodinámicos: para que una transformación química de un compuesto S (sustrato) en un compuesto P (producto) pueda transcurrir espontáneamente es necesario que el cambio en la energía libre de Gibbs del sistema sea negativa (es decir, la energía libre asociada de P debe ser  $<$  que la asociada a S).  $\Delta G < 0$
2. Factores cinéticos: la transformación del sustrato S en producto P se produce a través de un estado de transición en el que se están rompiendo determinados enlaces y formándose otros nuevos. Este estado de transición se encuentra en equilibrio con el sustrato y posee siempre una energía libre superior.  $S \rightleftharpoons S^* \rightarrow P$

Las enzimas aceleran las reacciones químicas al disminuir la energía de activación asociada al estado de transición. Las enzimas no modifican la naturaleza del P final de la reacción.

## **CLASIFICACIÓN Y NOMENCLATURA.**

1. En un principio, las enzimas se identificaban con un nombre trivial acabado con el sufijo -asa (ej: ureasa o ADN polimerazo).
2. Hoy día se utiliza 2 tipos de nomenclatura;

Reacción: glucosa + Oxígeno  $\rightarrow$  gluconato +  $H_2O_2$

- Nomenclatura recomendada (informativa y sencilla): indica sustrato y tipo de reacción (ej: glucosa oxidasa).
  - Nomenclatura sistemática (más específica y rigurosa pero menos cómoda en cuanto su manejo): identifica de forma más completa la reacción catalizada por la enzima (  $\alpha$ -D-glucosa:oxígeno oxidoreductasa).
3. Las enzimas se identifican por un nº de clasificación, fijado por la Comisión de enzimas de la IUPAC (Unión Internacional de química pura y aplicada). El nº de clasificación tiene 4 dígitos que designan la clase, subclase, nº de orden de la enzima dentro de la clasificación internacional, etc precedidos por las siglas EC.

## **CLASIFICACIÓN DE LAS ENZIMAS**

EC 1.1.3.4 : glucosa oxidasa

| CLASIFICACIÓN | REACCIONES |
|---------------|------------|
|---------------|------------|

|                      |                                                                 |
|----------------------|-----------------------------------------------------------------|
| OXIDORREDUCTASAS     | Reacciones de oxidación–reducción (transferencia de electrones) |
| TRANSFERASAS         | Transferencia de un grupo químico de un donador a un aceptor    |
| HIDROLASAS           | Ruptura hidrolítica de algún enlace del sustrato                |
| LIASAS               | Ruptura no hidrolítica de enlaces del sustrato                  |
| ISOMERASAS           | Reacciones de isomerización                                     |
| LIGASAS (SINTETASAS) | Formación de enlaces covalentes entre dos sustratos             |

### **CENTRO ACTIVO**

Centro activo: zona bien delimitada de la enzima con capacidad de unirse al sustrato formando un complejo enzima–sustrato y de catalizar su transformación. El centro activo es el responsable de la especificidad y de la capacidad catalítica de la enzima.

Isoenzimas son 2 proteínas distintas que catalizan la misma reacción.

La especificidad de las enzimas se explicó en un principio mediante el modelo de la llave y la cerradura propuesto por Fischer en 1890. Posteriormente en 1968, Koshland y Neet cambian este modelo por el del guante y la mano o teoría del ajuste inducido.

### **PROPIEDADES CENTRO ACTIVO**

1. Las propiedades del centro activo están relacionadas con su forma y en consecuencia con el tipo de cadenas laterales de aminoácidos presentes en el mismo ya que son los puntos de unión capaces de enlazar al sustrato.
2. Los enlaces que se establece en el complejo enzima–sustrato suelen ser de tipo no covalente y por tanto débiles por lo que la unión de la enzima al sustrato es un proceso reversible.
3. Las propiedades catalíticas de una enzima depende de la estructura terciaria de la enzima. Por tanto la desnaturalización de la proteína conlleva la pérdida de la actividad enzimática.
4. Algunas enzimas son proteínas complejas y el grupo prostético de las holoenzimas se denomina coenzima o cofactor y el grupo proteico apoenzima. Normalmente el centro activo de las enzimas se localiza en las coenzimas.

### **FACTORES QUE INTERVIENEN EN LA CATALISIS ENZIMATICA**

- a. Factores de proximidad y orientación: elevada afinidad del centro activo por sustratos.
- b. Fenómenos de superficie.
- c. Factores de distorsión o tensión de enlaces: la unión del sustrato al centro activo de la enzima provoca pequeños ajustes estructurales encaminados a tener una complementariedad más perfecta.
- d. Presencia de grupos catalíticos (grupos reactivos capaces de proporcionar mecanismos de reacción de menor energía de activación):

\* Catálisis general ácido–base.

\* Catálisis covalente.

\* Catálisis por iones metálicos.

## **ISOENZIMAS Y ZIMÓGENOS**

- a. Muchas enzimas se sintetizan en forma de precursores inactivos denominados proenzimas o zimógenos, de masa molecular > a la enzima activa.
- b. La activación proteolítica de zimógenos es un proceso irreversible y un mecanismo común de regulación de muchas enzimas proteolíticas (coagulación, fibrinólisis, digestión proteínas dieta).
- c. Pepsinógeno (zimógeno) es liberado a jugo gástrico se transforma en pepsina activa. La tripsina se sintetiza en páncreas en forma de pre-tripsinógeno que al secretarse al intestino se transformará en tripsinógeno (inactivo) y una nueva rotura proteolítica en la luz intestinal por la entero cinaza lo transforma en tripsina (activo).
- d. Isoenzimas son distintas formas moleculares de ciertas enzimas que tienen diferentes propiedades físico-químicas. Ej: CK (2), FA (2) y LDH (5)

## **TEMA 10. CINÉTICA ENZIMÁTICA.**

### **ECUACIÓN DE MICHAELIS-MENTEN.**

### **CONCEPTO DE $K_m$ Y $V_{max}$ . INHIBICIÓN ENZIMÁTICA.**

### **ENZIMAS ALOSTÉRICOS**

1. Las enzimas son catalizadores biológicos responsables de que las reacciones del metabolismo celular transcurran de forma ordenada y a una velocidad adecuada.
2. La Cinética enzimática estudia la velocidad de los procesos catalizados enzimáticamente, parte esencial de la enzimología.
3. La actividad catalítica de las enzimas es sensible a cualquier modificación de las características físico-químicas del medio, pH, temperatura o fuerza iónica. Además la actividad catalítica puede modularse por variaciones en la concentración de ligandos específicos incrementando (ligandos activadores) o disminuyendo (ligandos inhibidores) la velocidad de reacción.

### **MEDIDAS DE ACTIVIDAD ENZIMÁTICA**

1. Reacción mosustrato en la que una enzima E cataliza la transformación del sustrato S en el producto P.

E

S ----- P

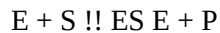
2. La velocidad de reacción se define como la variación en el tiempo de la concentración de S o lo que es lo mismo de P.

$$V = -d[S] / dt = d[P] / dt$$

3. La unidad de actividad enzimática (U) se define como la cantidad de enzima que cataliza la formación de un mol de producto por minuto en condiciones estándares. La concentración de la enzima se puede expresar

en concentración de la enzima se puede expresar en términos de unidades enzimáticas por unidad de volumen (U/mL). Existe una medida que no se utiliza y es el Katal.

## MODELO DE MICHAELIS-MENTEN



$$[E] + [S] + [E]T = [E] + [ES]$$

$$K_M = \frac{[E][S]}{[ES]} \quad [E] = [E]T - [ES]$$

$$[ES]$$

$$([E]T - [ES])[S]$$

$$K_M = \frac{([E]T - [ES])[S]}{[ES]}$$

$$[ES]$$

$$[E]T [S] K_{cat} [E]T [S] V = K_{cat} [ES]$$

$$[ES] = \frac{[E]T [S]}{K_M + [S]} \quad V = \frac{V_{max} [S]}{K_M + [S]}$$

$$K_M + [S] \quad K_M + [S] [ES] = [E]T$$

$$V_{max} = K_{cat} [E]T$$

$$V_{max} [S]$$

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

$$K_M + [S]$$

## CINÉTICA ENZIMÁTICA

La velocidad de una reacción enzimática depende de [E] y [S] por una parte y de la eficacia catalítica de la enzima por otra.

El efecto de la [S] sobre la velocidad de las reacciones enzimáticas, a concentración de enzima constante, varía de forma hiperbólica.

A medida que la [S] crece, la velocidad de reacción aumenta hasta que a concentraciones elevadas, la velocidad de reacción se hace prácticamente constantes (de orden cero) tendiendo asintóticamente a un valor conocido como velocidad máxima ( $V_{max}$ ).

## ECUACIÓN MICHAELIS

1.  $K_M$  se expresa en las mismas unidades de concentración que [S].
2. Cuando la concentración de sustrato es grande, el valor de  $k_M$  se vuelve despreciable frente a [S], por lo que  $V = V_{max}$ .

3. Cuando  $V = V_{\max}/2$ , la ecuación de velocidad en función de la concentración de sustrato se simplifica a  $[S] = K_M$ . Por tanto, la constante de Michaelis coincide con la concentración de sustrato para lo que se alcanza la mitad de la velocidad máxima.

4.  $K_M$  se relaciona con la afinidad de una enzima por un sustrato determinado que es tanto mayor cuanto menor es la constante de Michaelis ( $K_M$  es la constante de disociación del complejo enzima-sustrato).

## INHIBICIÓN ENZIMÁTICA

Aunque pH y temperatura pueden aumentar o disminuir la velocidad de reacciones enzimáticas se reserva el término de activador o inhibidor para moléculas capaces de unirse específicamente a alguna de las especies enzimáticas implicadas en la catálisis.

a. INHIBIDORES REVERSIBLES: se unen a la enzima por enlaces no covalentes y pueden ser desplazados de la misma recuperando su función. Son los más frecuentes.

\* Competitivos: el inhibidor tiene una estructura similar al sustrato y compite con él por la unión con la enzima en el centro activo (ej: metanol y formaldehído). Aumentan la  $K_M$  pero no modifican la  $V_{\max}$ .

\* No competitivos: se unen a sitios de unión específicos en la molécula de enzima distintos del centro activo. Disminuyen la  $V_{\max}$  sin alterar la  $K_M$

\* Acompetitivos: se unen al complejo enzima-sustrato formando un complejo ternario enzima-sustrato-inhibidor careciendo de afinidad por la enzima libre. Disminuyen la  $V_{\max}$  y  $K_M$

b. INHIBIDORES IRREVERSIBLES: se unen a la enzima por enlaces covalentes con lo que ésta queda inhibida permanentemente. Son muy comunes en farmacología (penicilinas y compuestos organofosforados).

## ALOSTERISMO I

Muchas enzimas presentan curvas de saturación sigmoidales en vez de hiperbólicas típicas de la cinética michaelina (enzimas alostéricas).

El incremento en la pendiente de la curva de velocidad indica cooperatividad en la unión del sustrato al centro activo.

Para hablar del grado de saturación de la enzima no se habla de  $K_M$  sino más bien de concentración de sustrato al 50% de saturación.

El modelo concertado propuesto por Monod, Wyman y Changeux postula que en la proteína oligomérica, cada monómero puede existir en 2 estados conformacionales: tenso (T) incapaz de unir al sustrato y relajado (R) con afinidad elevada por éste.

Los 2 estados conformacionales están en equilibrio pero en ausencia de sustrato el equilibrio se encuentra muy desplazado hacia la forma tensa.

Los inhibidores alostéricos desplazan el equilibrio de la enzima hacia la forma T al unirse a ésta exclusivamente. El resultado es una disminución de la afinidad de la enzima por su sustrato que se manifiesta por desplazamiento de la curva hacia la derecha.

Los activadores alostéricos se unen a la forma R, desplazando la curva de saturación en el sentido de una mayor afinidad. Por tanto el  $SO_{0.5}$  disminuye en presencia de los activadores y aumenta en presencia de los

inhibidores.

## REGULACIÓN ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

1. REGULACIÓN POR EFECTOS: la velocidad de una reacción enzimática puede ajustarse a la concentración de sustrato (ej: regulación por retroalimentación o feedback A ---- B ---- C ----- D).

2. MODIFICACIÓN COVALENTE: los efectores del apartado anterior se unen a la enzimas que regulan por enlaces no covalentes. Sin embargo existen reacciones de fosforilación, catalizadas por enzimas específicas denominadas cinasas y fosfatasas, que son las modificaciones covalentes de mayor importancia en la regulación de la actividad enzimática.

3. ACTIVACIÓN DE ZIMÓGENOS: ya comentado.

## ENZIMAS Y BIOQUIMICA ANALÍTICA.

La medida de las enzimas presentes en el suero con valor diagnóstico supone el 5 al 15% del total de los análisis bioquímicos en hospitales.

El método usado es la ESPECTOFOTOMETRÍA: mide la concentración de un sustrato por medio de cambios de absorbancia.

| Algunas enzimas de interés clínico  |                                                                                                                                                                     |
|-------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Enzimas                             | Alteración                                                                                                                                                          |
| –Amilasa                            | Elevada en la pancreatitis aguda, y en la insuficiencia crónica.<br><br>Disminuida en casos de pérdida importante de función pancreática, como la fibrosis quística |
| Creatina quinasa                    | Elevada en el infarto de miocardio (isoenzima MB), y en las afecciones musculares (isoenzima MM)                                                                    |
| Lactato deshidrogenasa (LDH)        | Relativamente inespecífica debido a su obicuidad.<br><br>Elevada en patologías musculares, cardíacas, renales y hepáticas, y en las anemias hemolíticas.            |
| Aminotransferasas (transaminasas)   | Elevadas en enfermedades hepáticas, como la hepatitis o la cirrosis, y en alcoholismo.                                                                              |
| –Glutamiltrotransferasa (–GT)       | Elevada en enfermedades hepatobiliares y en el alcoholismo                                                                                                          |
| Fosfatasa alcalina                  | Elevada en hepatopatías                                                                                                                                             |
| Fosfatasa ácida                     | Elevada su isoenzima prostática en el cáncer de próstata                                                                                                            |
| Enzima convertidora de angiotensina | Elevada en el cáncer de pulmón                                                                                                                                      |
| Acetilcolinesterasa                 | Disminución en hepatopatías y en el infarto de miocardio.<br><br>Disminuida tras la intoxicación por insecticidas organofosforados.                                 |

## USO TERAPÉUTICO DE LAS ENZIMAS

1. VÍA DE ADMINISTRACIÓN: al ser una proteína la única vía de administración es endovenosa (aunque existe alguna que se administra por vía oral). Dentro de la circulación resulta difícil dirigir la enzima hacia el



órgano en el que tiene que actuar a excepción de las patologías vasculares.

2. PREPARACIÓN DE LA ENZIMA: supone la preparación de grandes cantidades de proteína con un grado elevado de purificación (complejo y de alto coste) para extraer las enzimas. Debe recurrirse a fuentes animales con el consiguiente problema de respuesta inmunitaria.

3. DESARROLLO DE UNA RESPUESTA ALÉRGICA EN EL PACIENTE: la inyección de una proteína procedente de una especie animal (antígeno) provoca el desarrollo de anticuerpos (respuesta alérgica al cabo de cierto tiempo de tratamiento). Las enzimas están más indicadas para tratamientos cortos que para tratamientos crónicos.

Algunas de ellas han encontrado utilidad terapéutica: estreptocinasa y urocinasa (disolución de trombos); asparraginasa en el tratamiento de la leucemia linfocítica aguda; tratamiento antiedematoso (enzimas proteolíticas).

## **TEMA 11. COFACTORES ENZIMÁTICOS.**

### **COENZIMAS: CONCEPTO Y CLASIFICACIÓN.**

#### **VITAMINAS HIDROSOLUBLES Y COENZIMAS REALIZACIONADAS.**

#### **VITAMINAS LIPOSOLUBLES: ESTRUCTURA, PROPIEDADES Y FUNCIONES.**

### COENZIMAS Y COFACTORES

1. Muchas enzimas son proteínas conjugadas (contienen en su composición algún componente no proteico, COFACTOR).

2. COFACTOR + APOENZIMA = HOLOENZIMA.

3. La naturaleza química del cofactor es variada:

\* Ión metálico: COFACTOR.

\* Molécula orgánica: COENZIMA. Si la coenzima se encuentra unida fuertemente al apoenzima por medio de un enlace covalente se denomina: GRUPO PROSTÉTICO.

4. La presencia de cofactores en la estructura de las enzimas aumenta el número y variedad de grupos químicos y por tanto su capacidad catalítica.

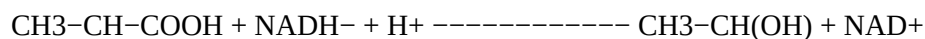
5. El nº de coenzimas es reducido frente al de enzimas que las utilizan ya que una misma coenzima puede ser compartida por varias enzimas diferentes.

6. En la célula existen más de un millar de enzimas diferentes y sólo una docena de coenzimas (ej: NAD actúa como coenzima en aproximadamente un centenar de enzimas).

7. A veces la coenzima se modifica netamente durante el proceso catalítico, por lo que se le suele denominar COSUSTRATO.

8.  $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{OH} + \text{NAD}^+ \text{-----} \text{CH}_3\text{-CHO} + \text{NADH}^- + \text{H}^+$

Etanol Alcohol deshidrogenasa Acetaldehído



Piruvato Lactato deshidrogenasa lactate

Esta dualidad de formas de la coenzimas, aceptoras o dadoras de electrones, átomos o grupos funcionales, no es exclusiva del NAD<sup>+</sup> sino que también del NADP, FAD, Coenzima A y FMN, coenzimas típicas de oxidorreductasas.

| COENZIMA O COFACTOR                                             | ENZIMA                                                                                                                                                                                     |
|-----------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Nicotinamido adenin dinucleótido (NAD)<br>– fosfato (NADP)      | Deshidrogenasas                                                                                                                                                                            |
| Flavin adenin dinucleótido (FAD)<br>Flavin mononucleótido (FMN) | Flavoenzimas                                                                                                                                                                               |
| Pirofosfato de tiamina (TPP)                                    | –cetoácido deshidrogenasa<br>Transcetolasas                                                                                                                                                |
| Fosfato de piridoxal (PAL)                                      | Aminoácido descarboxilasas<br>Transaminasas                                                                                                                                                |
| Tetrahidrofolato (THF)                                          | Timidilato sintetasa                                                                                                                                                                       |
| Coenzima A (CoA)                                                | Complejo ácido graso sintetasa<br>Complejo piruvato deshidrogenasa                                                                                                                         |
| Biocitina                                                       | Piruvato carboxilasas                                                                                                                                                                      |
| Coenzima B12                                                    | Mutasas. MetilmalonilCoA–mutasa                                                                                                                                                            |
| Fe, Cu, Zn, Mn, Mg, Ca, Ni, Mo, K, etc.                         | Metaloenzimas, catalasa, peroxidasa (Fe),<br>citocromooxidasas, tirosinasa, carboxipeptidasa,<br>anhidrasa carbónica (Zn), xantina oxidasa (Mo),<br>ureasa (Ni), ATPasas (Ca, Mg, K), etc. |

- La naturaleza química de las coenzimas es muy variada, aunque algunas de ellas comparte el poseer como parte de su estructura el nucleósido adenosina.
- Las coenzimas se sintetizan a partir de moléculas más sencillas por medio de una serie de reacciones diferentes.
- Para la síntesis de la mayor parte de las coenzimas se necesita de una molécula orgánica que no puede ser sintetizada por el organismo y que se aporta con los alimentos (VITAMINAS hidrosolubles).
- Junto a las coenzimas existen ciertos metabolitos celulares con funciones que se solapan con las de las coenzimas como son los nucleóticos o sus derivados ATP, S–adenosilmetionina, piruvato, aminoácidos aromáticos.
- La existencia de difentes coenzimas actuando de manera coordinada permita llevar a cabo de manera precisa y eficaz una determinada transformación bioquímica como el complejo piruvato deshidrogenasa.

## CLASIFICACIÓN COENZIMAS

1. COENZIMAS OXIDORREDUCTASAS: NAD, NADP, FAD, FMN, transfieren electrones, protones, iones hidruro o átomos de hidrógeno.

2. **PIROFOSFATO DE TIAMINA (TPP)**. Ruptura de enlaces carbono-carbono en  $\alpha$ -cetoácidos o hidroxiacetonas (decarboxilación).
3. **BIOCITINA**: participa en reacciones de carboxilaciones.
4. **TETRAHIDROFOLATO**: reacciones de transferencia de fragmentos de un átomo de carbono.
5. **COENZIMA A**: reacciones de transferencia de grupos acilo.
6. **ÁCIDO LIPOICO**: transferencia de grupos acilo y electrones.
7. **FOSFATO DE PIRIDOXAL**: participa en el metabolismo de aminoácidos, transfiriendo grupos nitrogenados (amino) entre aminoácidos y cetoácidos (transaminasas) o descarboxilando aminoácidos para producir aminas (aminoácido descarboxilasa).
8. **COENZIMA B12**: participa en reacciones relacionadas con el metabolismo de aminoácidos.

## VITAMINAS

1. Compuestos esenciales para la salud del hombre y otros vertebrados que no pueden ser sintetizados por ellos (o son sintetizadas en una proporción inferior a la necesaria para una buena salud) y por tanto deben ser obtenidos de la dieta.
2. Grupo de micronutrientes orgánicos muy variados desde el punto de vista químico, necesarios para la síntesis de la mayor parte de las coenzimas.
3. Aunque no tenga el valor energético propio, son indispensables para el desarrollo y buen funcionamiento del organismo.
4. Los requerimientos son mínimos en comparación con otros nutrientes como son los hidratos de carbono, grasas o proteínas.
5. Se identificaron por primera vez en el primer tercio del siglo XX y fue de importante foco de investigación humana.

## CLASIFICACIÓN DE LAS VITAMINAS

1. **HIDROSOLUBLES**: se disuelven en agua. Destacan las vitaminas B (B1, B2, ETC.) y vitamina C.
  2. **LIPOSOLUBLES**: se disuelven en disolventes orgánicos apolares (grasas). Son las vitaminas A, D, E, K.
- A diferencia de las hidrosolubles, no son utilizadas para la síntesis de coenzimas.

## VITAMINAS LIPOSOLUBLES

1. **VITAMINA A o RETINOL**: pigmento que se incorpora a la proteína opsina para formar rodopsina, que es esencial en el proceso de visión. Otras funciones: estabilidad de membranas, regulación de la expresión génica, diferenciación tisular, desarrollo óseo, crecimiento celular y síntesis de mucopolisacáridos.

Fuente: plantas (en forma de carotenoides, pigmento naranja, que se transforman en retinol) como zanahorias, boniatos, etc. También se encuentra en el hígado.

2. VITAMINA D3 o COLECALCIFEROL (inactiva): precursora de una hormona, 1,25–dihidroxicalciferol tras pasar por el hígado y riñón. Funciones: metabolismo del calcio y fosfato (calcificación del hueso). El colecalfiferol se produce en la piel por medio de una reacción fotoquímica a partir del 7–dehidrocolesterol (metabolito del colesterol) y la luz ultravioleta.

Fuente: aceites de hígado de pescado, se añade a la leche comercial como suplemento nutritivo.

3. VITAMINA E o TOCOFEROL: grupo de componentes lipídicos con efecto antioxidante. Funciones: inhibidor de la destrucción oxidativa (peroxidación) de los lípidos de las membranas celulares, normaliza la función reproductora, integridad muscular y resistencia de los eritrocitos a la hemólisis. Los tocoferoles reaccionan con las formas más reactivas del oxígeno destruyéndolas y protegiendo a los ácidos grasos de la oxidación (enranciamiento de los alimentos).

Fuente: huevos, grasas, aceite animales y vegetales; y germen del trigo.

4. VITAMINA K: existen 2 formas. La vit K1, de origen vegetal y la vit K2, sintetizada por microorganismos (flora bacteriana intestinal). Funciones: coagulación sanguínea y por tanto responsable de la transformación de protrombina a trombina para formar la fibrina. Agente antihemorrágico.

Fuente: Vegetales de hoja verde.

## LA OBSTRUCCIÓN BILIAR CONDUCE A UN DÉFICIT DE VITAMINAS LIPOSOLUBLES (ICTERICIA OBSTRUCTIVA)

### VITAMINAS HIDROSOLUBLES

La función de estas vitaminas está mejor definida que las de las vitaminas liposolubles. Sirven, a excepción de la vitamina C, para sintetizar y formar parte de los diferentes coenzimas, por lo que su función está relacionada con las funciones enzimáticas celulares, claves para los procesos de obtención de energía y crecimiento celular. Se clasifican en:

1. VITAMINAS LIBERADORAS DE ENERGÍA: Incluye a las que participan en la formación de coenzimas y por tanto en el metabolismo energético.

2. Vitaminas relacionadas con los procesos biosintéticos necesarios para la proliferación celular (VITAMINAS HEMATOPOYETICAS).

1. VITAMINA B1 o TIAMINA: da lugar a la formación de pirofosfato de tiamina (TPP) que forma parte de las enzimas piruvato deshidrogenasa y  $\alpha$ -cetoglutarato deshidrogenasa (implicados en la glucólisis anaerobia y ciclo de Krebs) e interviene en la descarboxilación oxidativa del piruvato. También esta vitamina es importante en la ruta de la pentosa fosfato para producir ribosa necesaria para la síntesis de ácidos nucleicos y de NADPH para diferentes rutas biosintéticas.

Fuente: carne (cerdo), levadura, cáscara de cereales y nueces.

2. VITAMINA B2 o RIBOFLAVINA: forma parte de las coenzimas FAD y FMN participan en muchas reacciones de óxido–reducción.

Fuente: carne, leche, productos vegetales, bacterias intestinales (por esto es raro su déficit en el hombre).

3. NIACINA: necesaria para la formación de las coenzimas NAD Y NADP que a su vez participan en los procesos oxidación–reducción y en la respiración celular. Puede ser sintetizada por el organismo a partir del

aminoácido triptófano, pero es insuficiente para tener un buen estado de salud por lo que es necesario consumirla con la dieta.

4. **ÁCIDO PANTOTÉNICO:** componente esencial de la coenzima A, necesario para el catabolismo de hidratos de carbono, ácidos grasos y aminoácidos por medio del ciclo de Krebs.

Fuente: aislado por 1ª vez del hígado y la levadura aunque está presente en muchos tejidos.

5. **BIOTINA:** forma la biocitina necesaria para las reacciones de carboxilación (piruvato carboxilasa y acetilCoA carboxilasa, reacciones claves en la gluconeogénesis y síntesis de ácidos grasos, respectivamente).

6. **VITAMINA B6,** de las que existen 3 formas (piridoxina, piridoxal y piridoxamina). Sirven para la síntesis de la coenzima fosfato de piridoxal que desempeña un papel fundamental en el metabolismo de los aminoácidos ( es importante en el metabolismo energético y en el funcionamiento del sistema nervioso).

7. **ÁCIDO FÓLICO:** constituido por ác. Glutámico, ác. Para-aminobenzoico y pteridina). Da lugar por reducción al tetrahidrofolato que participa en la síntesis de bases purínicas y de TMP (necesario para la síntesis de ADN) y aminoácidos (serina, glicina, metionina) y colina.

Fuente: carne y verduras sobre todo de hoja verde.

El déficit de folato produce ANEMIA.

8. **VITAMINA B12 o COBALAMINA:** participa en la síntesis de metionina y en el catabolismo de aminoácidos ramificados. Su déficit afecta indirectamente al metabolismo del folato y por ello a la síntesis de ADN y a la síntesis de ácidos grasos, con la consiguientes repercusiones hematopoyéticas y neurológicas (síntesis de mielina).

Fuente; alimentos de origen animal como la carne, especialmente en el hígado y el riñón. Es útil administrar suplementos de vitamina B12 a las personas sometidas a una dieta vegetariana estricta.

9. **VITAMINA C o ÁCIDO ASCÓRBICO:** agente reductor en diversas reacciones de hidroxilación, sobre todo de prolina y lisina. Es necesario para la síntesis de colágeno (tejido conjuntivo) y en el mantenimiento del estado reducido de algunas vitaminas liposolubles.

Fuente: verduras y fruta fresca.

## REQUERIMIENTOS VITAMÍNICOS.

1. Las principales fuentes de vitaminas para el organismo humano son los **VEGETALES** (frutas, verduras, cereales, etc.) y sus derivados, si bien determinadas carnes y pescados así como los huevos y la leche, son ricos en determinados tipos de vitaminas.

2. Cantidad óptima de vitaminas en la dieta: tema bastante polémico (dieta variada y equilibrada es lo ideal).

3. Determinados grupos de población (embarazo, lactancia, niños y adolescentes, ancianos) tienen necesidad de un aporte vitamínico superior a la media.

4. Los alcohólicos crónicos, fumadores y personas en régimen de adelgazamiento estricto (< 1200 calorías/día) suelen requerir un aporte extra de vitaminas.

5. Las personas expuestas a determinados fármacos pueden tener déficit vitamínico (anticonvulsiones y

antibióticos).

## AVITAMINOSIS, HIPO E HIPERVITAMINOSIS

1. La carencia grave de una vitamina o grupo de vitaminas denominada AVITAMINOSIS es rara y lo frecuente es que existan carencia de vitaminas inferior al aporte requerido HIPOVITAMINOSIS en países subdesarrollados que van asociadas a problemas de desnutrición o con una alimentación incompleta.
2. El déficit de VITAMINA A produce diversos síntomas: piel reseca, xeroftalmia (ojos secos), retraso del desarrollo y crecimiento, esterilidad y CEGUERA NOCTURNA.
3. La carencia de TIAMINA produce el BERIBERI (produce afectación del sistema nervioso, circulatorio, caquexia y edemas).
4. El déficit de NIACINA se denomina PELAGRA (dermatitis, diarrea y demencia).
5. El déficit de ácido ascórbico produce el ESCORBUTO (hemorragias por fragilidad de los vasos en dientes, encías, déficit de cicatrización de heridas y ulceración).
6. El déficit de vitamina D se denomina RAQUITISMO en niños y OSTEOMALACIA en adultos (problemas óseos).
7. El déficit de ácido fólico produce ANEMIA MACROCÍTICA o MEGALOBLÁSTICA ya que los hematíes son grandes y frágiles.
8. El déficit de vitamina B12 produce ANEMIA PERNICIOSA (anemia megaloblástica) con sintomatología neurológica.
9. Las situaciones de hipervitaminosis o acumulación excesiva de una determinada vitamina son raros y solo se producen en el caso de las vitaminas liposolubles ya que las hidrosolubles son excretadas fácilmente sin acumularse en ningún tejido.
10. La ingesta excesiva de vitamina A o D, puede ser tóxica dando lugar a problemas de tipo hepático, óseo, etc.
11. El equilibrio del calcio y fósforo puede verse afectado por concentraciones elevadas de vitamina D y favorecer la producción de litiasis (cálculos) renales u otros tejidos.
12. La intoxicación por vitaminas A produce letargo, dolor abdominal, cefalea, sudación y uñas quebradizas.

## **TEMA 12.**

### **FUNDAMENTOS TERMODINÁMICOS DE LOS PROCESOS BIOQUÍMICOS. REACCIONES DE ÓXIDO-REDUCCIÓN.**

#### **POTENCIAL REDOX. COMPUESTOS RICOS EN ENERGÍA**

#### FUNDAMENTOS TERMODINÁMICOS DE LOS PROCESOS BIOQUÍMICOS.

1. Las células y los organismos vivos han de desarrollar trabajo (transformaciones energéticas) para permanecer vivos, crecer y reproducirse.

2. Utilizan la energía química de los combustibles para conseguir la biosíntesis de moléculas complejas a partir de precursores sencillos produciendo macromoléculas.
  3. Los procesos metabólicos, que siguen las leyes de la física y de la química, están sometidos a los principios de la termodinámica o bioenergética = estudio cuantitativo de la forma en que los organismos adquieren y utilizan la energía.
  4. Aunque si bien la termodinámica clásica estudia la evolución de los sistemas desde el punto de vista estático, en el ser humano o sistemas vivos el equilibrio que se alcanza es dinámico y por tanto lo que hacemos es extrapolar los datos termodinámicos sirviéndonos de guía para conocer como transcurriría un proceso in vitro para aproximarnos a su evolución in vivo.
  5. El primer principio de la termodinámica se puede expresar de forma simplificada como que la energía no se crea ni se destruye, sino que se transforma.
- $U = \text{calor} + \text{trabajo}.$
6. Lo normal de las reacciones bioquímicas es que se realicen a presión constante (atmosférica). En estas situaciones, el cambio calorífico se le denomina cambio de entalpía (  $H$  ) que si es negativo, la transformación es EXOTÉRMICA (se desprende calor del medio) y si es positivo, la transformación es ENDOTÉRMICA (capta calor del medio). Si es 0: ISOTÉRMICA.
  7. Entalpía (  $H$  ) = contenido calórico del sistema reaccionante o cambio de calor en una reacción a presión constante. Entropía (  $S$  ) = expresión cuantitativa del desorden (azar) de un sistema.
  8. En las condiciones existentes en los sistemas biológicos (temperatura y presión constantes) las variaciones en energía libre, entalpía y entropía están relacionadas entre sí por la ecuación:  $G = H - T \cdot S$ .
- $G$  = variación de energía libre de Gibbs del sistema reaccionante;  $H$  = variación en entalpía del sistema;  $T$  = temperatura absoluta;  $S$  = variación en entropía del sistema reaccionante.
9. El segundo principio de la termodinámica establece que una transformación se produce espontáneamente en un sistema si globalmente tiene lugar un incremento de entropía en el universo. Los organismos vivos conservan su orden interno tomando de su entorno energía libre en forma de nutrientes o de luz solar volviendo al entorno una cantidad igual de energía en forma de calor y entropía.
  10. El cambio de energía libre de Gibbs (  $G$  ) expresa la cantidad de energía capaz de realizar trabajo durante una reacción a temperatura y presión constante que si es negativo la transformación es EXERGÓNICA (la reacción se desarrolla de forma espontánea de izquierda a derecha) y si es positivo la transformación es ENDERGÓNICA (no se desarrolla de forma espontánea, sino que la reacción inversa es la espontánea). Si su valor es cero, no existe cambio energético (equilibrio).
  11. La variación de la energía libre es la fuerza impulsora de todas las reacciones químicas.

### **REACCIONES DE ÓXIDO-REDUCCIÓN**

1. El ATP es la fuente de energía ya que la variación de energía libre en la hidrólisis del ATP es grande y negativa (−30,5 KJ/mol). Además el ATP aporta energía para el transporte activo a través de las membranas y es la fuente de energía para la contracción muscular.
2. Las reacciones de transferencia electrónica metabólicas son de importancia crucial ya que en estas reacciones de oxidación-reducción (redox) interviene la pérdida de electrones por una especie química, que es

así oxidada y ganancia por otra, que es reducida.

3.  $\text{Fe}^{2+}$  (reductor)  $\text{Fe}^{3+}$   $\text{e}^-$  (oxidante).

La molécula dadora de electrones en una reacción redox se denomina agente reductor, la molécula aceptora de electrones es el agente oxidante.

En muchos organismos, la oxidación de la glucosa suministra la energía para la producción de ATP.

Para la oxidación de la glucosa:  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6\text{O}_2 \rightarrow 6\text{CO}_2 + 6\text{H}_2\text{O}$

4. Las células no convierten la glucosa en  $\text{CO}_2$  en una sola reacción muy energética, sino que lo hacen en una serie de reacciones, algunas de las cuales son oxidaciones.

5. Los electrones eliminados en estos pasos oxidativos se transfieren a coenzimas hidrosolubles especializados, en el transporte de electrones como el  $\text{NAD}^+$ ,  $\text{NADP}^+$ ,  $\text{FAD}$  Y  $\text{FMN}$  que van a experimentar oxidación y reducción reversibles en muchas de las reacciones de transferencia de electrones del metabolismo. Su reducción en los procesos catabólicos permite la conservación de la energía libre que se produce en la oxidación de los sustratos.

$\text{NAD}^+$  (oxidada) +  $2\text{e}^-$  +  $2\text{H}^+$   $\text{NADH}$  (reducida) +  $\text{H}^+$

$\text{NADP}^+$  (oxidada) +  $2\text{e}^-$  +  $2\text{H}^+$   $\text{NADPH}$  (reducida) +  $\text{H}^+$

Se conocen > 200 enzimas que catalizan reacciones en las que el  $\text{NAD}/\text{NADH}$  o el  $\text{NADP}/\text{NADPH}$  intervienen por lo que se denominan oxidorreductasas o deshidrogenasas (ej: alcohol deshidrogenasa).

$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$  (etanol) +  $\text{NAD}^+$   $\text{CH}_3\text{CHO}$  (acetaldehído) +  $\text{NADH}$  +  $\text{H}^+$

### **COMPUESTOS RICOS EN ENERGÍA DE HIDRÓLISIS**

1. Cuando tienen lugar la transformación exergónica, una parte de la energía liberada puede quedar disponible en forma de energía química, mediante la formación de unos compuestos intermediarios denominados compuestos ricos en energía de hidrólisis, con unos enlaces muy inestables en disolución acuosa, como los fosfoésteres. La energía química almacenada por estos compuestos es liberada en su hidrólisis. La transferencia de grupos fosfato es una de las características centrales del metabolismo.

2. Entre los compuestos ricos en energía de hidrólisis de mayor interés fisiológico, se encuentran: ATP, fosfoenolpiruvato, acil fosfatos y acetil-CoA. El caso más usual es el ATP (moneda energética) cuya energía libre de hidrólisis es de  $-31\text{ KJ/mol}$  cuando se hidroliza a ADP y fosfato.

Fotocopia Pág. 149

### **TEMA 13.**

### **CADENA RESPIRATORIA: FUNCIÓN Y LOCALIZACIÓN CELULAR.**

### **COMPONENTES DE LA CADENA RESPIRATORIA.**

### **FOSFORILACIÓN OXIDATIVA:**

### **CONCEPTO Y LOCALIZACIÓN CELULAR.**



## INTRODUCCIÓN

1. Los organismos aerobios (hombre) obtienen la energía mediante la transformación oxidativa de nutrientes y metabolitos hasta dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) y agua.
2. En la mayor parte de las células, al menos un 90% del oxígeno molecular consumido se utiliza para la fosforilación oxidativa. El resto se emplea en otras reacciones metabólicas especializadas.
3. las 2/3 partes del  $\text{O}_2$  que inspiramos se utiliza en los procesos oxidativos mitocondriales (ciclo de Krebs). Por cada acetilCoA que entra en el ciclo se obtiene 3 NADH, 1 FADH<sub>2</sub> Y 1 GTP que con el concurso de los componentes de la cadena respiratoria localizados en la membrana interna mitocondrial, el oxígeno reoxidará las coenzimas previamente reducidos (proceso muy exergónico) y con la participación de la fosforilación oxidativa va hacer que se logre la fosforilación de moléculas de ADP hasta ATP (moneda energética) y se obtenga el equivalente a 12 ATP.
4. El catabolismo de los hidratos de carbono, lípidos y proteínas concluye en el esquema unificador constituido por el ciclo de Krebs, cadena respiratoria y fosforilación oxidativa, cuya función básica es la obtención oxidativa de energía metabólica en forma de compuestos de alta energía de hidrólisis (ATP).
5. La fosforilación oxidativa (síntesis de ATP impulsada por la transferencia de electrones al oxígeno) y la fotofosforilación son las 2 transducciones de energía más importantes de la biosfera.
6. La fosforilación oxidativa, que ocurre en la mitocondria, es la culminación del metabolismo productor de energía en los organismos aeróbicos. Es decir todos los pasos enzimáticos de la degradación oxidativa de glúcidos, grasas y aminoácidos en la célula aeróbica converge en esta etapa final de la respiración celular en la que los electrones fluyen desde intermedios catabólicos al  $\text{O}_2$  produciendo energía para la generación de ATP a partir de ADP y el P.

fotocopia Pág. 153

## VISIÓN GRAL. METABOLISMO.

FOTOCOPIA PÁG. 154

## ESTRUCTURA DE LA MITOCONDRIA.

1. Membrana externa: contiene un conjunto de enzimas y una reserva de coenzimas entre los que se encuentra el NAD<sup>+</sup> y la CoA. Estas coenzimas no se mezclan con las de una reserva similar existente en la matriz.
2. Matriz: es la parte de la mitocondria contenida dentro de la membrana interna. Alberga las enzimas del ciclo de Krebs, excepto la succinato deshidrogenasa, firmemente unida a la propia membrana interna.
3. Membrana interna: contiene las cadenas respiratorias y numerosos sistemas transferidores que regulan el flujo de sustrato e iones inorgánicos dentro y fuera de la matriz. El lado de la membrana interna que mira hacia la matriz contiene la estructura sintetizadora de ATP, la ATP sintasa.

## CADENA RESPIRATORIA.

La cadena respiratoria está constituida por 4 grandes complejos enzimáticos localizados en la membrana mitocondrial interna. Una vez reducidos los coenzimas en el ciclo de Krebs debe desoxidarse inmediatamente merced al  $\text{O}_2$  para no bloquear los procesos catabólicos.

El cambio de energía estándar es del orden de 200 kJ/mol (muy exergónico) y el proceso redox se lleva a cabo a saltos agrupándose en complejos. El ensamblado de tales enzimas se conoce como cadena respiratoria o cadena transportadora de e<sup>-</sup> (respiración celular).

1. Complejo I: NADH-ubiquinona reductasa.
2. Complejo II: Succinato-ubiquinona reductasa.
3. Complejo III: Ubiquino-citocromo C reductasa.
4. Complejo IV: Citocromo C oxidasa.

Fotocopia cadena respiratoria.

Fotocopia complejos cadena respiratoria.

Complejo I: Recoge los equivalentes de reducción procedentes de las deshidrogenasas NAD<sup>+</sup> / HADH<sup>+</sup>. Participan diversas proteínas y al final el potencial redox es lo suficiente para la síntesis de 1 ATP.

Complejo II: Recoge los equivalentes de reducción procedentes de la FADH<sub>2</sub>. Contiene sulfoferroproteínas y un citocromo. No hay síntesis de ATP al no alcanzar un potencial redox suficiente.

Complejo III: Multiproteico con varios citocromos y una diferencia de potencial redox suficiente para 1 ATP.

Complejo IV: También tiene suficiente potencial para 1 ATP.

### **CITOCROMOS MICROSOMALES**

1. Los citocromos son proteínas que transfieren electrones y contienen hierro unido a un anillo de proferrina, similar al grupo hemo de la hemoglobina.
2. En el retículo endoplásmico existen cadenas respiratorias NO fosforilativas que están ubicadas en los microsomas. La función de las cadenas respiratorias mitocondriales es acoplar la oxidación del sustrato a la generación de ATP. Sin embargo las microsomales hidroxilan diversas moléculas orgánicas.
3. Las cadenas respiratorias microsomales contiene al citocromo P450 (absorbe luz a 450 nm). Existen hasta 8 formas de citocromo P450 cada una de ellas con especificidad para la hidroxilación de una clase de compuestos. Los sistemas de citocromos P450, fundamentalmente a nivel hepático, participan en una gran gama de reacciones: expoxidación, peroxidación, desulfuración, dealquilación, deaminación y desjalogenación. Muchos fármacos siguen esta vía de metabolización (ej: anticomieles, barbitúricos, etc.)

### **FOSFORILACIÓN OXIDATIVA.**

Fotocopia Pág. 159.

La hipótesis más aceptada fue de la Meter Mitchell expuesta a principios de los años 60 denominada TEORÍA QUIMIOSMÓTICA.

1. La membrana interna mitocondrial es impermeable a iones y ello es fundamental para que se cree la fuerza proton-motriz capaz de originar ATP.
2. Se produce un flujo de protones al operar la cadena respiratoria que se va a traducir en un potencial

eléctrico y ello es lo que constituye el llamado potencia proton–motriz suficiente para la síntesis de moléculas de ATP.

3. Por cada pareja de electrones, el funcionamiento de los complejos III y IV supone la salida de la mitocondria de 4 protones, cifra que se reduce a 3 en el caso del complejo I.

4. la ATP sintasa (ATPasa) utiliza la fuerza proton–motriz para llevar a cabo la fosforilación del ADP por mecanismo desconocidos y sintetizar ATP.

#### CONTROL DEL PROCESO Y RENDIMIENTO GLOBAL.

La fosforilación oxidativa se regula de forma muy precisa a través de la relación  $\text{NADH}/\text{NAD}^+$ , presión parcial de oxígeno y del gradiente de pH ya que al aumentar estos valores aumenta la velocidad del proceso. La relación  $\text{ADP}/\text{ATP}$  también es un elemento regulador.

1. Se sabe que para sintetizarse 1 ATP se necesita de 3 o 4 protones.

2. La oxidación de un NADH mitocondrial vendrá acompañada por la producción de 2 ATP (requiere de al menos 9 protones).

3. La oxidación de una flavina tipo  $\text{FADH}_2$  tan solo rendirá 2 ATP.

4. La oxidación de un NADH citosólico produce 2 ATP.

5. Ejemplo: la oxidación de 1 AcetilCoA por el ciclo de Krebs produce lo siguiente:

3 NADH + 1  $\text{FADH}_2$  + 1 GTP.

Resultado: 3 NADH x 3 = 9 ATP

1  $\text{FADH}_2$  x 2 = 2 ATP 12 ATP

1 GTP = 1 ATP

#### DESACOPLADORES E INHIBIDORES

1. Los inhibidores de la cadena respiratoria bloquean su funcionamiento en lugares específicos y no se produce la fosforilación oxidativa.

2. La utilización de inhibidores es útil para diluir los componentes y el funcionamiento de la cadena respiratoria. Compuestos como el insecticida rotenona (bloquea complejo I), antibiótico antimicina (bloquea complejo II) y cianuro, azida sódica, ácido sulfhídrico y monóxido de carbono (bloquean a la citocromo oxidasa).

3. Los desacopladores son sustancias que disminuyen el rendimiento de ATP (disipan la fuerza proton–motriz o permeabilizan la membrana interna mitocondrial para los protones) pero incrementa la velocidad de la cadena respiratoria disipándose una mayor cantidad de energía en forma de calor. A nivel fisiológico es lo que ocurre en el tejido adiposo pardo rico en mitocondrias desacopladas (periodo de hibernación del oso pardo). Algunos componentes de dietas adelgazantes poco controladas llevan compuestos de estos como son las hormonas tiroideas. En los pacientes oncológicos, las células malignas también incrementan el desacoplamiento.

Existen 3 tipos de inhibidores de fosforilación oxidativa:

1. Inhibidores específicos de lugar: bloquean las reacciones específicas asociadas a los complejos I, II y IV. En ocasiones son utilizados como fármacos.
2. Inhibidores no específicos de lugar: actúan indistintamente y no inhiben a complejos específicos. Bloquean directamente la fosforilación oxidativa y por tanto la oxidación. Ej: Antibióticos como oligomicina, aureovertina y glucósidos vegetales tóxicos.
3. Desacopladores de la fosforilación oxidativa: debilitan o destruyen el acoplamiento entre oxidación y fosforilación aumentando las velocidades de oxidación. El resultado es la producción de calor extra que se puede manifestar como fiebre.

AGENTES DESACOPLADORES: dicumarol, salicilato libre, bilirrubina, ácidos grasos libres, tiroxina, toxina microbianas.

#### OXIDACIONES NO LIGADAS A LA CADENA RESPIRATORIA. RACIALES LIBRES.

Un cierto porcentaje del consumo de O<sub>2</sub> de las células eucariotas aeróbicas no se realiza por la cadena respiratoria y se van a producir una serie de sustancias denominadas radicales libres oxigenados que participan en mecanismos de defensa celulares.

Sin embargo la producción y acumulación de especies tan agresivas provoca problemas por su reactividad y toxicidad.

Los radicales hidroxilo son extremadamente reactivos y constituyen el agente mutágeno más activo obtenido de las radiaciones ionizantes.

Es paradójico que el O<sub>2</sub> es esencial para la vida pero también una de las sustancias más tóxicas reaccionando con toda clase de macromoléculas celulares e implicándose en determinadas enfermedades como la arterosclerosis, ictus, cáncer, enfisema y envejecimiento.

Uno de los mecanismos de defensa de los radicales libre es la actuación de la enzima superóxido dismutasa que transforma al anión superóxido en O<sub>2</sub> y peróxido de hidrógeno. Los lactantes prematuros tienen déficit de esta enzima y pueden desarrollar fibroplasia retrolenticular (ceguera) si se les administra grandes cantidades de O<sub>2</sub> en las incubadoras.

Se piensa que el efecto saludable y antienviejecimiento de las dietas ricas en antioxidantes (Vitamina C, E, carotenos) se debe a la capacidad para disminuir los niveles de radicales libres oxigenados.

#### **TEMA 14.**

#### **INTRODUCCIÓN AL METABOLISMO. CATABOLISMO Y ANABOLISMO.**

#### **VISIÓN GENERAL DEL METABOLISMO.**

##### **FUNCIONES DEL METABOLISMO**

1. Obtener energía química a partir de la captura de energía solar o degradando nutrientes ricos en energía obtenidos del ambiente.
2. Convertir moléculas nutrientes en las moléculas características de la propia célula, incluidos los precursores

macromoleculares.

3. Polimerizar precursores monoméricos a proteínas, ácidos nucleicos, lípidos, polisacáridos y otros componentes celulares.
4. Sintetizar y degradar Biomoléculas requeridas en funciones celulares especializadas.

#### DIVISIÓN SEGÚN FORMA QUÍMICA DE LOS SERES VIVOS.

1. AUTÓTROFOS (autoalimentados como las bacterias fotosintéticas y plantas superiores). Utilizan el CO<sub>2</sub> de la atmósfera como fuente única de carbono a partir de la cual construyen todas sus moléculas. Muchos organismos son fotosintéticos y obtienen la energía a partir de la luz solar.
2. HETERÓTROFOS (alimentados a partir de otros, como las células de los animales superiores y la mayoría de los microorganismos). No pueden utilizar el CO<sub>2</sub> por lo que han de obtener el carbono del ambiente en forma de moléculas orgánicas relativamente complejas (ej: glucosa). Obtienen la energía por degradación de nutrientes orgánicos fabricados por los autótrofos.

#### METABOLISMO: DIVISIÓN

METABOLISMO: suma de todas las transformaciones químicas que se producen en una célula u organismo que tienen lugar en una serie de reacciones catalizadas por enzimas que constituyen las rutas metabólicas. Según sea su naturaleza, los procesos metabólicos son:

1. CATABÓLICOS o DEGRADANTES: a partir de un n° muy amplio de macromoléculas diferentes, se va pasando a un n° menor de sus unidades constituyentes que a su vez se transforman en un n° inferior de intermedios metabólicos y al final y en condiciones aerobias se produce CO<sub>2</sub>, agua y energía. Por tanto las rutas catabólicas liberan energía libre, parte de la cual se conserva en la formación de ATP y transportadores electrónicos reducidos (NADH y NADPH).
2. ANABÓLICOS o CONSTRUCTIVOS (también denominado BIOSÍNTESIS): son caminos contrarios a los previos por vías metabólicas diferentes lo que garantiza un control más eficaz y simultáneo de ambos procesos. Precursores sencillos se integran en moléculas mayores y complejas entre las que se encuentran los lípidos, glúcidos, proteínas y ácidos nucleicos. Las reacciones anabólicas requieren del aporte de energía en forma de energía libre de hidrólisis del ATP y del poder reductor del NADH y NADPH.
3. ANFIBÓLICOS: interconversiones de moléculas, normalmente intermedios metabólicos.

#### REGULACIÓN DE LAS RUTAS METABÓLICAS

Las rutas metabólicas a veces son lineales y a veces ramificadas. Existen algunas que son cíclicas. Por otra parte las rutas catabólicas son convergentes mientras que las anabólicas son divergentes. Las rutas están reguladas por:

1. ENZIMAS ALOSTÉRICOS: son capaces de cambiar la actividad catalítica en respuesta a moduladores o inhibidores.
2. REGULACIÓN HORMONAL: el proceso de transmisión de estos mensajes y la realización de los cambios metabólicos se denomina transducción de señal. Los mensajeros extracelulares son fundamentalmente hormonas (mensajeros químicos liberados por un tejido que estimulan o inhiben algunos procesos que tienen lugar en otro tejido). La otra respuesta es la que utiliza la síntesis de segundo mensajeros intracelulares que controlan las reacciones metabólicas (AMPc)

3. CONTROL DE VELOCIDAD de un paso metabólico por regulación de la concentración de su enzima en la célula.

Fotocopia 169

## **TEMA 15**

### **GLÚCIDOS: CONCEPTO, CLASIFICACIÓN Y FUNCIONES.**

#### **MONOSACÁRIDOS Y DISACÁRIDOS.**

#### **POLISACÁRIDOS Y MUCOPOLISACÁRIDOS.**

##### CONCEPTO Y PROPIEDADES GENERALES.

1. Los glúcidos constituyen el grupo de Biomoléculas más abundante (75% de la materia orgánica total) y excepto el ácido ascórbico (vit C) no son esenciales ya que tras la gluconeogénesis el organismo puede sintetizarlos.
2. Los glúcidos son los principales compuestos desde el punto de vista nutricional/energético. Además los glúcidos forman parte de sustancias más complejas por la unión con otras unidades (polisacáridos, Glucoproteínas, glicolípidos, ácidos nucleicos, etc).
3. Los glúcidos, azúcares, sacáridos (sak karon: azúcar), carbohidratos o hidratos de carbono, denominaciones que hacen referencia al sabor dulce, tienen una composición C:H:O (1:2:1);  $C_n(H_2O)_n$  son carbonos hidratados (ej: glucosa  $C_6H_{12}O_6$ ).
- 4 No todos los glúcidos son dulces ni poseen esa compasión y además otros como el ácido acético  $C_2H_4O_2$  es una grasa.
5. Los glúcidos son polihidroxialdehidos o polihidroxiacetonas o bien sustancias que originan estos compuestos después de hidrólisis. Desde el punto de vista de química orgánica, un glúcido es una cadena hidrocarbonada polialcohólica, que contiene en uno de sus átomos de carbono una función más oxidada, el grupo carbonilo.
6. Si el grupo carbonilo se sitúa en el extremo de la cadena (aldehído) recibe el nombre de ALDOSA y si está en el interior (cetonas) se denomina CETOSA.

Grupo Carbonilo C – H

O

##### 7. Funciones biológicas principales:

- \* Reserva energética en frutos y tejidos animales como el hígado o el músculo.
- \* Papel estructural en vegetales y tejidos animales.
- \* Fuente inmediata de energía para la inmensa mayoría de células.
- \* Suministradores de átomos para formar otras moléculas en rutas anapletóricas.

## CLASIFICACIÓN DE LOS GLÚCIDOS

Abarcan gran variedad de tamaños moleculares y según su tamaño se clasifican en:

1. **MONOSACÁRIDOS** o **UNIDADES BÁSICAS**: son azúcares que contienen de 3 a 7 átomos de carbono y por hidrólisis no dan azúcares más sencillos.
2. **OLIGOSACÁRIDOS**: compuestos formados por la unión de algunos monosacáridos en número de 2 a 10. Los más importantes son los disacáridos.
3. **POLISACÁRIDOS**: constituidos por > 10 unidades de monosacáridos y pueden contener miles. Dan lugar a cadenas, lineales o ramificadas. Los formados por la misma unidad se denominan **HOMOPOLISACÁRIDOS** y si lo forman varias unidades diferentes, se llaman **HETEROPOLISACÁRIDOS**.

### MONOSACÁRIDOS

Son sólidos, incoloros y cristalinos, solubles en agua e insolubles en disolventes no polares, la mayoría de sabor dulce y se clasifican según 3 criterios:

1. **Nº de átomos de carbono**: oscila entre 3 y 7. Se nombra con un prefijo que hace referencia al nº de átomos de carbono y el sufijo -osa (triosas, terrosas, pentosas, hexosas y heptosas). Los más importantes son las hexosas seguido de las pentosas.
2. **Naturaleza**, aldehído o cetona del monosacárido. Existen 2 grandes grupos principales: **ALDOSAS** Y **CETOSAS**. De esta forma una hexosa puede existir en forma de aldohexosa (glucosa) y cetohehexosa (fructosa).
3. **Esterеоisomería**: debido a la existencia de carbonos asimétricos en los distintos monosacáridos se puede producir una gran diversidad de monosacáridos.

### ESTEREOISOMERÍA

- Cuando en un compuesto orgánico un átomo de carbono tiene unido 4 sustituyentes distintos se denomina **QUIRAL** o **Asimétrico**.
- El carbono quiral confiere actividad óptica, es decir, confiere la propiedad de desviar un cierto ángulo cualquier haz de luz polarizada que pase a través de una disolución de la sustancia y se mide con un **POLARIMETRO**.
- Si se cambian las posiciones relativas de 2 sustituyentes sobre ese carbono se obtiene 2 compuestos denominados **isómeros ópticos** que van a presentar propiedades físicas diferentes.
- El compuesto más sencillo con actividad óptica es el gliceraldehído (aldotriosa) con un carbono quiral y si se proyecta su estructura tetraédrica en el plano se conoce como **FORMULA DE FISCHER**.
- Por convenio, la familia de azúcares designada como **D** (dextrógira) es aquella que tiene el grupo hidroxilo en el carbono quiral más alejado del grupo reductor en el lado derecho de la cadena carbonada y **L** (levógira) cuando el grupo hidroxilo está en el lado izquierdo.

Fotocopia pág 175

- En los monosacáridos con más átomos de carbono que las triosas, el nº de carbonos quirales aumenta y con ello el nº de isómeros ópticos.
- Casi todos los monosacáridos presentes en la naturaleza son de la serie **D**. en caso de las cetosas todas tienen el grupo carbonilo en carbono 2.
- Los estereoisómeros que tengan todos los carbonos asimétricos con configuración opuesta se denominan **ENANTIÓMEROS**.

- 2 estereoisómeros que no sean enantiómeros se denominan diastereoisómeros. Dentro de éstos, las parejas que sólo se diferencian en la configuración de un carbono asimétrico se denominan EPIMEROS.
- Los compuestos de importancia metabólica son: (fotocopia pag 176)

## ENLACE HEMIACTÁLICO

- Cuando una pentosa y una hexosa se disuelven en agua, la estructura abierta de los monosacáridos no es estable y el grupo carbonilo tiene tendencia a formar un enlace denominado hemiacetálico dando lugar a una estructura cíclica denominada PIRANÓSIDO o FURANÓSIDO, según tenga 6 o 5 átomos- vértice, respectivamente.
- Estas estructuras son la representación en el plano de la estructura real y se denomina representación de HAWORTH, donde el átomo de oxígeno se encuentra en el vértice superior derecho y el grupo  $-CH_2OH$  terminal hacia arriba del plano que contiene el ciclo mientras que los grupos hidroxilos se sitúan hacia abajo los orientados a la derecha y hacia arriba los orientados hacia la izquierda.
- Cuando se forma el enlace hemiacetálico, el carbono carbonílico (anomérico) se transforma en nuevo centro asimétrico introduciendo 2 nuevos estereoisómeros (anómeros):  $\alpha$  y  $\beta$ .
- Es imposible mantener en disolución un anómero en estado puro. El establecimiento del equilibrio lleva consigo un cambio en el poder rotatorio de la disolución, que se conoce con el nombre de MUTARROTACIÓN de manera que las formas  $\alpha$  y  $\beta$  se interconvierten a través de la estructura abierta.

Fotocopia 177

## DERIVADOS MONOSACÁRIDOS.

Los monosacáridos pueden sufrir transformaciones para dar compuestos de importancia fisiológica que no responden a la estequiometría de carbohidrato  $C_n(H_2O)_n$ . Según el tipo de modificación química tenemos a:

- **REDUCCIÓN:** Alditales y los desoxiazúcares. La reducción del grupo carbonilo a un nuevo grupo alcohol da lugar a los alditales o azúcares-alcoholes que se denominan con el nombre de azúcar terminado en -itol (D-manosa: D-manitol; D-ribosa: D-ribitol; D-glucosa: D-sorbitol). Otra reducción diferente implica la pérdida de algún grupo hidroxilo, dando lugar a los desoxiazúcares (ej: 2-desoxi-D-ribosa: ADN).
- **AMINOAZÚCARES:** se obtiene por la sustitución de algún grupo hidroxilo por un grupo amino generalmente en el C2 y el grupo amino a su vez se encuentra acetilado en la mayor parte de los derivados proteoglicanos (2-D-glucosamina, 2-D-manosamina y 2-D-galactosamina y sus N-acetil-derivados  $-NH-CO-CH_3$ ).
- **OXIDACIÓN:** azúcares ácidos. Los carbonos terminales de las aldosas pueden oxidarse a grupo carboxilo. Existen 3 tipos: ácidos urónicos (ej: ácido D-glucurónico derivado de la D-glucosa); ácidos aldónicos (ej: ácido D-glucónico); ácidos aldáricos (ej: ácido D-glucárico). Existen otros derivados de ácidos con modificaciones más importantes como el ácido ascórbico, murámico y neuramínico (siálico).
- **ESTERIFICACIÓN:** azúcares fosfato y sulfato. Se producen por esterificación de algún grupo hidroxilo del azúcar con ácido fosfórico o sulfúrico.

Pág fotocopia 178

## ENLACE GLICOSÍDICO.

- Los hemiacetales pueden reaccionar a través del carbono anomérico con el grupo hidroxilo de otro alcohol para dar lugar a un enlace acetálico. En el caso de los glúcidos, el enlace se denomina



glicosídico, y el compuesto GLICÓSIDO (ej: glicósidos cardíacos como la ouabaína). Si el alcohol que se une al carbono anomérico pertenece a otro monosacárido, el compuesto es un azúcar que contiene más de una unidad de monosacárido y se denomina DISACÁRIDO.

- El enlace glicosídico y puede producirse entre más de 2 monosacáridos, dando lugar a oligosacáridos y polisacáridos.
- Debido a que el carbono anomérico tiene 2 configuraciones distintas, el enlace glicosídico puede también ser de 2 tipos,  $\alpha$  y  $\beta$ .
- El enlace glicosídico no es exclusivo del átomo de oxígeno ya que en algunos casos se produce con el nitrógeno (ej: nucleótidos: enlace entre la pentosa y el N1 o N9 de la base nitrogenada). Este enlace es siempre de configuración  $\beta$ .

Fotocopia 179

## DISACÁRIDOS

- Entre los oligosacáridos, los únicos con importancia fisiológica son los DISACÁRIDOS y dentro de ellos solo 3: maltosa (azúcar de malta), lactosa (azúcar de la leche) y sacarosa (azúcar común o de mesa obtenido de la caña y la remolacha). Fórmula estequiométrica:  $C_{12}H_{22}O_{11}$  y el tipo de enlace es el glicosídico.
- La maltosa es un azúcar reductor ( producto principal de la acción de la amilasa sobre el almidón o el glucógeno) y la lactosa (disacárido reductor de la leche). Sin embargo la sacarosa no es reductor y no tiene 2 isómeros ( $\alpha$  y  $\beta$ ) como le ocurre a los otros disacáridos.

Fotocopia 180

## CLASIFICACIÓN POLISACÁRIDOS

Los polisacáridos o glicanos constituidos por  $> 10$  unidades de monosacáridos están unidos por enlaces glucosídicos formando cadenas en ocasiones de varios miles de unidades. Tienen pesos moleculares grandes y son insolubles en agua o forman disoluciones coloidales. Los enlaces más usuales se producen entre el carbono anomérico y los hidroxilos situados sobre el C4, C6 y C3, en ese orden, dando origen a cadenas lineales o ramificadas. Según su composición, se clasifican en:

1. HOMOPOLISACÁRIDOS: son más simples y abundantes. Se nombra con el nombre del monosacárido acabado en -ano (glucano, fructano, manano, galactano, etc). Los principales son los glucanos e incluyen el almidón, glucógeno, celulosa o quitina. Tienen un único tipo de unidad monomérica. Funciones de reserva energética y como elemento estructurales.
2. HETEROPOLISACÁRIDOS: son menos abundantes pero mucho más variados y comprenden una larga serie de polisacáridos estructurales componentes de mucosas, tejido conjuntivo, líquido sinovial, humor vítreo, cartílago, córnea, hueso, etc. contiene 2 o más tipos de diferentes unidades de monosacáridos.

### HOMOPOLISACÁRIDOS.

Los homopolisacáridos van a tener funciones de reserva energética en vegetales (almidón) y animales (glucógeno) así como función estructural como integrantes de la madera (celulosa) o exoesqueleto de insectos y crustáceos (quitina).

1. ALMIDÓN: masa molecular entre 104 y 106 d. Tiene 2 componentes: Amilasa (cadenas lineales de D-glucosa unidas por enlaces  $(1-4)$  que adoptan una estructura helicoidal y se colorean de azul con el yodo siendo el componente principal de los almidones) y Amilopectina (cadenas ramificadas con enlaces  $(1-4)$  en la lineal y  $(1-6)$  en los puntos de ramificación que con el yodo dan color violeta a marrón).

2. **GLUCÓGENO:** peso molecular de hasta 4.106 d. Se asemeja a la amilopectina pero con más ramificaciones, un enlace (1-6) cada 8-13 unidades de D-glucosa. Se almacena en el hígado y el músculo esquelético cuando existe excedente de aporte de glucosa. Es el polisacárido de reserva más importante en las células animales pudiendo representar un 7% del peso total del hígado.

Fotocopia pág 183

3. **CELULOSA:** constituye la Biomolécula más abundante de la naturaleza y contiene el 50% del carbono orgánico de la biosfera (constituye el 50% de la madera y casi el 100% del algodón). Formado por cadenas lineales de masa molecular entre 2 y 4.105 d compuestas por unidades de D-glucosa unidas por enlaces (1-4). Estos enlaces no se hidrolizan por las enzimas digestivas humanas lo que explica que la celulosa no sea digerible. Sus ésteres acéticos y nítricos tienen importantes aplicaciones industriales como papel, plásticos.

4. **QUITINA:** muy semejante a la celulosa, con enlaces glicosídicos (1-4) y cadenas lineales, pero las unidades que se repiten son de N-acetil-2-glucosamina.

Fotocopias 184

### HETEROPOLISACÁRIDOS.

Están compuestos por unidades de aminoazúcares y de ácidos urónicos alternantes y con frecuencia se unen de forma covalente a una cadena proteica por lo que también se denominan **PROTEOCLICANOS** o **MUCOPOLISACÁRIDOS**.

1. **ÁCIDOS HIALURÓNICO:** el único que no se une a cadenas polipeptídicas y se encuentra en todas las células. Formando por unidades de un disacárido compuesto por ácido D-glucurónico y N-acetil-2-glucosamina unido por enlaces (1-3). Forma parte del líquido sinovial, mucosas y humor vítreo del ojo. Proporciona resistencia y flexibilidad a cartílagos y tendones.

2. **SULFATO DE CONDROITINA:** forma parte de los tejidos más duros como la córnea, hueso y cartílago. Las cadenas son parecidas a las del ácido hialurónico pero el aminoazúcar es la N-acetil-2D-galactosamina. Existen varios tipos condroitín sulfato A, C, etc. Parecido a estos compuestos están los queratán, dermatán y heparán sulfatos con mayor grado de heterogeneidad en su composición. La heparina y sus sulfatos tienen propiedades anticoagulantes y se encuentran en los vasos sanguíneos y las válvulas cardíacas.

Otros heteropolisacáridos que a veces forman agregados de gran tamaño con proteínas (**PROTEOGLICANOS**) son los responsables de la elevada viscosidad y propiedades lubricantes de alguna secreción.

### IMPORTANCIA GLÚCIDOS EN BIOQUÍMICA CLÍNICA.

- La D-glucosa es el nutriente universal de las células humanas y en algunos tejidos casi el único. Es capaz de proporcionar algo de energía incluso en condiciones anaeróbicas.
- La determinación de sus niveles en sangre y orina es uno de los parámetros más medidos en bioquímica clínica y de los más importantes para fines diagnósticos, dietéticos y terapéuticos.
- La concentración plasmática de glucosa en ayunas es de 1g/L, mediante una regulación hormonal muy eficaz con insulina y glucagón. El aumento de los niveles basales de glucosa > 126 mg/dl (2 determinaciones) o tras sobrecarga oral de 75 gr de azúcar y glucemia a las 2 horas > 200 mg/dl define a un paciente con **DIABETES**.
- Otros azúcares que también se determinan en clínica son: galactosa (galactosemia: enfermedad hereditaria que origina cataratas y daños hepáticos irreversibles) y fructosa (intolerancia a la fructosa y fructosuria esencial, también 2 enfermedades hereditarias).

- Hoy día se determina la concentración de glucosa por métodos colorimétricos–enzimáticos como es la glucosa oxidasa.

## **TEMA 16**

### **DIGESTIÓN Y ABSORCIÓN DE LOS GLÚCIDOS DE LA DIETA.**

#### **GLUCÓLISIS: REACCIONES, BALANCE ENERGÉTICO Y REGULACIÓN.**

#### **FORMACIÓN DE LACTATO.**

#### **INCORPORACIÓN DE OTROS MONOSACÁRIDOS A LA VÍA GLUCOLÍTICA.**

##### **INTRODUCCIÓN.**

1. El ser humano necesita del aporte continuado de una serie de compuestos orgánicos para el normal desarrollo y funcionamiento de sus órganos y tejidos.
2. Los alimentos de la dieta proporcionan las proteínas, hidratos de carbono, grasas, minerales y vitaminas que el conjunto de células del organismo precisan para satisfacer sus requerimientos energéticos y de crecimiento.
3. Una dieta equilibrada va a estar compuesta por un 55–60% de hidratos de carbono (4.2 Kcal/g), 30% de grasas (9.5 Kcal/g) y 15 % de proteínas (4.3 Kcal/g). Los 2 primeros van a suministrar parte de la energía que el individuo consume. Sin embargo, las proteínas que aunque tenga un valor energético similar a los carbohidratos, su participación energética solo es del 15% ya que su función es fundamentalmente plástica.
4. Los requerimientos energéticos de un individuo van a depender de factores como son: peso, edad, género, circunstancias particulares (tipo de actividad, embarazo, convalecencia, etc).
5. Los hidratos de carbono solo pueden absorberse de forma monomérica. Los monosacáridos (glucosa, fructosa, galactosa, etc) son un porcentaje pequeño de los azúcares presentes en los alimentos siendo su forma mayoritaria las formas poliméricas de la glucosa tales como el almidón o el glucógeno o los disacáridos sacarosa y lactosa. Por tanto deben ser transformados en monosacáridos en un proceso previo a la absorción. La celulosa, pectinas, etc que no puede ser degradadas por el aparato digestivo se eliminan por las heces (fibra vegetal).
6. Las proteínas deben ser transformadas en sus componentes unitarios, los aminoácidos, que son absorbibles por el intestino. Las proteínas que no pueden ser degradadas no se absorben y aparecen en las heces.
7. Los lípidos forman un grupo complejo de nutrientes en el que predominan los triacilgliceroles que constituyen el 90% de las grasas. Fosfolípidos, colesterol y ésteres de colesterol, ácidos grasos y vitaminas liposolubles completan la fracción lipídica de los alimentos. Para la absorción de los lípidos es necesaria la secreción biliar debido a su insolubilidad en agua.
8. En el ser humano es obligatorio ingerir nutrientes esenciales: la mitad de los aminoácidos proteícos, algunos ácidos grasos poliinsaturados, vitaminas y minerales.

##### **DIGESTIÓN**

1. La gran mayoría de compuestos ingeridos sufren reacciones de transformación que consisten en la conversión de Biomoléculas de tipo polimérico en otras monoméricas más sencillas que pueden ser transportadas a la sangre por las células intestinales.

2. El conjunto de reacciones de degradación son procesos hidrolíticos exergónicos que se producen extracelularmente en la luz del aparato digestivo y se conoce con el nombre de DIGESTIÓN.

3. La digestión corre a cargo de:

\* ENZIMAS DIGESTIVAS: aceleran la velocidad de degradación de los materiales poliméricos en monoméricos. Estas enzimas son sintetizadas en células y glándulas especializadas en forma de zimógenos digestivos.

\* COMPONENTES NO ENZIMÁTICOS: presentes en las secreciones de diferentes glándulas digestivas que suministran los iones y pH adecuados para la actuación de las enzimas o que ayudan como es la bilis a solubilizar los lípidos para favorecer su digestión y absorción.

\* PROCESOS FÍSICOS: masticación o trituración de los alimentos y los movimientos de contracción del tubo digestivo.

\* SISTEMA NERVIOSO Y ENDOCRINO: coordinación entre tiempo de residencia del bolo alimenticio y el aporte de secreciones digestivas en tiempo y cantidad adecuado para llevar a cabo la degradación de los alimentos.

1. SALIVA (agua, ClNa, amilasa) SECRECIÓN GÁSTRICA (ClH, Pepsinógeno)

SECRECIÓN PANCREÁTICA (Bicarbonato, proteasas, amilasa, lipasas, nucleasa)

SECRECIÓN BILIAR (Bilis) SECRECIÓN INTESTINAL (Oligosacáridos, aminopeptidasas).

2. La digestión de los polisacáridos almidón y glicógeno comienza en la boca por medio de la amilasa salival que produce la degradación parcial de las cadenas lineales de amilasa y amilopectina. Esta hidrólisis es breve ya que la enzima no es activa al pH ácido del estómago por lo que la digestión de estos compuestos continúa en el duodeno por medio de la AMILASA PANCREÁTICA que transforma a estos azúcares en oligosacáridos (maltosa, maltotriosa y dextrina). La hidrólisis final de los oligosacáridos y disacáridos de la dieta hasta monosacáridos se llevan a cabo por medio de disacaridasas y oligosacaridasas localizadas en la mucosa intestinal (amilasa, insomaltosa, maltasa, sacarosa, lactasa).

ALTERACIONES DIGESTIÓN.

1. Alteración de la función pancreática (pancreatitis) produce problemas de maldigestión.

2. Alteración de las células de la mucosa duodenal, ricas en enzimas digestiva produce problemas de malabsorción, especialmente de oligosacáridos.

\* Enfermedad celíaca = atrofia de células intestinales en respuesta a la ingestión de gluten (proteína del trigo).

\* Intolerancia a la lactosa (ausencia de lactasa).

\* Otras.

ABSORCIÓN DE GLÚCIDOS

- Una vez digeridas, es necesario que las Biomoléculas pasen a través de la membrana luminal del enterocito (absorción). Factores que favorecen la absorción: compuestos parecidos a los componentes de membrana, menor tamaño, más hidrófoba. Sin embargo, no tenemos problemas de absorción para

moléculas más hidrófilas como los glúcidos al disponer de sistemas de transporte (transportadores, translocasas o permeasas) diseñados para absorber con total eficacia e incluso en contra de gradientes de concentración.

- Sólo se absorben los glúcidos si están en forma de monosacáridos con diferencias entre ellos.
- La absorción de las hexosas tras la comida se hace al principio por medio de un transporte mediado pasivo (no requiere energía) mientras que las pentosas parecen pasar por difusión simple. Al final de la digestión es necesario un transporte activo que depende de energía y de la bomba ATPasa Na/K para asegurar que hasta las pequeñas concentraciones de azúcar llegan al entericito.

## GLUCÓLISIS: INTRODUCCIÓN

- Los glúcidos son la principal fuente de energía para los seres humanos.
- Los monosacáridos ingresan en la circulación portal y llegan al hígado, donde en su mayor parte (60%) son metabolizados para realizar el trabajo biológico.
- La D-glucosa es el principal combustible y rico en energía potencial ya que su oxidación completa a CO<sub>2</sub> y agua transcurre con una variación de energía libre estándar de -2840 kJ/mol. Almacenando la glucosa en forma de polímero de elevada masa molecular (glucógeno), una célula puede apilar grandes cantidades de glúcidos sin que modifique la osmolaridad pudiéndose liberar rápidamente la glucosa a partir de estos polímeros de almacenamiento.
- La glucosa no es sólo combustible sino también un precursor capaz de suministrar intermedios metabólicos (ej: e. Coli puede obtener a partir de la glucosa los esqueletos carbonados de todos los aminoácidos, nucleótidos, coenzimas, ácidos grasos, etc. necesarios para el crecimiento).
- HIGADO = Principal regulador de la homeostasis de la glucosa.

## DESTINOS Y TRANSFORMACIONES METABÓLICAS DE LOS GLÚCIDOS

La glucosa tiene 3 destinos:

1. Almacenada en forma de polisacárido o sacarosa.
2. Oxidada a un compuesto de 3 carbonos (piruvato) via glucólisis.
3. Oxidada a pentosas, vía de las pentosas-fosfato.

Entre las transformaciones metabólicas de los glúcidos, se encuentran:

GLUCÓLISIS ANAEROBIA (Citoplasmática).

GLICÓLISIS AEROBIA (Mitocondrial).

VIAS CATABÓLICAS ALTERNATIVAS (Vía de las pentosas-fosfato o del fosfogluconato): es anaeróbico y citoplasmática.

GLUCONEOGÉNESIS (Mitocondrial y Citoplasmática).

GLUCÓGENO-SÍNTESIS y GLUCOGENÓLISIS (Citoplasmática).

## RESUMEN

1. GLUCÓLISIS ANAEROBIA: Si partimos de la glucosa u otro monosacáridos, en condiciones anaerobias, obtenemos piruvato o mejor aún lactato, acompañado de la obtención de una cantidad limitada de ATP. Proceso evolutivo más antiguo que se conserva en todas las células vivas.

2. **GLUCÓLISIS AEROBIA:** En las células eucariotas, es una vía de degradación por la que la D-glucosa u otro monosacárido se oxida a piruvato el cual se introduce en la mitocondria y a través de su conversión en Acetil-CoA y su entrada en el ciclo de Krebs, el oxígeno molecular facilita su oxidación hasta la obtención de CO<sub>2</sub> y agua con una importante producción de ATP por medio de la fosforilación oxidativa. Hay células que no tienen esta vía.

3. **VÍA PENTOSAS-FOSFATO o DEL FOSFOGLUCONATO:** sirve para producir NADPH necesario para la biosíntesis de ácidos grasos y esteroides. También permite la interconversión de hexosas y pentosas imprescindibles para la síntesis de ácidos nucleicos. La vía del fosfogluconato produce ácido ascórbico en otras especies que no es la humana y ácido D-glucurónico necesario para la detoxificación.

4. **GLUCONEOGÉNESIS o NEOGLUCOGÉNESIS:** ocurre en los hepatocitos fundamentalmente y consiste en la obtención de glucosa a partir de derivados no glucídicos. Controla el nivel de glucosa en sangre periférica. Es un proceso opuesto a la glucólisis y necesita de energía en forma de ATP.

5. **GLUCÓGENO-SÍNTESIS y GLUCOGENÓLISIS :** Ambos procesos son contrapuestos entre sí utilizando rutas enzimáticas diferentes.

### GLUCÓLISIS ANAEROBIA

1. La palabra glucólisis deriva del griego glycos (azúcar) y lisis (rotura) y consiste en la degradación de 1 molécula de glucosa, por medio de una serie de reacciones catalizadas enzimáticamente, dando lugar a 2 moléculas de piruvato, liberándose energía libre en forma de ATP.

2. Fue la primera ruta metabólica descubierta y la que mejor se conoce: Vía de Embden-Meyerhof-Harden. La glucólisis opera en todas las células como un recuerdo metabólico de la época evolutiva en la que los organismos vivos se desarrollaban en una atmósfera sin O<sub>2</sub>.

3. Es una ruta central, casi universal del catabolismo de la glucosa. En ciertos tejidos mamíferos y tipos de células (eritrocitos, médula renal, cerebro y esperma) la glucosa es la única fuente de energía metabólica a través de la glucólisis.

4. Por otra parte, **FERMENTACIÓN** indica degradación anaeróbica de la glucosa u otros nutrientes orgánicos a diversos productos para obtener energía en forma de ATP.

5. Durante el parto, es muy importante la glucólisis anaerobia en el recién nacido ya que el acceso de O<sub>2</sub> es pobre excepto en el cerebro. En los adultos esta ruta funciona en células con pocas mitocondrias (músculo blanco, testículos, córnea, cristalino y eritrocitos).

1. Ocurren 10 transformaciones: en la glucólisis anaerobia que catalizadas enzimáticamente producen la rotura de 1 molécula de glucosa con 6 carbonos en 2 moléculas de piruvato de 3 carbonos con la posibilidad final de conversión de piruvato a lactato.

2. Fase preparatoria: no se obtiene energía y se necesita la energía de hidrólisis de 2 ATP. Serían las 5 primeras transformaciones. Todo ello es debido a que es necesario fosforilar a los monosacáridos para hacerlo impermeables a la membrana plasmática.

3. Fase de beneficios: los últimos 5 pasos y es donde se obtiene la energía mediante fosforilaciones y se obtiene 4 ATP.

4. Rendimiento neto: 2 moléculas de ATP por molécula de glucosa utilizada. También se conserva energía en la fase de beneficios mediante la formación de 2 moléculas de NADH por moléculas de glucosa. Pero en

condiciones anaeróbicas el piruvato se reduce a lactato para regenerar el NAD.

FOTOCOPIA 198

FOTOCOPIA 199

El piruvato formado en la glucólisis puede tomar 3 rutas catabólicas alternativas:

- Organismos aeróbicos y en condiciones aeróbicas. Degradación completa de la glucosa impulsando síntesis de ATP.
- Reducción a lactato vía fermentación del ácido láctico. Ciertos tejidos (retina, cerebro, eritrocitos) convierten la glucosa en lactato o un músculo tras una contracción vigorosa.
- La tercera ruta principal del catabolismo del piruvato conduce a la producción de etanol (fermentación alcohólica).

Fotocopia pag 200

#### RENDIMIENTO NETO DE LA GLUCOLISIS ANAEROBIA

- La única posibilidad para que el lactato se metabolice es a través de su reconversión hasta piruvato mediante la lactato deshidrogenasa.
- Podemos considerar, para simplificar, que el piruvato es el producto final de la glucólisis anaerobia, por lo que el rendimiento global será por cada glucosa el de:

2 ATP Y 2 NADH

- Si consideramos que cada NADH citosólico equivale a 2–3 ATP (el entrenamiento físico hace que las células musculares en los atletas intensifiquen el rendimiento energético), todo este paso supone la generación de:

6 u 8 ATP (7 ATP)

#### ENZIMOLOGÍA DE LA RUTA.

1. El ajuste necesario de la velocidad de glucólisis se consigue mediante la regulación por 2 enzimas glucolíticos: 6-FOSFOFRUCTOQUINASA y PIRUVATO QUINASA.
2. La reacción de glucosa a glucosa-6-fosfato es un proceso muy exergónico y poco reversible catalizado por la hexocinasa o la glucocinasa.
3. El paso 4 está catalizado por la enzima reguladora más importante de la glicólisis anaerobia, la 6-FOSFOFRUCTOCINASA. Este proceso es bastante irreversible al igual que el anterior.
4. La Piruvato cinasa es la enzima que cataliza el paso de fosfoenolpiruvato a piruvato. También es una reacción enormemente exergónica lo que provoca irreversibilidad.
5. El resto de etapas catalizadas enzimáticamente poseen características de reversibilidad. El arsenato ( parecido al fosfato) bloquea la glucólisis. Un isómero del 1,3-bifosfoglicerato es el 2-3-bifosfoglicerato, factor alostérico de gran importancia en la asociación de O<sub>2</sub> con la hemoglobina. La enolasa deshidrata la molécula de 2-fosfoglicerato en fosfoenolpiruvato y es muy sensible al ion fluoruro inhibiendo la glucólisis

de ciertos microorganismos bucales que favorecen la caries.

## FERMENTACIÓN LÁCTICA

1. El concurso de la enzima lactato deshidrogenasa encargada del paso del piruvato a ácido láctico es necesario para que las células con metabolismo anaerobio no se acumule rápidamente el NADH y con ello se consuma totalmente el NAD<sup>+</sup>, en cuyo caso quedaría interrumpida la vía glucolítica.
2. Por ello, la conversión de piruvato a lactato hace recuperar los niveles de la coenzima oxidada y posibilita que la reacción global glucosa a lactato se realice con gran rapidez.
3. Existe muy poco rendimiento energético en forma de ATP por unidad de glucosa catabolizada. El rendimiento en ATP de la glucólisis en condiciones anaerobias (2 ATP por molécula de glucosa) es mucho menor que el de la oxidación completa de la glucosa a CO<sub>2</sub> en condiciones anaerobias (36 o 38 ATP).

## GLUCÓLISIS DE OTROS MONOSACÁRIDOS

La fructosa constituye el 50% de la sacarosa y por tanto la mitad de nuestra ingesta de carbohidratos. Metabolismo es hepático con una fructoquinasa (el déficit de esta enzima produce la fructosuria esencial) que la convierte en fructosa-1-fosfato que tras la acción de la aldosa 2 hepática (su déficit provoca la intolerancia hereditaria a la fructosa) y la gliceral

dehído quinasa se transforma en gliceraldehído-3-fosfato. De esta forma entra en la glucólisis anaerobia.

La galactosa es transformada en el hepatocito en galactosa-1-fosfato (G1P) mediante la galactocinasa. La G1P con el concurso de UDP-glucosa y la enzima galactosa-1-fosfato-uridil transferasa (su déficit produce la galactosemia congénita) produce glucosa-1-fosfato y se integra en la glucólisis anaerobia en G6P.

GLUCOLISIS ANAEROBIA HASTA PIRUVATO = 7 ATP

FOTOCOPIA PAG 204

FOTOCOPIA PAG 205

## TEMA 17. DESCARBOXILACIÓN OXIDATIVA DEL PIRUVATO.

COMPLEJO PIRUVATO DESHIDROGENASA. CICLO DEL ÁCIDO CÍTRICO: REACCIONES, BALANCE ENERGÉTICO Y REGULACIÓN. EL CICLO DEL ÁCIDO CÍTRICO COMO FUENTE DE PRECURSORES BIOSINTÉTICO.

## FERMENTACIONES

1. El piruvato representa un importante punto de unión en el catabolismo de los glúcidos:
  - a) En condiciones aeróbicas el piruvato se oxida a acetato el cual entra en el ciclo de Krebs siendo oxidado a CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O. El NADH formado en la deshidrogenación del gliceraldehído-3-fosfato se reoxida a NAD<sup>+</sup> mediante el paso de sus electrones al O<sub>2</sub> en el proceso de la respiración mitocondrial.
  - b) En condiciones anaeróbicas (Ej: músculos esqueléticos muy activos), el NADH generado en la glucólisis no puede ser reoxidado por el O<sub>2</sub>. La incapacidad para regenerar NAD<sup>+</sup> dejaría a la célula sin aceptor electrónico para la oxidación del gliceraldehído-3-fosfato, con lo que se detendrían las reacciones de la glucólisis que producen energía. Por tanto el NAD<sup>+</sup> ha de ser regenerado por otra reacción, transfiriendo los



electrones desde el NADH para formar un producto final reducido como es el LACTATO o el ETANOL.

2. El piruvato es el aceptor electrónico terminal en la fermentación láctica:

Ciertos tejidos y tipos celulares (retina, cerebro, eritrocitos) producen lactato a partir de la glucosa en condiciones anaeróbicas y al no poseer mitocondrias. Si no se puede administrar O<sub>2</sub> suficiente para mantener la oxidación aeróbica del piruvato y del NADH producidos en mantener la oxidación aeróbica del piruvato y del NADH producidos en la glucólisis, el NAD<sup>+</sup> y el NADH se interconvierten de forma continua sin ganancia ni pérdida del uno o del otro.

El lactato formado por los músculos activos puede reciclarse ya que se transporta por la sangre al hígado en donde se convierte en glucosa.

Muchos microorganismos fermentan la glucosa y otras hexosas (lactosa) a lactato produciéndose el cuajo, queso o el yogur.

Piruvato Lactato

NADH NAD<sup>+</sup>

3. El etanol es el producto reducido en la fermentación alcohólica:

Levadura y otros microorganismos fermentan la glucosa a etanol y CO<sub>2</sub> (no lactato). La glucosa se convierte en piruvato y éste se transforma en etanol y CO<sub>2</sub> en un proceso de 2 pasos:

a) Piruvato se descarboxila en acetaldehído en la reacción irreversible de la piruvato descarboxilasa (presente en levadura de cerveza y de panificación).

Esta enzima necesita de Mg<sup>2+</sup> y tiene una coenzima, tiamina pirofosfato. El CO<sub>2</sub> producido por la piruvato descarboxilasa en la levadura de cerveza es el responsable de la gasificación del champán.

b) El acetaldehído se reduce a etanol con la alcohol deshidrogenasa y NADH proveniente de la deshidrogenación del gliceraldehído-3-fosfato glucosa + 2 ADP + 2P → 2 etanol + 2CO<sub>2</sub> + 2 ATP + 2 H<sub>2</sub>O

PIRUVATO

Piruvato Mg, + tiamina

Descarboxilasa pirofosfato

CO<sub>2</sub>

ACETALDEHIDO

Alcohol NADH

Deshidrogenasa

NAD<sup>+</sup>

ETANOL

## DESCARBOXILACIÓN OXIDATIVA DEL PIRUVATO

\* La mayor parte de las células eucariotas y un gran número de bacterias oxidan sus nutrientes completamente a CO<sub>2</sub> y agua en la fase aeróbica del catabolismo por medio de la respiración celular y por tanto el piruvato no es reducido a lactato, etano u otra sustancia. Para ello se necesita de O<sub>2</sub> y mitocondrias en las mismas células donde ha tenido lugar la glucólisis anaerobia a nivel citoplasmático.

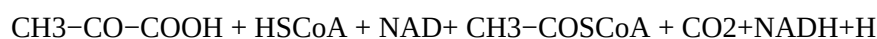
\* La respiración celular tiene lugar en 3 fases principales:

a) 1ª fase: las moléculas de combustible orgánico (glucosa, ácidos grasos y algunos aminoácidos) se oxidan para dar lugar a fragmentos de 2 átomos de carbono en forma de acetil-CoA,

b) 2ª fase: el acetil-CoA se incorpora al ciclo de Krebs donde son oxidados hasta CO<sub>2</sub>. La energía liberada de esta oxidación se conserva en los portadores de electrones reducidos NADPH y FADH<sub>2</sub>.

c) 3ª fase: estos cofactores reducidos son a su vez oxidados, liberando protones y electrones. A continuación se produce la transferencia de electrones a lo largo de la cadena respiratoria hacia el O<sub>2</sub> que al reducirse da lugar a H<sub>2</sub>O. Durante este proceso de transferencia de electrónica se libera una gran cantidad de energía que se conserva en forma de ATP gracias a la fosforilación oxidativa.

\* Producción de acetato: una vez que el piruvato se encuentra en la matriz mitocondrial existe un complejo enzimático denominado COMPLEJO PIRUVATO DESHIDROGENASA que cataliza la DESCARBOXILACIÓN OXIDATIVA DEL PIRUVATO hasta acetil-CoA.



(PIRUVATO) (ACETIL-CoA)

\* En los seres aeróbicos, la glucídica, ácidos grasos y la mayor parte de los aminoácidos son oxidados finalmente a CO<sub>2</sub> y agua a través del ciclo de Krebs. Antes de poder entrar en el ciclo, los esqueletos carbonados deben de sufrir un proceso de degradación para dar lugar al acetil-CoA, forma en que el ciclo de Krebs acepta la mayor parte del combustible aportado.

\* El piruvato, procedente de la glucólisis, se oxida para dar lugar a acetil-CoA y CO<sub>2</sub> a consecuencia del complejo piruvato deshidrogenasa que está formada por 3 enzimas y localizada en las mitocondrias. En este complejo participan las formas activas de varias vitaminas: tiamina (B1, en forma de pirofosfato de tiamina), riboflavina (B2, como FAD), nicotinamida (B3, como NADH), ácido pantoténico (B5, como CoA)

RENDIMIENTO ENERGÉTICO: 1 NADH mitocondrial (3 ATP); 6 ATP por molécula de glucosa.

La reacción global llevada a cabo por el complejo piruvato deshidrogenasa es la descarboxilación oxidativa, proceso de oxidación irreversible en el que el piruvato pierde un grupo carboxilo en forma de molécula de CO<sub>2</sub> y los 2 carbonos restantes se transforman en el grupo acetilo del acetil-CoA.

Para que ocurra la deshidrogenación combinada con la descarboxilación del piruvato hasta acetil-CoA se necesita de 3 enzimas diferentes y 5 coenzimas distintos procedentes de 4 vitaminas.

Mutaciones o déficit de tiamina en la dieta van a tener consecuencias graves sobre el organismo por alteración de la piruvato deshidrogenasa (beri-beri o síndrome de Wernicke-Korsakoff).

PIRUVATO (3C)

HSCoA NAD<sup>+</sup>

Complejo

Piruvato

Deshidrogenasa NADH

CO<sub>2</sub>

Acetil-CoA (2C)

## CICLO DE KREBS

\* En la época dorada de la enzimología y gracias a las aportaciones de científicos como los Premios Nobeles Severo Ochoa y sobre todo Hans Krebs, desde 1948 se conoce el funcionamiento de este ciclo, las enzimas que participan y su localización en la matriz mitocondrial, excepto la succinato deshidrogenasa que forma parte de la membrana interna mitocondrial.

\* El ciclo de Krebs fue denominado también ciclo del ácido cítrico o de los ácidos tricarboxílicos ya que después de ser postulado por Krebs durante algunos años no se conocía con seguridad si era el citrato o algún otro ácido tricarboxílico, el primer producto formado en la reacción del oxalacetato y piruvato.

\* El ciclo de Krebs es la vía principal de oxidación de los glúcidos en el músculo y en casi la totalidad de tejidos aeróbicos de animales y plantas.

\* A diferencia de la glucólisis (secuencia lineal), la secuencia de reacción en este caso es cíclica.

El ciclo del ácido cítrico tiene 8 pasos:

1. FORMACIÓN DE CITRATO (6C). La primera reacción del ciclo es la condensación del acetil-CoA (2C) con oxalacetato (4C) para dar origen al citrato (6C) catalizado por la citrato sintasa. El CoA se recicla y sirve para una nueva descarboxilación oxidativa de otra molécula de piruvato por el complejo piruvato deshidrogenasa donde se generará otra molécula de acetil-CoA que podrá entrar en el ciclo.
2. FORMACIÓN DE ISOCITRATO (6C). Por medio de la enzima aconitasa se cataliza la transformación reversible de citrato en isocitrato.
3. OXIDACIÓN DEL ISOCITRATO A  $\alpha$ -CETOGLUTARATO (5C) Y CO<sub>2</sub>. Por la acción de la isocitrato deshidrogenasa se cataliza la descarboxilación oxidativa del isocitrato con pérdida de CO<sub>2</sub> y originando  $\alpha$ -cetoglutarato. El NAD<sup>+</sup> actúa como aceptor de electrones.
4. OXIDACIÓN DEL  $\alpha$ -CETOGLUTARATO A SUCCINIL-CoA (4C) Y CO<sub>2</sub>. Nueva descarboxilación oxidativa por la que el  $\alpha$ -cetoglutarato se convierte en succinil-CoA y pérdida de la 2ª molécula de CO<sub>2</sub> por acción del complejo  $\alpha$ -cetoglutarato deshidrogenasa (similar al complejo piruvato deshidrogenasa); el NAD<sup>+</sup> actúa de aceptor de electrones. El arsénico inhibe al complejo.
5. CONVERSIÓN DE SUCCINIL-CoA EN SUCCINATO (4C). El succinil-CoA se transforma en succinato por medio de la enzima succinil-CoA sintetasa y la energía liberada se utiliza para la síntesis de un enlace fosfoanhídrido de GTP o ATP.
6. OXIDACIÓN DEL SUCCINATO A FUMARATO (4C). El succinato es oxidado a fumarato por acción de

la flavoproteína succinato deshidrogenasa que en las células eucariotas se encuentra fuertemente unida a la membrana interna mitocondrial. El malonato, análogo del succinato, es un fuerte inhibidor competitivo de la succinato deshidrogenasa. El FAD<sup>+</sup> actúa como aceptor de electrones.

7. HIDRATACIÓN DEL FUMARATO Y PRODUCCIÓN DE MALATO (4C). Esta reacción está catalizada por la fumarasa.

8. OXIDACIÓN DEL MALATO A OXALACETATO (4C). Es la última reacción del ciclo de Krebs y es catalizada por la malato deshidrogenasa. El NAD<sup>+</sup> actúa como aceptor de electrones.

Gráfico Pág. 216.

\* Una vez producido el oxalacetato está listo para reaccionar con otra molécula de acetil-CoA y dar comienzo a una 2ª vuelta.

\* En cada vuelta del ciclo se produce la entrada de un grupo acetilo (2C) en forma de acetil-CoA y la salida de 2 moléculas de CO<sub>2</sub> además se utiliza una molécula de oxalacetato para formar citrato que luego se regenera y por tanto no se produce pérdida de oxalacetato.

\* 4 de los pasos de este proceso son oxidaciones en las que la energía de oxidación se conserva con gran eficiencia, mediante la formación de cofactores reducidos (NADH y FADH<sub>2</sub>) y aunque se genere sólo 1 molécula de ATP directamente por cada vuelta, estas oxidaciones van a posibilitar la formación de muchas moléculas de ATP mediante la fosforilación oxidativa.

Gráfico Pág 218.

Rendimiento energético de la glucólisis (generación lactato): 2 ATP.

Rendimiento energético de la glucólisis aeróbica: 38 ATP por cada molécula glucosa. Ello supone el 40% de la máxima energía teórica que se puede obtener de la oxidación completa de la glucosa ( $38 \times 30.5 = 1160$  de los 2840 kJ/mol).

Rendimiento del ciclo de Krebs: por cada acetil-CoA = 12 ATP.

Observaciones.

\* Las reacciones catalizadas por la citrato sintasa y la  $\alpha$ -cetoglutarato deshidrogenasa constituyen las etapas más irreversibles del ciclo.

\* la reacción catalizada por la succinil-CoA sintetasa proporciona suficiente energía para que se aproveche en la fosforilación de un GDP a GTP.

\* Prescindiendo de esa fosforilación a nivel de sustrato, la ecuación global de una vuelta de ciclo sería:  $1 \text{ CH}_3\text{-COSCoA} + 3\text{H}_2\text{O} + 3\text{NAD}^+ + 1 \text{ FAD} \rightarrow 2 \text{ CO}_2 + \text{HSCoA} + 3 \text{ NADH} + 3 \text{ H}^+ + 1 \text{ FAH}_2$ .

\* El factor más limitante en los seres humanos es su cantidad de oxalacetato, el cual opera unas 100 veces por minuto.

\* Las grasas (glicerol y ác. Grasos), cuerpos cetónicos, glúcidos y aminoácidos se convierten en acetil-CoA directamente o a través del piruvato. Por ello se considera al ciclo como una especie de HORNO METABÓLICO, capaz de quemar y producir energía usando como combustible a la mayor parte de los metabolitos.

- \* Diversas sustancias pueden inhibir el funcionamiento del ciclo. Fluorcitrato y fluorcetato bloquean a la aconitasa. Sales de arsénico, veneno, inhiben al complejo  $\alpha$ -cetoglutarato deshidrogenasa. El malonato, potente inhibidor de la respiración celular, bloquea la succinato deshidrogenasa por su semejanza con el sustrato.
- \* Existe una vía neoglucogénica en la que el oxalacetato se convierte en fosfoenolpiruvato y por ende en piruvato capaz de pasar a acetil-CoA lo que significa que el ciclo desempeña un papel catabólico hacia cualquier metabolito siguiendo la ruta: metabolito-intermedio del ciclo- oxalacetato-piruvato-acetilCoA-ciclo-CO<sub>2</sub>.
- \* De modo análogo, un metabolito transformable en intermedio del ciclo puede ser el punto de partida de procesos biosintéticos que partan de otro de los intermedios, lo que significa que el ciclo participa en procesos de BIOSÍNTESIS. Ello es útil en el caso de déficit de hidratos de carbono o aminoácidos.
- \* Existen mecanismos que permiten reponer los intermedios del ciclo a partir de precursores, lo que ayuda a un mejor funcionamiento del ciclo, sobre todo en situaciones catabólicas (las reacciones se denominan ANAPLETÓRICAS).
- \* El ciclo está sometido a control, retroregulación por medio de NADH Y ATP, que inhiben tanto a la isocitrato deshidrogenasa como a la  $\alpha$ -cetoglutarato deshidrogenasa. El oxalacetato también bloquea el paso de succinil-CoA a succinato y de succinato a fumarato y la citrato sintasa se inhibe de forma alostérica por citrato y ATP mientras que el acetil-CoA incrementa la KM hacia ese sustrato.

## IMPORTANCIA

- \* Un proceso cíclico de 8 pasos para la oxidación de un simple grupo acetilo de 2 átomos de carbono a CO<sub>2</sub> puede parecer innecesariamente complicado y contradictorio con el principio de máxima economía de la lógica molecular de las células vivas.
- \* El papel del ciclo de Krebs no se reduce a la oxidación exclusiva del acetato. Esta vía constituye el núcleo central del metabolismo intermedio. Es decir muchos productos finales de procesos catabólicos de 4 y 5 átomos de carbono entran en el ciclo y sirven como combustible.
- \* La versión de esta vía presente en organismos modernos es producto de la evolución, la mayor parte de la cual tuvo lugar antes de la aparición de los organismos aeróbicos.
- \* En organismos aeróbicos, el ciclo de Krebs es una vía anfibólica (es decir, se usa tanto en procesos anabólicos como catabólicos). Es decir, funciona no tan sólo en el catabolismo oxidativo de glúcidos, ácidos grasos y aminoácidos, sino que también genera precursores de muchas vías biosintéticas.
- \* Para finalizar decir que esta vía metabólica tiene una importancia que excede a su función en el metabolismo energético visto el nº de productos biosintéticos derivados de los intermediarios del ciclo de Krebs.

## Regulación

- \* El ciclo está regulado a 2 niveles:
  - a) Conversión del piruvato en acetil-CoA (complejo piruvato deshidrogenasa) y entrada de acetil-CoA en el ciclo (citrato sintasa). El piruvato no es la única fuente de acetil-CoA ya que se puede obtener de la oxidación de ác. Grasos y ciertos aminoácidos.

b) Reacciones de la isocitrato deshidrogenasa y de la  $\alpha$ -cetoglutarato deshidrogenasa.

\* 3 enzimas del ciclo de Krebs están sometidos a regulación: citrato sintasa, isocitrato deshidrogenasa y la  $\alpha$ -cetoglutarato deshidrogenasa. Cada uno de ellos puede actuar como paso limitante de la velocidad dependiendo de las circunstancias.

Gráfico Pág. 223

Gráfico Pág. 224

Gráfico Pág. 225

## TEMA 18. VÍA DE LAS PENTOSAS FOSFATO: FUNCIONES Y LOCALIZACIÓN CELULAR. REACCIONES ENZIMÁTICAS IMPLICADAS EN ESTA VÍA.

### INTRODUCCIÓN

\* Hacia 1950 existían suficientes evidencias de que los carbohidratos, en concreto la glucosa, podían ser catabolizados hasta CO<sub>2</sub> por una ruta diferente a la glucólisis. En los tejidos animales la mayor parte de la glucosa consumida se cataboliza vía glucólisis a piruvato para después oxidarse a través del ciclo de Krebs para obtener energía en forma de ATP.

\* Estas otras rutas catabólicas seguidas por la glucosa que conducen a productos especializados necesarios para la célula, constituyen parte del metabolismo secundario de la glucosa.

a) VÍA DE LAS PENTOSAS-FOSFATO.

b) RUTA DEL GLUCURONATO (producen ácido urónico y ascórbico).

### VÍA DE LAS PENTOSAS-FOSFATO

\* También denominada vía de las hexosas-monofosfato o del fosfogluconato.

\* Produce NADPH y ribosa-5 fosfato. El NADPH es un transportador de energía química en forma de poder reductor. En los mamíferos esta función es prominente en tejidos que llevan a cabo activamente la biosíntesis de ácidos grasos y esteroides. Una segunda función de la ruta es generar pentosas esenciales (D-ribosa) utilizada en la biosíntesis de los ácidos nucleicos.

\* La ruta comienza con la fosforilación de la glucosa hasta glucosa-6-fosfato. Las 2 etapas siguientes son deshidrogenantes catalizadas por la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y la 6-fosfogluconato deshidrogenasa obteniéndose en el inmediato paso de descarboxilación irreversible, la ribulosa-5-fosfato. A continuación una serie de enzimas catalizan de forma reversible diferentes intermedios metabólicos: triosas, tetrosas, pentosas, heptulosa y la ribosa-5-fosfato cuya síntesis es fundamental para la formación de nucleótidos y ácidos nucleicos.

Gráfico Pág. 229.

\* Aparte de la reacción con la hexocinasa, la única transformación considerada como irreversible es la de la descarboxilación.

\* Resultado neto: producción de NADPH (reacciones biosintéticas reductoras) y ribosa-5-fosfato (precursor de la síntesis de nucleótidos). En los tejidos en los que se requiere principalmente NADPH más que

ribosa-5-fosfato, las pentosas fosfato se reciclan a glucosa-6-fosfato.

\* El interés principal de la producción de NADPH no es de tipo energético sino para que sea utilizado en las condiciones en que es preciso su aporte: biosíntesis de ácidos grasos, de esteroides, etc.

\* Diversos fallos (> 100) en la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa se traducen en carencias eritrocitarias de NADPH productoras de patologías más o menos graves acompañadas de ANEMIAS HEMOLÍTICAS (fabismo).

\* En el hepatocito, la ruta de las pentosas-fosfato llega a alcanzar un 35% del catabolismo total de la glucosa y por su complementariedad con la síntesis de ácidos grasos, esteroides y ácidos nucleicos juega un protagonismo notable en el tejido adiposo, testículos, corteza adrenal, glándula mamaria, etc. siendo su actividad casi nula en tejidos muy aerobios como el músculo cardíaco o el esquelético.

## RUTA DEL GLUCURONATO

(Otra ruta secundaria de la glucosa)

\* Esta ruta lleva a 2 productos especializados: D-glucuronato, importante en la detoxificación y excreción de compuestos orgánicos foráneos y ácido ascórbico o vitamina C,

\* La ruta del glucuronato es una nueva posibilidad para el catabolismo de la glucosa a través de su conversión en ácido glucurónico. A partir de uno de los intermedios, el L-gulonato, muchos seres vivos (pero no el hombre, los primates ni algunos otros animales), sintetizan el ácido ascórbico o vitamina C. En la ruta existe una etapa descarboxilativa sobre el 3-cetogulonato y al final se llega hasta xilulosa-5-fosfato, que era uno de los intermedios de la vía de las pentosas-fosfato, por lo que utilizando esta última vía se puede cerrar el ciclo llegando al punto de partida, la glucosa.

\* Aunque la cantidad de glucosa que se desvía hacia esta ruta secundaria es muy pequeña en comparación con la de la glucólisis y ciclo de Krebs, los productos son vitales para el organismo.

\* Su principal importancia en la especie humana radica en la capacidad de producir UDP-glucuronato que es el precursor de heteropolisacáridos como condroitín sulfato, ácido hialurónico y heparina además de UDP-glucuronato mediante la enzima UDP-glucuronil transferasa se transforma en ácido glucurónico (sustancia que interviene en la solubilización y salida urinaria de sustancias como la bilirrubina, diversos catabolitos esteroides, morfina, ácido salicílico. También actúa sobre toxinas ambientales y carcinógenos).

La glucosa-1-fosfato se convierte en UDP-glucosa por reacción UTP. La UDP-glucosa se deshidrogena y da lugar al UDP-glucuronato. La conjugación con ácido glucurónico (glucuronidación) hace que los compuestos sean fácilmente eliminados de la sangre por los riñones al ser excretados por la orina. El UDP-glucuronato es el precursor de los polisacáridos hialurónico y condroitín. El hombre, conejillo de indias, mono, peces y pájaros no pueden producir a partir del UDP-glucuronato, el ácido ascórbico por déficit de la enzima gulonolactona oxidasa y por tanto requieren su ingestión con la dieta en forma de vitamina C.

El déficit de vitamina C produce el escorbuto (scurbutus) con importantes trastornos del colágeno.

## TEMA 19. GLUCONEOGÉNESIS: IMPORTANCIA FISIOLÓGICA Y LOCALIZACIÓN CELULAR. BIOSÍNTESIS DE GLUCOSA A PARTIR DE PIRUVATO. REGULACIÓN.

### GLUCONEOGÉNESIS.

(RUTA PARA LA SÍNTESIS DE GLUCOSA)

\* Las rutas anabólicas utilizan la energía química en forma de ATP y NADH o NADPH para sintetizar componentes celulares a partir de moléculas precursoras sencillas (son rutas divergentes y reductoras).

\* 1º principio: la ruta utilizada en la síntesis de una Biomolécula es diferente de la ruta seguida en su degradación. Aunque puedan las 2 rutas opuestas compartir muchas reacciones reversibles siempre hay al menos un paso enzimático distintivo de cada ruta. Si las reacciones catabólicas y anabólicas estuviesen catalizadas por los mismos enzimas actuando de forma reversible, el flujo de carbonos estaría dictado sólo por la ley de acción de masas y no por las necesidades cambiantes de la célula con respecto a energía, precursores o macromoléculas.

\* 2º principio: las correspondientes rutas anabólicas y catabólicas están controladas por enzimas reguladores diferentes. Estas rutas opuestas están reguladas de forma coordinada y recíproca de modo que la estimulación de la ruta biosintética va acompañada de la inhibición de la ruta degradativa y viceversa.

\* 3º principio: los procesos energéticos que requiere energía están acomodados a rotura productora de energía del ATP de tal forma que el proceso global es prácticamente irreversible in vivo.

\* La gluconeogénesis (formación nueva de azúcar) conduce a la formación de diferentes glúcidos a partir de precursores no glucídicos en tejidos animales

\* Muchas células utilizan la glucosa como sustrato primario: cerebro, eritrocitos, médula suprarrenal, cristalino, córnea, testículos, etc. el cerebro consume 120 gr/día de glucosa y la glucemia tiene un valor de 1 gr/L. Las reservas hepáticas de glucógeno destinadas a regular la glucemia tienen una capacidad de unos 100 gr, lo cual supondría un grave problema tras un periodo de varias horas de ayuno si no existiesen mecanismos apropiados de síntesis de los mismos a partir de precursores.

\* La gluconeogénesis es una ruta universal que se encuentra en todos los animales, plantas y microorganismos y se puede efectuar desde diversos intermedios. En un ayuno prolongado de varios días, la cantidad mínima de glucosa consumida es de unos 50 gr/día que se originan por gluconeogénesis, la mitad a partir del glicerol de las grasas (los ácidos grasos no son neoglucogénicos) y la otra mitad de los aminoácidos proteínicos glucogénicos.

\* Los precursores importantes de la glucosa en los animales son: LACTATO, PIRUVATO, GLICEROL y la mayoría de AMINOÁCIDOS.

\* la gluconeogénesis tiene lugar en el HÍGADO y en menor extensión en la CORTEZA RENAL.

\* Si la conversión glucolítica de la glucosa en piruvato es la ruta central del catabolismo glucídico, la conversión del piruvato en glucosa es una ruta central en la biosíntesis de glúcidos. NO son idénticas ambas rutas, aunque comparten 7 de las 10 reacciones, en sentido inverso de las reacciones glucolíticas. Por tanto, glucólisis y gluconeogénesis son procesos irreversibles en las células estando reguladas independientemente.

\* Existen 3 pasos de la glucólisis que son irreversibles in vivo y que no puede utilizar la gluconeogénesis por lo que es necesario los rodeos:

a) Conversión de glucosa en glucosa-6-fosfato (hexoquinasa).

b) Fosforilación de la fructosa-6-fosfato a fructosa-1,6-bifosfato por la fosfofructocinasa.

c) Conversión del fosfoenolpiruvato en piruvato por la piruvato cinasa.

1º RODEO



\* La primera reacción de rodeo es la conversión de piruvato en fosfoenolpiruvato y no puede ser por inversión de la reacción de piruvato cinasa al ser irreversible.

\* Requiere de la participación de enzimas tanto del citosol como de las mitocondrias.

\* PRECURSOR GLUCONEOGÉNESIS: Piruvato, alanina o lactato.

\* El piruvato es transportando desde el citosol a la mitocondria o se genera dentro de ella por desaminación de alanina.

\* A continuación, la PIRUVATO CARBOXILASA, enzima mitocondrial que requiere biotina, convierte el piruvato en oxalacetato. La actividad de la piruvato carboxilasa, 1º enzima regular de la gluconeogénesis, es intensa en los órganos neoglucogénicos, fundamentalmente hígado y riñón. El acetil-CoA es un efector positivo.

FOSFOENOLPIRUVATO

CO<sub>2</sub> GDP

Fosfoenolpiruvato

Carboxicina GTP

Mg<sup>++</sup>

OXALACETATO

Malato

Deshidrogenasa NADH

Citosólica NAD<sup>+</sup>

MALATO

Citoplasma

MALATO

Malato

Deshidrogenasa NAD

NADH

OXALACETATO

Piruvato

ADP

Carboxilasa Acetil-CoA ATP

CO<sub>2</sub>

PIRUVATO

Alanina

Alanina

PIRUVATO

\* El oxalacetato formado a partir del piruvato en la mitocondria se reduce reversiblemente a malato mediante la malato deshidrogenasa mitocondrial a expensas de NADH.

\* A continuación el malato abandona la membrana interna mitocondrial vía transportador de malato–cetoglutarato (lanzadera mitocondrial del malato).

\* En el citosol el malato se reoxida a oxalacetato con producción de NADH citosólico.

\* El oxalacetato se convierte en fosfoenolpiruvato por medio de la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa, reacción dependiente de magnesio en la que el GTP es el dador de fosfato. Esta reacción es reversible en las condiciones intracelulares. Se va a producir una descarboxilación del oxalacetato.

\* El hecho de que el oxalacetato sea un intermedio neoglucogénico significa que el resto de intermedios del ciclo de Krebs también son neoglucogénicos ya que se pueden convertir todos en oxalacetato.

Cuando el lactato es el precursor gluconeogénico predomina un 2º rodeo, más corto, del piruvato a fosfoenolpiruvato. Esta ruta utiliza el lactato producido en la glucólisis en los eritrocitos o músculo. La conversión del lactato en piruvato en el citosol de los hepatocitos produce NADH, por lo que la exportación de malato desde la mitocondria ya no es necesaria. Una vez transportado el piruvato producido por la reacción de la lactato deshidrogenasa a la mitocondria, se convierte en oxalacetato por la piruvato carboxilasa. No obstante, este oxalacetato se convierte directamente en fosfoenolpiruvato por una forma mitocondrial de la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa. A continuación se transporta el fosfoenolpiruvato fuera de la mitocondria continuando en la ruta gluconeogénica.

2º RODEO

\* La conversión de fructosa–1,6–bifosfato en fructosa–6–fosfato constituye el 2º rodeo ya que la reacción catalizada por la enzima fosfofructoquinasa de la glucólisis era irreversible.

\* La generación de la fructosa–6–fosfato a partir de la fructosa bifosfato está catalizada por una enzima diferente llamada FRUCTOSA–1,6–BIFOSFATASA, dependiente de magnesio y por tanto promueve la hidrólisis prácticamente irreversible del fosfato.

FRUCTOSA–6–FOSFATO

Pi

ATP

ADP

FRUCTOSA–1,6–BIFOSFATO

### 3º RODEO

\* La conversión de la glucosa-6-fosfato en la glucosa libre constituye el 3º rodeo y es la reacción final de la gluconeogénesis, la desforilación de la glucosa-6-fosfato para dar glucosa libre ya que la reacción de la hexoquinasa de la glucólisis es irreversible.

\* La generación de la glucosa está catalizada por otra enzima diferente que es la GLUCOSA-6-FOSFATASA, dependiente de magnesio y que se encuentra en el retículo endoplásmico de los hepatocitos. La glucosa-6-fosfatasa no se encuentra en músculo o cerebro por lo que la gluconeogénesis no se da en estos tejidos. Por ello la glucosa producida por la gluconeogénesis en el hígado o ingerida con la dieta se envía al cerebro y al músculo a través de la sangre.

### GLUCOSA

Pi

ATP

ADP

### GLUCOSA-6-FOSFATO

Por cada molécula de glucosa formada a partir de 2 piruvatos o lactatos se requiere de 2 ATP (piruvato carboxilasa), 2 GTP (fosfoenolpiruvato carboxicinasa) y 2 ATP (fosfoglicerato cinasa) = 6 ATP, aparte del consumo de 2 NADH para la reducción de 2 moléculas de 1,3-bifosfoglicerato que en el caso de lactato se gana 2 NADH.

Gráfico Pág 242.

\* La ruta biosintética de la glucosa permite la síntesis neta de glucosa no sólo desde piruvato sino también desde los intermediarios del ciclo de Krebs ya que todos se pueden oxidar dando oxalacetato. Sólo 3 átomos de carbono del oxalacetato se convierten en glucosa ya que el cuarto se libera en forma de CO<sub>2</sub> en la conversión de oxalacetato en fosfoenolpiruvato por la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa.

\* Los aminoácidos glucogénicos (18 de los 20) pueden experimentar una conversión neta en glucosa a través del ciclo de Krebs.

\* No hay conversión neta de los ácidos grasos en glucosa debido a que tales ácidos sólo dan acetil-CoA al ser degradados y de acetil-CoA no se produce deshidrogenasa. Sin embargo la oxidación de los ácidos grasos aportan ATP y NADH a la gluconeogénesis.

Gráfico Pág. 243

### REGULACIÓN.

\* La glucólisis y la gluconeogénesis ofrecen posibilidades de control a fin de garantizar eficazmente en cada momento que se realice la ruta necesaria en la cuantía precisa.

\* Las mejores posibilidades reguladoras corresponden a 3 enzimas que catalizan las reacciones glicolíticas más irreversibles así como a las enzimas gluconeogénicas que se utilizan para efectuar el camino inverso, lo que constituye, en cada caso, un llamado ciclo de sustrato o ciclo fútil, estas 3 combinaciones:

- a. Hexocinasa /glucosa-6-fosfatasa.
- b. 6-fosfofructocinasa /fructosa-1,6-bifosfatasa.
- c. Piruvato cinasa/piruvato carboxilasa + fosfoenol-piruvato carboxicinas.

Gráfico Pág 244.

## REGULACIÓN GLICÓLISIS Y NEOGLUCOGÉNESIS

Principales enzimas protagonistas de la regulación de la glicólisis y la neoglucogénesis:

- Hexocinasa. Existen 4 isoenzimas de la cual la hexocinasa IV o glucocinasa a diferencia de las otras es sólo hepática siendo su Km para glucosa muy alta y es inducida por insulina.
- Fosfofructocinasa
- Piruvato cinasa
- Lactato deshidrogenasa
- Piruvato carboxilasa
- Fosfoenolpiruvato carboxicinas
- Fosfoenolpiruvato carboxicinas
- Fructosa-1,6-bifosfatasa
- Glucosa-6-fosfatasa

TEMA 20. METABOLISMO DEL GLUCÓGENO. DEGRADACIÓN DEL GLUCÓGENO: GLUCÓGENO FOSFORILASA. BIOSÍNTESIS DEL GLUCÓGENO: GLUCÓGENO SINTASA. REGULACIÓN.

### GLUCÓGENO: RESERVA METABÓLICA ENERGÉTICA

\* Debido a que las células musculares no poseen actividad glucosa-6-fosfatasa impide que desempeñen un papel significativo en el mantenimiento de la glucemia, siendo el glucógeno muscular menos dependiente que el hepático respecto a las variaciones en la ingesta de glúcidos.

\* ¿Por qué no se guarda la glucosa como tal, en el interior de la célula, en lugar de convertirla en glucógeno? Hemos comentado que la reserva hepática de glucógeno es de 100 gramos con un comportamiento inerte. Lo mismo, en forma de glucosa, equivale a una concentración 60.000 veces superior a la de glucógeno y 100 veces mayor que la glucemia normal lo que equivaldría a una actividad osmótica inviable para la célula.

\* ¿Cuáles son las ventajas de las reservas de glucógeno?

1. La glucosa pierde muy poca capacidad energética al almacenarse como polisacárido (consume 2 ATP, un 5% del potencial global energético).

2. A cambio de esa pequeña pérdida energética, las ventajas son obvias:

- Las grasas no son adecuadas para controlar la glucemia (catabolismo lento inadecuado para las urgencias)
- Ciertas células, como las neuronas, consumen y metabolizan glucosa preferentemente.
- En condiciones de limitación de disponibilidad de O<sub>2</sub>, las grasas no puede ser catabolizadas ni suministrar energía.

### GLUCÓGENO-SÍNTESIS Y GLUCÓGENO-LÍISIS

Los nucleótidos-azúcar son los sustratos para la polimerización a disacáridos, glucógeno, almidón, celulosa, etc.

El papel de los nucleótidos-azúcar (en especial de la UDP-glucosa) en la biosíntesis de glucógeno fue descubierto por Luis Leloir.

Punto de inicio de la síntesis de glucógeno es la glucosa-6-fosfato (puede provenir de la glucosa libre por la reacción de la (hexoquinasa en el hígado o glucocinasa en el músculo) con el consumo de 1 ATP o la glucosa es captada por el eritrocito convirtiéndola en lactato que a su vez es captado por el hígado y convertido en glucosa-6-fosfato mediante la gluconeogénesis.

Para iniciar la síntesis de glucógeno, la glucosa-6-fosfato se convierte de forma reversible en glucosa-1-fosfato por la fosfoglucomutasa.

Gráfico Pág 250

La formación de UDP-glucosa (UDPG) por acción de la UDPG-pirofosforilasa es una reacción clave en la biosíntesis de glucógeno.

UDPG es un intermedio en la conversión de galactosa en glucosa. Es el dador inmediato de restos de glucosa en la formación enzimática del glucógeno por acción de la glucógeno sintasa.

La glucógeno sintasa no puede formar los enlaces (  $\alpha$ -1,6) que se encuentra en los puntos de ramificación del glucógeno por lo que es preciso la enzima ramificante (amilo transglucosilasa).

La glucógeno sintasa y la glucógeno fosforilasa están reguladas de forma recíproca por el ciclo fosforilación-desfosforilación: cuando se estimula una se inhibe a la otra.

## ENZIMAS DEL METABOLISMO DEL GLUCÓGENO

1. GLUCÓGENO FOSFORILASA: en presencia de fosfato, hidroliza un enlace glicosídico y libera la glucosa en forma de glucosa-1-fosfato. Reacción muy reversible. El hecho de que se forme un compuesto fosforilado ayuda a su atrapamiento intracelular. A la molécula resultante del glucógeno tras la actuación de la glucógenos fosforilasa se le denomina dextrina límite.

2. ENZIMA DESRAMIFICANTE: AMILO-1,6-GLUCOSIDASA. Esta enzima posee 2 centros catalíticos y por tanto cataliza 2 reacciones diferentes cuando actúa sobre moléculas tipo dextrina límite. 1º exhibe una función glucosiltransferasa y la 2º reacción es hidrolítica.

3. GLUCÓGENO SINTASA: esta enzima añade moléculas individuales de glucosa activadas previamente en forma de uridín difosfato-  $\alpha$ -D-glucosa o UDPG. El UDPG se forma a partir de glucosa-1-fosfato (que puede derivar de la glucosa-6-fosfato, mediante la fosfoglucomutasa) y UTP, en una reacción catalizada por la enzima UDPG-pirofosforilasa.

4. ENZIMA RAMIFICANTE: para conseguir la ramificación final del glucógeno existe esta enzima que ejerce su función sobre una cadena glicosídica de al menos 9 unidades de glucosa de longitud.

## METABOLISMO DEL GLUCÓGENO

\* Las 2 principales enzimas del metabolismo del glucógeno (glucógeno fosforilasa y sintasa) se caracterizan por poseer varias subunidades, ser modificables alostéricamente, así como sufrir fosforilaciones/desfosforilaciones regulables por vía hormonal. Los papeles del glucógeno muscular y

hepático son diferentes (en el hígado, control de los niveles de glucemia y en el músculo, lo relativo con la energía).

Tabla: Moduladores del metabolismo del glucógeno en el hígado y músculo.

|           | HÍGADO                                       | MÚSCULO                    |
|-----------|----------------------------------------------|----------------------------|
| Efectores | Glucosa                                      | ATP, AMP, G-6-P, glucógeno |
| Calcio    | Adrenalina (receptor $\alpha_1$ adrenérgico) | Calmodulina                |
| Hormonas  | Glucagón, insulina                           | Adrenalina, insulina       |

\* Mientras que la forma fosforilada de la glucógeno fosforilasa es la activa, en el caso del glucógeno sintasa sucede lo contrario, por lo que, de este modo, a través de la modulación de la fosforilación/desfosforilación, lo que favorezca a una de las vías tenderá a desfavorecer a la otra.

Si se favorece (desfavorece) la fosforilación de las enzimas glucógeno fosforilasa y glucógeno sintasa se dificulta (facilita) globalmente su desfosforilación, a través del sistema del inhibidor, el resultado final es que aumenta (disminuye) la glucógeno-lisis y se detiene (incrementa) la glucógeno-síntesis.

Gráfico Pág 254

\* El equilibrio entre síntesis y degradación de glucógeno en el hígado está controlado por las hormonas glucagón e insulina. La adrenalina tiene efectos similares a los del glucagón, pero su diana es principalmente el músculo mientras que la acción primaria del glucagón es sobre el hígado.

Efectos del glucagón, adrenalina e insulina sobre metabolismo glucídico en mamíferos.

|                    | GLUCAGÓN         | ADRENALINA       | INSULINA                        |
|--------------------|------------------|------------------|---------------------------------|
| FUENTE             | Cél. pancreática | Médula adrenal   | Cél pancreática                 |
| DIANA PRIMARIA     | Hígado           | Músculo > Hígado | Músculo, hígado, tejido adiposo |
| EFFECTOS SOBRE EL: |                  |                  |                                 |
| AMPc               | !                | !                | !                               |
| GLUCONEOGÉNESIS    | !                | !                | !                               |
| GLUCÓLISIS         | !                | !                | !                               |

## UNIDAD VI: ESTRUCTURA Y METABOLISMO DE LOS LÍPIDOS

### TEMA 21. LÍPIDOS: CONCEPTO, CLASIFICACIÓN Y FUNCIONES.

#### ÁCIDOS GRASOS: ESTRUCTURA Y PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS.

#### TRIACILGLICEROL, GLICEROFOSFOLÍPIDOS Y ESFINGOLÍPIDOS:

#### ESTRUCTURA, PROPIEDADES Y SIGNIFICACIÓN BIOLÓGICA.

#### CONCEPTO Y FUNCIONES GENERALES.

\* Los lípidos son un grupo heterogéneo de Biomoléculas cuya característica común es que son hidrofobos lo cual hace insoluble en agua y solubles en solventes orgánicos como cloroformo, acetona, etc.

\* En muchos organismos, las grasas y los aceites son las formas principales de almacenamiento energético mientras que los fosfolípidos y esteroides constituyen parte de la estructura de las membranas celulares.

\* Las funciones biológicas de los lípidos son muy variadas debido a su heterogeneidad estructural. Van a jugar papeles cruciales como cofactores enzimáticos, transportadores electrónicos, agentes emulsionantes, hormonas y mensajeros intracelulares. De un modo simplificado, entre sus funciones están:

- a. Reserva energética.
- b. Componentes de membranas y aislantes.
- c. Lubricantes y protectoras.
- d. Hormonales.
- e. Emulsionantes.
- f. Reguladores del metabolismo celular y de funciones celulares específicas.

## CLASIFICACIÓN

\* LOZANO los clasifica en 4 grandes grupos:

a) **LÍPIDOS SIMPLES:** formado por las unidades (ácidas o alcohólicas) estructurales, los ésteres simples de éstas y los derivados relacionados con las unidades ácidas:

- Unidades no esterificadas: ácidos y alcoholes grasos.
- Ésteres de las unidades anteriores: mono, di y triacilglicerol o grasas neutras.
- Derivados ácidos de importancia funcional: prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos (ICOSANOIDES).

b) **LÍPIDOS COMPLEJOS:** formado por ésteres en los que participan otros elementos además de las unidades básicas.

- Fosfolípidos: presencia de un grupo fosfato. Según el alcohol que contenga, se clasifica en 2 grupos: fosfoacilglicérido y esfingomielina.
- Glicolípidos: poseen esfingosina (alcohol común) además contienen carbohidratos más o menos complejos. Existen 3 tipos principales: cerebrósidos, globósicos y gangliósidos.
- Lípidos conjugados con macromoléculas: lipoproteínas y lipopolisacáridos.

c) **LÍPIDOS ISOPRENOIDES O INSAPONIFICABLES.** El isopreno es un hidrocarburo con tendencia a polimerizar para dar una gran variedad de compuestos más o menos hidrófobos y sin enlaces éster. Estos lípidos son: terpenos, esteroides, tocoferoles, poliprenilquinonas y retinoides y carotenoides.

d) **OTROS LÍPIDOS:** grupo formado por lípidos generalmente saponificables. Entre ellos: ésteres de

colesterol, de vitamina A y vitamina D; plasmalógenos y éteres glicéridos; e hidrocarburos alifáticos (existentes en hígados grasos).

## UNIDADES BÁSICAS: ÁCIDOS GRASOS.

\* Las grasas y aceites, utilizados como formas de almacenamiento de energía en los organismos vivos, son compuestos muy reducidos derivados de los ácidos grasos.

\* Los ácidos grasos son derivados hidrocarbonados a un nivel de oxidación tan bajo como el de los hidrocarburos de los combustibles fósiles, por ello, la oxidación completa de los ácidos grasos a CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O en las células, es muy exergónica (como la oxidación explosiva de los carburantes de motor).

\* Los ácidos grasos (lípidos, más sencillos) son ácidos orgánicos monocarboxílicos de cadena lineal, con un n° de átomos de carbono entre 2 y 26. Existen más de 100 diferentes, pero los más importantes que suponen > 95% del total encontrado en grasas vegetales y animales, son solamente 9: 4 saturados y 5 insaturados. Los más abundantes son el ácido PALMÍTICO y el ácido OLEICO.

\* Los ácidos grasos pueden ser:

a) SATURADOS (SAFA): cuando la cadena no contiene ningún doble enlace.

b) INSATURADOS: cuando poseen 1 o más dobles enlaces.

– MONOINSATURADOS (MUFA): si solo presentan 1 sólo doble enlace.

– POLIINSATURADOS (PUFA): los que contienen 2 ó más dobles enlaces.

\* Según la longitud de la cadena se dividen en:

a. Cadena corta: de 2 a 4 átomos de carbono.

b. Cadena media: de 6 a 10 átomos de carbono.

c. Cadena larga: de 12 a 26 átomos de carbono.

\* Los ácidos grasos se abrevian con la notación ( i,j) C m n . La letra griega  $\Delta$  es opcional e indica que el ácido es insaturado; los superíndices indican las posiciones de las insaturaciones (existen tantos superíndices como dobles enlaces). Los subíndices m:n señalan el n° total de carbono y de insaturados. Los átomos de carbono de un ácido graso se numeran desde el grupo carboxilo (delta:  $\Delta$ ) o desde el átomo de carbono más alejado del grupo carboxilo (omega:  $\omega$ ).

Gráfico Pág 260.

\* Ácidos grasos saturados (SAFA): acético 2:0; butírico 4:0; capríico 10:0; láurico 12:0; mirístico; palmítico; esteárico; araquídico; behénico 22:0; lignocérico 24:0 y cerótico 26:0.

\* Ácidos grasos poliinsaturados (PUFA): palmitoleico; oleico; linoleico; linolénico y araquidónico. También tenemos 2 PUFA que son aceites de pescado: EPA (eicosapentaenoico; 20:5) y el DHA (docosahexaenoico; 22:6) que son representantes junto al linolénico de los omega-3

\* La oxidación de los enlaces insaturados de los ácidos grasos por el O<sub>2</sub> se conoce con el nombre de peroxidación lipídica.



\* Las propiedades más importantes y comunes de los ácidos grasos son:

a. N° de carbonos siempre es par (ello es debido a su síntesis).

b. Cuando son PUFA, los dobles enlaces nunca son conjugados sino que se sitúan alejados tres eslabones de la cadena. Además los dobles enlaces siempre tiene la configuración CIS existiendo solo trozos de los isómeros TRANS. Los trans (Ej: ácido eláídico es el trans del oleico) tiene efectos perjudiciales sobre la salud.

c. A igualdad de átomos de carbono, los insaturados cis tienen temperaturas de fusión menores que los trans y éstos ligeramente menores que los saturados (por ello las grasas animales suelen ser sólidas y los aceites y grasas vegetales, más ricas en insaturados, con líquidas a temperaturas ambiente).

R COO H COO

C = C C = C

H H R H

CIS TRANS

\* Según numeración omega, hay 4 clases de ácidos grasos insaturados:

a. Omega-7: palmitoleico.

b. Omega-9: oleico.

c. Omega-6: linoleico, araquidónico.

d. Omega-3: linolénico, EPA, DHA (aceites de pescado)

\* Un ácido graso de una clase no puede transformarse biológicamente en otra clase, es decir, el ácido araquidónico se sintetiza a partir del parenteral de la clase omega-6, ácido linoleico. Sin embargo ningún miembro de la clase del ácido linoleico (omega-6) puede convertirse en otro miembro de la clase omega-3.

\* Los 2 ácidos grasos esenciales que no puede biosintetizar el organismo son poliinsaturados: LINOLEICO, (omega-6, que se encuentra principalmente en las plantas) y LINOLÉNICO (omega-3, que se encuentra en el pescado).

\* Cuanto más larga sea la cadena grasa y menor n° de dobles enlaces, menor es la solubilidad en agua. A temperatura ambiente, los SAFA desde 12:0 a 24:0 tienen una consistencia cerosa mientras que los PUFA son líquidos oleosos. Los insaturados tienen puntos de fusión más bajos que los saturados. Los ácidos grasos libres circulan en sangre unidos a la albúmina.

\* Los alcoholes grasos son cadenas orgánicas de longitud variable que contiene 1 o más funciones de alcohol y no tienen tanta variedad como los ácidos grasos.

\* Según su abundancia se clasifican en 2 grupos:

a. Alcoholes de gran ubicuidad en lípidos: glicerol o glicerina que es el alcohol básico estructural de los acilglicéridos y los fosfoacilglicéridos y la esfingosina, alcohol básico estructural de las esfingomielinas y los glicolípidos.

b. Alcoholes de abundancia relativa en lípidos: son alcoholes de cadena larga y que se encuentra normalmente en las ceras entre los cuales destaca el alcohol cetílico, saturado y de 16 átomos de carbono. Otros son inositol, colina, etanolamina y el aminoácido serina que se encuentran habitualmente en los fosfoacilglicéridos.

Gráfico Pág. 264

## ÉSTERES DE ÁCIDOS GRASOS:

### ACILGLICÉRIDOS (TRIGLICÉRIDOS)

\* Este grupo de compuestos, también denominados aceites o grasas neutras, son ésteres del glicerol con ácidos grasos. Son las principales moléculas de reserva energética y su poder calorífico es muy superior al de carbohidratos y proteínas (más del doble).

\* Como la glicerina tiene 3 grupos hidroxilos, puede esterificarse con 1, 2 o 3 ácidos grasos, dando lugar a monoacilglicéridos (MAG), diacilglicéridos (DAG) y triacilglicéridos (TAG). En las grasas naturales, más del 99% son TAG. Por tanto, los lípidos más sencillos obtenidos a partir de los ácidos grasos son los triacilglicéridos, también denominados triglicéridos, grasas o grasas neutras.

\* Los triglicéridos están compuestos por 3 ácidos grasos en enlace éster con un solo glicerol. Los que tienen el mismo tipo de ácido graso en las 3 posiciones se denominan triglicéridos simples (trioleína, tripalmitina). Los triglicéridos mixtos son los que contienen 2 o más ácidos grasos diferentes y de esta forma es como habitualmente están en la naturaleza (Ej: 1-estearoil-2-oleil-3-palmitoil.glicerol).

\* Los triacilglicéridos son moléculas apolares, hidrofóbicas prácticamente insolubles en agua.

\* Los triglicéridos sirven como depósito de combustible metabólico y se localizan en los adipositos en forma de gotitas de grasa que casi no ocupan toda la célula. Tienen 3 funciones distintas:

a. Producción de energía: la grasa se oxida para generar ATP que impulse los procesos metabólicos.

b. Producción de calor: la grasa parda de los animales homeotermos (osos) oxidan los triglicéridos para producir calor en vez de ATP.

c. Aislamiento: animales que viven en entorno frío (focas), la capa de células adiposas bajo la piel sirven de aislante térmico.

\* El punto de fusión de los triglicéridos naturales disminuye cuando aumenta su contenido en ácidos grasos insaturados. Las oleínas son líquidas a temperatura ambiente y se les denomina ACEITES mientras que las palmitinas son sólidas y se les denomina GRASAS. Todas son insolubles en agua y su densidad es  $< 1$ , por ello flotan en solución acuosa.

\* La hidrogenación parcial de los aceites se utiliza comercialmente para producir grasas más sólidas como la margarina. Plantas y animales de sangre fría tienen TAG más ricos en ácidos grasos insaturados que los animales de sangre caliente para que sus tejidos sean más fluidos. En los seres humanos, los TAG subcutáneos son más líquidos que los protectores que recubren las vísceras.

\* Los TAG tienen 2 ventajas significativas sobre polisacáridos:

a. La oxidación de los TAG proporciona más de doble de energía.

b. Los TAG son hidrofóbicos y se almacenan sin hidratar.

\* El tejido graso se encuentra bajo la piel, cavidad abdominal y glándula mamarias. Las personas obesas pueden tener de 15 a 20 Kg de TAG depositados en sus adipositos, lo que es suficiente para cubrir las necesidades energéticas de varios meses (a diferencia de la de glucógeno que dura 1 día).

\* Las ventajas de los glúcidos son:

a. Fuentes rápidas de energía metabólica.

b. Fácil solubilidad en agua.

\* La exposición al oxígeno del aire de los alimentos ricos en grasas hace que se peroxidan (se enrancie) con un gusto y olor desagradable debido a la rotura oxidativa de los dobles enlaces de ácidos grasos insaturados. Los más insaturados se enrancian con más facilidad.

\* Los enlaces éster de los TAG pueden hidrolizarse, bien por lipasas (ácidos) o por álcalis (NaOH y KOH: sosa y potasa) para dar lugar a sus constituyentes y a esta reacción se le denomina SAPONIFICACIÓN (contraria a la esterificación) produciendo glicerol y las sales de Na y K de los ácidos grasos conocidas como jabones.

\* Los jabones actúan como detergentes por su gran tendencia a formar micelas. Los detergentes sintéticos como el SDS (dodecil sulfato sódico) tiene menos tendencia a la precipitación en agua dura por lo que han reemplazado a los jabones naturales en la industria.

\* Las lipasas catalizan la hidrólisis enzimática de los TAG a pH neutro y las lipasas intestinales colaboran en la digestión y absorción de las grasas de la dieta

\* Las ceras sirven como almacén de energía y como cubiertas impermeables al agua. Las ceras biológicas son ésteres de ácidos grasos de cadena larga saturados e insaturados (de 14 a 26 átomos de carbono) con alcoholes de cadena larga (de 16 a 30 átomos de carbono). Sus puntos de fusión (60 a 100°C) son generalmente más elevados que los de los TAG.

\* Las ceras también realizan diversas funciones que están relacionadas con sus propiedades repelentes del agua y con su consistencia firme. Ciertas glándulas de la piel secretan ceras para proteger el pelo y la piel manteniéndolos flexibles, lubricados e impermeables (pájaros y sobre todo aves acuáticas mantienen su repelencia al agua de sus plumas).

\* Las ceras biológicas tienen diversas aplicaciones en las industrias farmacéuticas y cosméticas. La lanolina (de la lana de oveja), la cera de abeja, la cera de carnauba (plamera brasileña) y el aceite de espumaceti (de las ballenas) se utilizan para fabricar lociones, ungüentos y pulimentos.

## CLASIFICACIÓN LÍPIDOS COMPLEJOS

a. FOSFOLÍPIDOS: la característica común es que tienen un grupo fosfato. Son los lípidos con fuerte carácter anfipático y diseñados para formar la bicapa lipídica de las membranas biológicas constituyendo una barrera al paso de moléculas polares e iones.

Dependiendo del alcohol presente en el fosfolípido existen 2 clases:

1. Fosfoacilglicéridos (glicerofosfolípidos): contienen glicerol esterificado en las posiciones 1 y 2 por 2 cadenas de ácidos grasos, un grupo fosfato esterificando la posición 3 y un alcohol unido a ese fosfato por un

enlace fosfodiéster. Por tanto, son ésteres de ácido L-fosfatídico.

2. Esfingomielinas (esfingolípidos): contienen como alcohol esfingosina en lugar de glicerol, además de un ácido graso, fosfato y colina. Es el único tipo de compuesto que contienen a la vez esfingosina y fosfato, por lo que pueden considerarse fosfolípidos. La unión de esfingosina y ácido graso en el C2 se denomina ceramida y es la unidad estructural de las esfingomielinas y todos los glucolípidos. Son abundantes en vainas de mielina.

b. GLICOLÍPIDOS: comparten con las esfingomielinas la unidad ceramida, pero carecen de fosfato y tiene el hidroxilo del C1 de la esfingosina unido por enlace glicosídico a un carbohidrato complejo. Son muy abundantes en las membranas del sistema nervioso central, sobre todo en la sustancia blanca.

## FOSFOACILGLICÉRIDOS

1. LECITINAS: abundantes en la yema de huevo con fines dietéticos y cosméticos. Algunas como la dipalmitoil-lecitina es el componente del agente tensoactivo pulmonar y su ausencia produce síndrome de distress respiratorio del recién nacido. Si la lecitina pierde el ácido graso del C2 se obtiene la lisolecitina que es un poderoso agente hemolítico (veneno de serpientes y arañas).

2. CEFALINAS: se obtuvieron de la masa encefálica por neuroquímico catalán Folch-Pi y existe también en otros tejidos como hígado. Las de etanolamina son más abundantes que las de serina.

3. CARDIOLIPINAS: son muy abundantes en la membrana mitocondrial del músculo cardíaco. Ricas en PUFA. Contiene 2 moléculas de ácido fosfatídico unidas a la molécula de glicerol.

4. FOSFATIDILINOSITOLES: función reguladora hormonal y menos abundante en las membranas biológicas.

Gráficos Pág. 270

## ESFINGOMIELINAS

\* La unión de esfingosina y ácido graso en el C2 se denomina ceramida y es la unidad estructural de las esfingomielinas y todos los glucolípidos.

\* Las esfingomielinas son especialmente abundantes en las vainas de mielina que recubren y aíslan las células de Schwann en el sistema nervioso.

\* Contienen como alcohol esfingosina en lugar de glicerol, además de un ácido graso, fosfato y colina. Por tanto, es el único tipo de compuesto que contienen a la vez esfingosina y fosfato, por lo que pueden considerarse fosfolípidos.

\* El C1 está esterificado con el grupo fosfato, que a su vez está esterificado por colina, como las lecitinas.

Gráfico Pág 271

## GLICOLÍPIDOS

De acuerdo con la naturaleza del carbohidrato, se clasifican en:

a. CEREBROSÍDOS: contienen sólo 1 monosacárido, generalmente D-galactosa.

- b. GLOBÓSIDOS: contienen un oligosacárido simple; el más abundante contiene simplemente lactosa.
- c. GANGLIÓSIDOS: contienen un oligosacárido complejo y ramificado, con enlaces glicosídicos diversos y siempre existe 1 o varias unidades de un azúcar ácido, el ácido N-acetil-neuramínico.
- d. SULFÁTICOS o SULFOLÍPIDOS: son los glicolípidos en los que el carbohidrato contiene a su vez ésteres sulfato.

## TEMA 22.

### ESTEROIDES: ESTRUCTURA, PROPIEDADES Y FUNCIONES.

### PROSTAGLANDINAS, TROMBOXANOS Y LEUCOTRIENOS: ESTRUCTURA Y ACCIONES FISIOLÓGICAS.

### LÍPIDOS DERIVADOS DEL ISOPRENO

El isopreno es el 2-metilbutadieno. El polímero mayor formado por unidades de isopreno es el caucho o látex, procedente de árboles como Hevea y algunos Picus. Además derivan del isopreno los:

A. TERPENOS: oligómeros lineales o cíclicos, formados por varias unidades de isopreno. Son hidrocarburos. El olor que presentan constituye el aroma de las plantas o frutos que los contiene. Su n° de átomos de carbono es siempre múltiplo de 5. Los más simples, los monoterpenos tienen 2 unidades isoprenoides como el geraniol o limoneno. Los diterpenos con 20 átomos de carbono y el más importante es el fitol (alcohol de clorofila). Entre los triterpenos se encuentra el escualeno (hidrocarburo obtenido del hígado de los escualidos) y precursores del colesterol. Finalmente citar los dolicoles que tienen entre 80 y 100 carbonos (16 a 20 unidades de isopreno) y sirven de transportador de Glicoproteínas.

Gráfico Pág. 275

B. ESTEROIDES: Es el más importante de los lípidos isoprenoides. Su estructura básica es tetracíclica y está formado por un anillo llamado ciclo pentanoperhidrofenantreno ya que es un ciclo pentano adosado a un núcleo de 3 anillos bencénicos (fenantreno) totalmente hidrogenado. El núcleo esteroide es casi plano y rígido. En una estructura esteroide existen varios carbonos asimétricos por lo que el n° de estereoisómeros es muy grande (Ej: en el colesterol 2° estereoisómeros posibles).

El colesterol es el principal esteroide en los animales, antipático, con un grupo de cabeza polar y un cuerpo apolar hidrocarbonato. Es la molécula pequeña más condecorada de la biología con 13 premios nobeles, aislándose por 1ª vez en 1784 de los cálculos biliares.

Gráfico Pág 276

El último Premio Nobel fue en 1985 por descubierto Brown y Goldstein el receptor de LDL por el cual se metaboliza el colesterol.

Los esteroides se clasifican según la estructura y función en:

1. Esteroles: contienen siempre un grupo alcohol al que deben su nombre. El más importante es el colesterol con un hidroxilo en posición 3, un doble enlace en posición 5 y una cadena hidrocarbonada de 8 carbonos en posición 17. constituyente de todas las células y precursor de ácidos biliares, vitamina D (el precursor, 7-deshidrocolesterol, se encuentra en la piel), corticosteroides y hormonas sexuales. Niveles elevados en sangre (hipercolesterolemia) se relaciona con la arteriosclerosis. El ergosterol y sitosterol son esteroles de las

plantas y ligeramente diferentes del colesterol.

Gráfico Pág 277

2. Familia vitamina D: se forman por acción de la luz UV sobre los esteroides. La vitamina D3 (colecalfiferol) se forma a partir del 7-deshidrocolesterol en la piel. De ella se forman otros derivados hidroxilados en posiciones C1 y C25 (vitamina activa). Regulan el metabolismo del calcio y el fosfato (formación y reabsorción ósea) por lo que su carencia ocasiona el RAQUITISMO con desmineralización de huesos y dientes.

3. Ácidos biliares: son una familia de 4 elementos que contienen como principal característica la existencia de un n° variable de grupos hidroxilo que le confiere su carácter antipático.

Gráfico Pág 278

Ácidos biliares, su función es la de emulsionar las grasas para facilitar la acción hidrolítica de enzimas digestivas como lipasas y esterases, acelerando la digestión intestinal. El ácido cólico es el más soluble por contener más grupos hidroxilo y el litocólico es el más insoluble y el que con más facilidad forma cálculos en la vesícula biliar. Los otros ácidos son el quenodesoxicólicos y desoxicólico.

4. Corticosteroides o adrenocorticoides que se forman en la corteza suprarrenal, a excepción de la progesterona que se forma en el cuerpo lúteo.

5. Hormonas sexuales: son de 2 tipos, masculinas o andrógenos y las femeninas o estrógenos. En ambos casos no existe cadena lateral sobre el C17. Representantes son la testosterona y el estradiol, respectivamente.

Gráfico Pág 279

#### C. OTROS LÍPIDOS ISOPRENOIDES:

\* Retinoides y carotenoides: caracterizados por la existencia de un anillo no aromático. Son los pigmentos principales de muchos frutos y hortalizas, sirviendo de fuente para los retinoides. Tienen 20C, existiendo retinoides (vitamina A), retinales y ácidos retinoicos. Se encuentran en el hígado, yema de huevo y la leche. Acción antioxidante, antineoplásica, participan en la visión y formación del tejido epitelial y son reguladores del crecimiento y la diferenciación celular.

\* Tocoferoles: destaca el  $\alpha$ -tocoferol o vitamina E. Son lípidos de acción antioxidante, neutralizan radicales libres y facilitan la respiración celular. Su carencia produce esterilidad y fragilidad de membranas, principalmente del sistema nervioso y los eritrocitos.

\* Poliprenilquinonas: contienen un anillo quinónico, a lo que deben sus características redox. Pertenecen a esta familia las plastoquinonas (plantas), ubiquinona o coenzima Q, de la cadena de electrones mitocondrial y la vitamina K que se encuentra en verduras o carne de pescado necesaria para la coagulación.

#### PROSTAGLANDINAS, TROMBOXANOS Y LEUCOTRIENOS

Los eicosanoides son derivados de ácidos grasos con una diversidad de acciones de tipo hormonal (no son hormonas ya que no son transportados por la sangre sino que actúan sobre el tejido en el que se producen) extremadamente potentes. Intervienen en: inflamación, fiebre, función reproductiva, dolor, formación de coágulos de sangre, regulación de la presión arterial y en la secreción gástrica.

Todos los eicosanoides provienen del ácido araquidónico, ácido graso poliinsaturado de 20C del que toman su

nombre general.

Hay 3 clases de icosanoides: PROSTANGLANDINAS, TROMBOXANOS Y LEUCOTRIENOS.

Gráfico Pág 281

## PROSTANGLANDINAS

\* Fueron aisladas por 1ª vez de la próstata y actualmente son importantes en Medicina por su ubicuidad y por sus múltiples efectos:

- Contracción del músculo liso (sobre todo útero).
- Disminución de la presión arterial.
- Participación en procesos como la inflamación.
- Inductores del parto.
- Inhibidores de la secreción gástrica en tratamiento de úlcera.
- Los AINES (aspirina) y esterorideos (cortisona) inhiben su síntesis y por tanto las prostanglandinas elevan la temperatura corporal dando fiebre e inflamación consiguiente.

\* La cantidad diaria sintetizada de prostanglandinas es de 1 mg teniendo efecto a muy bajas concentraciones y su Inactivación es muy rápida en el pulmón.

\* Todas las prostanglandinas son derivadas del ácido araquidónico y la familia de prostanglandinas se diferencian en los sustituyentes oxigenados sobre el anillo de ciclopentano. Existen 4 familias. PGE, PGF, PGA y PGB.

## TROMBOXANOS

\* Relacionadas con las prostanglandinas, en los vasos sanguíneos se producen unos derivados, las PROSTACICLINAS o PGI, que inhiben la agregación plaquetaria.

\* Por otra parte, en las plaquetas se producen otros derivados, los endoperóxidos PGG y PGH, que conducen a los tromboxanos, los cuales estimulan la agregación plaquetaria y la formación de trombos.

\* Los tromboxanos se aislaron por 1ª vez de las plaquetas (llamadas también trombocitos). Son producidos por las plaquetas y actúan en la formación de coágulos sanguíneos y en la reducción del flujo sanguíneo hacia el sitio del coágulo.

\* El más activo de los tromboxanos es el TXA2 que rápidamente pierde un puente de oxígeno para transformarse en el TXB2 inactivo.

## LEUCOTRIENOS

\* Encontrados por 1ª vez en los leucocitos. En Basófilos, Neutrófilos y macrófagos, el ácido araquidónico sufre otra transformación y origina los hidroperoxiácidos. Principal modificación se produce en posición 5 formando 5-HPETE (ácido 5-hidroperoxieicosatetraenoico). Este compuesto evoluciona a epóxido y constituye el 1º leucotrieno y precursor de los restantes, el LTA4. Los restantes: LTB4, LTC4, LTD4 y LTE4.

\* Los leucotrienos se nombran con las iniciales LT seguido de una letra mayúscula en orden alfabético y un subíndice indicando el nº de dobles enlaces (llama la atención que se denomine genéricamente trieno y todos tienen 4 dobles enlaces y lo que indica es que los 3 dobles enlaces conjugados son los absolutamente esenciales para la actividad biológica).

\* El LTB<sub>4</sub> tienen propiedades quimiotáxicas sobre los leucocitos y a la vez facilita la infiltración de estas células en las reacciones inflamatorias, estimula la adenilato ciclasa y la liberación de enzimas lisosomales.

\* Los LTC, D y E se denominan mediadores de hipersensibilidad inmediata, por su poderoso efecto constrictor del músculo liso en pulmón, tráquea e intestino y por el aumento de la permeabilidad vascular. Su reacción alérgica o anafilática es superior a histamina.

\* Los LT inducen la contracción del músculo que recubre las vías aéreas del pulmón y la sobreproducción de leucotrienos produce ataque asmáticos. La broncoconstricción severa que se produce en el shock anafilático tras picadura de abeja o fármacos es mediada por estos compuestos

## SEPARACIÓN Y ANÁLISIS DE LÍPIDOS.

1. Debido a la insolubilidad en agua de los lípidos para su extracción se requiere de la utilización de disolventes orgánicos como éter etílico, cloroformo o benceno. Los lípidos de membrana se extraen mejor con disolventes orgánicos más polares como etanol o metanol. Una solución extractiva muy utilizada es una mezcla de cloroformo, metanol y agua y los lípidos permanecen en el cloroformo y las moléculas más polares (proteínas, glúcidos) se sitúan en la fase polar de metano/agua.

2. Cromatografía de absorción separa los lípidos de polaridad diferente.

3. Cromatografía en capa fina sobre ácido silícico.

4. Cromatografía gas-líquido: separa las mezclas de derivados lipídicos volátiles. Se pueden separar mezclas de ácidos grasos con diferentes longitudes de cadenas y diversos grados de insaturación.

5. Hidrólisis específica por medio de fosfolipasas. Combinación de hidrólisis específica con cromatografía en capas finas o gas-líquido permite a menudo la determinación de la estructura de un lípido.

6. Espectrofotometría de masas de los lípidos o de sus derivados volátiles es la técnica más exacta para conocer la longitud de una cadena hidrocarbonada o la posición de los dobles enlaces.

## TEMA 23.

### DIGESTIÓN Y ABSORCIÓN DE LOS LÍPIDOS DE LA DIETA.

### FORMACIÓN DE QUILOMICRONES.

### TRANSPORTE DE LÍPIDOS EN EL PLASMA: LIPOPROTEÍNAS.

### INTRODUCCIÓN

1. El ser humano necesita del aporte continuado de una serie de compuestos orgánicos para el normal desarrollo y funcionamiento de sus tejidos.

2. Los alimentos de la dieta proporcionan proteínas, hidratos de carbono, grasas, minerales y vitaminas que el conjunto de células del organismo precisan para satisfacer sus requerimientos energéticos y de crecimiento.



3. Una dieta equilibrada va a estar compuesta por un 55–60% hidratos de carbono (4.2 kcal/g), 30% grasas (9.5 kcal/g) y 15% proteínas (4.3 kcal/g). Los 2 primeros van a suministrar moléculas que en su mayor parte tras ser catabolizadas van a suministrar parte de la energía en que el individuo consume. Sin embargo, las proteínas que aunque tenga un valor energético similar a los carbohidratos, su participación energética solo es del 15% ya que su función es fundamentalmente plástica. Sólo con el 1% de la ingesta de energía en forma de ácidos grasos esenciales sería suficiente para el requerimiento lipídico absoluto de la dieta.
4. Los requerimientos energéticos de un individuo van a depender de factores como son: peso, edad, género, circunstancias particulares (tipo de actividad, embarazo, convalecencia, etc).
5. Los hidratos de carbono solo pueden absorberse de forma monomérica. Los monosacáridos (glucosa, fructosa, galactosa, etc) son un porcentaje pequeño de los azúcares presentes en los alimentos siendo su forma mayoritaria las formas poliméricas de la glucosa tales como el almidón o el glucógeno o los disacáridos sacarosa y lactosa. Por tanto deben ser transformados en monosacáridos en un proceso previo a la absorción. La celulosa, pectinas, etc. que no puede ser degradadas por el aparato digestivo se eliminan por las heces (fibra vegetal).
6. Las proteínas deben ser transformadas en sus componentes unitarios, los aminoácidos, que son absorbibles por el intestino. Las proteínas que no pueden ser degradadas no se absorben y aparecen en las heces.
7. Los lípidos forman un grupo complejo de nutrientes en el que predominan los triacilgliceroles que constituyen el 90% de las grasas. Fosfolípidos, colesterol y ésteres de colesterol, ácidos grasos y vitaminas liposolubles completan la fracción lipídica de los alimentos. Para la absorción de los lípidos es necesaria la secreción biliar debido a su insolubilidad en agua.
8. En el ser humano es obligatorio ingerir nutrientes esenciales: la mitad de los aminoácidos proteicos, algunos ácidos grasos poliinsaturados, vitaminas y minerales.

## DIGESTIÓN

1. La gran mayoría de compuestos ingeridos sufren reacciones de transformación que consisten en la conversión de Biomoléculas de tipo polimérico en otras monoméricas más sencillas que pueden ser transportadas a la sangre por las células intestinales.
2. El conjunto de reacciones de degradación son procesos hidrolíticos exergónicos que se producen extracelularmente en la luz del aparato digestivo y se conoce con el nombre de DIGESTIÓN.
3. La digestión corre a cargo de:
  - \* **ENZIMAS DIGESTIVAS:** aceleran la velocidad de degradación de los materiales poliméricos en monoméricos. Estas enzimas son sintetizadas en células y glándulas especializadas en forma de zimógenos digestivos.
  - \* **COMPONENTES NO ENZIMÁTICOS:** presentes en las secreciones de diferentes glándulas digestivas que suministran los iones y pH adecuados para la actuación de las enzimas o que ayudan como es la bilis a solubilizar los lípidos para favorecer su digestión y absorción.
  - \* **PROCESOS FÍSICOS:** masticación o trituración de los alimentos y los movimientos de contracción del tubo digestivo.
  - \* **SISTEMA NERVIOSO Y ENDOCRINO:** coordinación entre tiempo de residencia del bolo alimenticio y el aporte de secreciones digestivas en tiempo y cantidad adecuado para llevar a cabo la degradación de los

alimentos.

- \* La digestión de los lípidos presenta una dificultad debido a la insolubilidad en agua, lo que hace difícil el ataque por sus enzimas de degradación que en general son hidrosolubles.
- \* La digestión de los lípidos comienza en el duodeno donde los triacilgliceroles se transforma en diacilgliceroles, monoacilgliceroles y ácidos grasos mediante la LIPASA PANCREATICA.
- \* El aumento de la superficie de contacto entre las gotitas lipídicas y la lipasa de la fase acuosa se produce por la acción emulsionante de las sales biliares presentes en la bilis, la cual facilita la digestión de los triacilgliceroles.
- \* La acción de la lipasa se ve favorecida por la presencia de una proteína pancreática denominada COLIPASA. La secreción pancreática contiene otras esterasas que contribuyen a la degradación de los fosfolípidos y ésteres de colesterol en el intestino delgado.
- \* La transformación de los fosfolípidos en lisofosfolípidos y ácidos grasos es catalizada por la FOSFOLIPASA A2 sintetizada en el páncreas y activada por la tripsina. La COLESTEROL ESTERASA lleva a cabo la hidrólisis de los ésteres de colesterol en colesterol y ácidos grasos.

## ABSORCIÓN DE LÍPIDOS

- \* Una vez digeridas, es necesario que las Biomoléculas pasen a través de la membrana luminal del enterocito (absorción). Factores que favorecen la absorción: compuestos parecidos a los componentes de membrana, menor tamaño, más hidrófoba.
- \* La absorción de los productos de la hidrólisis de los lípidos procedentes de las micelas mixtas hacia las células de la mucosa del yeyuno y del íleon es un proceso pasivo que tiene lugar por DIFUSIÓN, a favor de un gradiente de concentración.
- \* Gracias a la bilis y en concreto a los ácidos biliares, que contribuyen a emulsionar los lípidos, van hacer que se absorban unos compuestos insolubles en agua. Su principal contribución a la asimilación de los lípidos la constituye la capacidad para formar micelas lo cual va a permitir superar la capa de agua y llegar a las paredes del intestino. Gracias a ello, la captación de ácidos grasos y monoacilgliceroles es muy eficaz y la capacidad de absorción de los mismos es muy alta (casi el 100%). También las vitaminas liposolubles (A,D, E, K) aprovechan este vehículo.
- \* Las micelas cuando llegan a las paredes enterocíticas, descargan su contenido graso que es muy semejante a la membrana y la atraviesan por difusión. Los ácidos biliares de las micelas pueden volver de nuevo a la luz intestinal, recargar y volver a iniciar el ciclo hasta que termine toda la absorción. Cuando esto ha ocurrido, los propios ácidos biliares son absorbidos en íleon por medio de un transporte activo especializado (circulación enterohepática de ácidos biliares) que es muy eficaz ya que consigue que el 95% de los ácidos biliares vuelvan al hígado y se almacenen en la vesícula biliar hasta el momento de volver a salir al intestino.
- \* La bilis resulta fundamental no tanto para la digestión como para la absorción de los lípidos de la dieta. Contribuye a la emulsión de las grasas y a la producción de micelas una vez alcanzada la concentración micelar crítica de ácidos biliares.
- \* Si no se producen las micelas, no se absorben grasas ni vitaminas liposolubles con lo cual aparecen como tales en las heces. La presencia masiva de lípidos digeridos en las heces se denomina ESTEATORREA.
- \* Una de las causas más frecuentes de esteatorrea es la producción de una bilis rica en colesterol, bilis

litogénica. El exceso de colesterol tiende a cristalizar dando origen a los cálculos de colesterol en la vesícula biliar (colecistitis) o en el colédoco (coledocolitiasis).

\* Los triglicéridos de la dieta tras la acción de la lipasa pancreática y emulsión se escinden en 2 ácidos grasos libres y 2-monoglicéridos que se absorben por la mucosa intestinal. Las células de la mucosa intestinal resintetizan triglicéridos a partir de los productos absorbidos y de esta forma los ácidos grasos procedentes de la dieta pueden incorporarse al organismo. Se trata de un proceso dependiente de energía ya que necesita 2 ATP por cada mol de triglicéridos sintetizados. Estos triglicéridos pasan a la linfa en forma de quilomicrones y de la linfa a la sangre que tras un proceso de lipólisis llevado a cabo por la lipoproteína lipasa, se producen ácidos grasos que se acumulan en el tejido adiposo.

## UTILIZACIÓN DE LOS TRIGLICÉRIDOS DE LA DIETA.

Gráfico Pág 293. Se puede escanear.

## LIPOPROTEÍNAS

\* El problema de la llegada de los lípidos recién absorbidos por el entericito a los tejidos no está aún resuelto debido a su insolubilidad en agua. Para ello los lípidos son ensamblados en un vehículo (lipoproteínas) y de esta forma se pueden transportar a los tejidos por el entorno acuoso.

\* Las lipoproteínas son compuestos esféricos, asociación no covalente de lípidos y proteínas y cuya estructura está diseñada para que haya un núcleo hidrófobo (formado por los lípidos más insolubles como triglicéridos, ésteres de colesterol y vitaminas liposolubles) rodeado por una zona externa en la que predominan las proteínas denominadas apoproteínas y los lípidos de naturaleza más polar como fosfolípidos y colesterol libre.

\* Los quilomicrones formados por triglicéridos y en menor medida colesterol son el tipo de lipoproteína encargada de transportar los lípidos absorbidos desde el entericito a la linfa. Son las lipoproteínas de menor densidad y mayor tamaño (se llaman así porque tienen el diámetro de 1 micra), abandonan la célula por exocitosis y no pueden ser captados por los capilares por lo que llegan a la circulación linfática. Del conducto linfático se vierten a las grandes venas o se llevan los quilomicrones directamente a los tejidos periféricos consumidores de grasa (tejido adiposo o muscular) antes de llegar al hígado donde llegan prácticamente descargados de triglicéridos por medio de la enzima lipoproteína lipasa (LPL) en forma de unas partículas denominadas REMANENTES DE QUILOMICRONES.

\* Esta forma de transportar la grasa es la manera que tiene el hígado de una eventual llegada masiva de grasa que conllevaría una esteatosis hepática severa. Los únicos compuestos que llegan directamente al hígado es la molécula de glicerina que formaba parte de los triglicéridos después de su hidrólisis y los ácidos grasos de cadena corta.

El colesterol y sus ésteres así como los triglicéridos y fosfolípidos son insolubles en agua y se han de transportar desde el tejido de origen (hígado, donde es sintetizado o intestino donde son absorbidos) hasta los tejidos donde se almacena o consumen por medio de lipoproteínas.

Gráfico Pág 295

\* La alteración en la concentración de las lipoproteínas se denomina hiperlipoproteinemia o dislipemia y ello a su vez condiciona arteriosclerosis.

\* Las lipoproteínas varían en cuanto a su tamaño y su composición, continúan denominándose con su nombre anglosajón y cuando aumenta la densidad disminuye el tamaño así como el contenido general de lípidos, en

particular de triglicéridos. Las HDL llegan a contener hasta un 50% de proteínas, mientras que los quilomicrones apenas contienen un 2%..

\* Cuando la dieta contiene más ácidos grasos de los necesarios o exceso de glúcidos, éstos se convierten en triglicéridos en el hígado y forman las VLDL. Estas lipoproteínas se transportan por la sangre desde el hígado hasta el músculo o el tejido adiposo donde serán escindidos por la LPL liberando ácidos grasos libres de los triglicéridos de las VLDL y estos TG se almacenan en el tejido adiposo o se oxidan en el músculo para suministrar energía. El resto de las VLDL vuelve al hígado (captación mediada por receptor).

\* Las IDL circulan durante muy poco tiempo y proceden de las VLDL. Contienen apo B-100 y están enriquecidas en ésteres de colesterol.

\* La pérdida de TG convierte parte de las VLDL en LDL, más ricas en colesterol y conteniendo apo B-100 como principal apoproteínas (70% del colesterol plasmático, seguido de las HDL con un 17%) y se metabolizan por medio de los receptores de Goldstein y Brown que reconocen a la apo B y E. Un nivel elevado de LDL-colesterol es mejor índice de riesgo de arteriosclerosis (a más LDL-colesterol más posibilidad de infarto cardíaco).

\* Lipoproteína (a) es una partícula de LDL unida por medio de puente disulfuro a la apo(a). Se asemeja al plasminógeno y se ha relacionado unos niveles elevados con un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular.

\* La última lipoproteína es la HDL que son ricas en proteínas (apo A). Está implicada en el transporte reverso de colesterol al hígado y parte de este colesterol se convierte en sales biliares. Es un factor predictor de disminución de riesgo de arteriosclerosis, es decir, niveles elevados de HDL-colesterol se correlaciona con una menor posibilidad de eventos cardíacos.

\* Los componentes proteicos de las lipoproteínas se denominan apoproteínas y se distribuyen en proporciones bastantes fijas en función del tipo de lipoproteínas. Así las HDL tienen apo A como componente proteico principal mientras que las HDL tienen apo B. Las apo C, D y E existen en proporciones menores. Actúan como punto de reconocimiento específico por parte de receptores de membrana celulares.

Gráfico Pág 297

#### ABSORCIÓN DE TG DE LA DIETA

\* Si se determinan las concentraciones de triglicéridos plasmáticos en una persona sana como ayuno nocturno y que posteriormente ingiere una comida que contiene 50-100 gr de triglicéridos se observa una relación similar a la mostrada en la figura.

\* Antes de la comida, la concentración plasmática de triglicéridos suele ser normal (< 150 mg/dl). Después de la comida aumenta hasta alcanzar un valor máximo a las 3-6 horas y de forma gradual, vuelven a su valor normal al cabo de 8-10 horas. La elevación de la concentración plasmática de triglicéridos se denomina HIPERTRIGLICERIDEMIA. El aumento de triglicéridos en ayunas se debe principalmente a los quilomicrones absorbidos. La hipertrigliceridemia es normal después de una comida grasa pero si es excesiva y prolongada es patológica y se asocia a pancreatitis y con menor frecuencia a eventos cardíacos, sobre todo porque los pacientes suelen tener HDL-colesterol bajos.

\* En el caso de hipertrigliceridemia las dietas con triglicéridos de cadena media suele ser efectivas.

Gráfico Pág. 298

TEMA 24.

## LIPÓLISIS. OXIDACIÓN DE LOS ÁCIDOS GRASOS: CARACTERÍSTICAS GENERALES Y LOCALIZACIÓN CELULAR.

### ACTIVACIÓN DE LOS ÁCIDOS GRASOS Y TRANSPORTE AL INTERIOR DE LA MITOCONDRIA.

### ETAPAS DE LA $\beta$ -OXIDACIÓN Y BALANCE ENERGETICO.

#### INTRODUCCIÓN

1. Las grasas (ácidos grasos) obtenidas de la dieta o sintetizadas por el organismo, tienen como principal función, la cesión de la energía que acumulan, o su almacenamiento en tejidos especializados como el adiposo para afrontar eventuales etapas de carencia alimenticia.
2. Otras funciones de las grasas serán: protección mecánica, o contra el frío, de los tejidos y formar parte de membranas celulares (fosfolípidos).
3. La oxidación de ácidos grasos de cadena larga hasta acetil-CoA es una ruta central del metabolismo energético en animales y bacterias. Los electrones cedidos durante la oxidación de ácidos grasos en el ciclo de Krebs pasan a la cadena respiratoria mitocondrial y se sintetiza ATP.
4. En algunos organismos, el acetil-CoA producido en la oxidación de los ácidos grasos puede seguir rutas alternativas (Ej: en el hígado, a partir del acetil-CoA y tras ayuno prolongado se produce cuerpos cetónicos).
5. La naturaleza de la ruta mediante la cual se oxidan los ácidos grasos fue descubierta por Franz Knoop (alemán) en 1904.

#### OXIDACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS.

- \* Los ácidos grasos son una fuente importante de energía y cuando el organismo necesita ATP son uno de los combustibles más empleados.
- \* Los ácidos grasos se encuentran esterificados con glicerina formando los triglicéridos, de los que suele haber depósitos en todas las células, pero son más abundantes en tejido adiposo (almacén de grasas).
- \* Un individuo con 70 kg de peso tiene aproximadamente 11Kg de grasa lo que supone 100.000 kcal.
- \* Cuando se produce un déficit calórico (ayuno) se movilizan estos depósitos de triacilgliceroles (TAG o TG), fenómeno que junto al contrario (depósito de grasas) están muy controlado por la acción de hormonas lipolíticas (ACTH, GH, glucagón y, adrenalina) en el caso de la movilización y lipogénicas (insulina) en el caso de reserva.
- \* La acción de hormonas lipolíticas produce la hidrólisis masiva de los TG del tejido, en general adiposo, y la movilización de ácidos grasos libres, los cuales se transportan por la sangre unidos a la albúmina. De esta forma llegan a los tejidos que consumen ácidos grasos (combustible).
- \* Cuando la situación de déficit calórico desaparece, dejan de producirse hormonas lipolíticas y el páncreas secreta insulina con lo cual deja de producirse AMPc deteniéndose la movilización de grasas.
- \* Cuando las hormonas lipolíticas se unen a sus receptores celulares producen una hidrólisis masiva de los TG del tejido (movilización de las grasas).
- \* Este proceso es un típico caso de activación en cascada, donde la unión hormona-receptor, en la membrana,

produce la activación de la adenilato ciclasa, que produce cantidades de AMPc que a su vez activa a una batería de Proteínas Kinasas reguladoras una de las cuales es la enzima encargada de la hidrólisis de TG, la TAG lipasa sensible a la acción hormonal, comenzando la lipólisis.

\* La TAG lipasa cataliza la hidrólisis de los enlaces éster de los TAG y los transforma en MAG y luego una MAG lipasa completa la hidrólisis total a ácido Graso y glicerina.

Gráfico Pág 302.

\* Aproximadamente el 95% de la energía biológicamente disponible de los TAG en el tejido adiposo reside en sus 3 ácidos Grasos de cadena larga; la parte de glicerol sólo contribuye en un 5%.

\* El glicerol liberado por la acción de la lipasa es fosforilado por la glicerol quinasa y el glicerol-3-fosfato resultante es oxidado a dihidroxiacetona fosfato. El enzima glucolítico triosa fosfato isomerasa convierte este compuesto en gliceraldehído-3-fosfato, que se oxida en la glucólisis.

Gráfico Pág 303

\* La ruta fundamental por la que los ácidos Grasos son degradados para obtener energía es la denominada  $\beta$ -oxidación, ubicada en las mitocondrias, aunque hay otra  $\alpha$ -oxidación complementaria en los Peroxisomas. Los ácidos grasos se oxidan de una forma escalonada, con un ataque inicial en el carbono 3 (el carbono con respecto al grupo carbonilo) de ahí el nombre.

\* Para que un ácido Graso pueda oxidarse debe llegar a la mitocondria activado, listo para ser reconocido por las enzimas correspondientes.

\* Los ácidos Grasos libres que penetran en el citosol procedentes de la sangre no pueden pasar directamente a través de la membrana mitocondrial sin sufrir una serie de reacciones enzimáticas. La reacción está catalizada por Isoenzimas presentes en la membrana mitocondrial externa y citoplasma, las acil-CoA sintetasas ya que la forma activa de un ácido Graso es como acil-CoA y debido a que el enlace éster tiene una alta energía de hidrólisis, el proceso de activación implica un gasto de energía en forma de ATP.

Gráfico Pág 304

\* Antes de que el ácido Graso esté en condiciones de ser oxidado debe entrar en la mitocondria, organela que es impermeable al paso de cualquier sustancia. Los acil-CoA no son permeables y se localizan en la membrana mitocondrial externa, no disponen de transportador entre los que existen en la membrana interna mitocondrial. Existe la necesidad de recurrir a un sistema de lanzadera para hacer posible dicho paso.

\* El colaborador en este proceso es una molécula para la que sí existe transportador en la membrana interna mitocondrial: carnitina. Se pone en marcha un complicado complejo funcional formado por 2 isoenzimas, uno citoplasmático y otro mitocondrial y el transportador de carnitina para lograr superar la barrera mitocondrial.

\* Las Isoenzimas palmitoil transferasa I (citoplasmática) y II (mitocondrial), catalizan la misma reacción, aunque cada una con el equilibrio desplazado en sentido contrario. Funcionando juntas consiguen la entrada de los grupos acilo a la mitocondria por lo que todo está preparado para la  $\beta$ -oxidación de ácidos Grasos. La carencia de carnitina o la disfunción de las transferasas puede suponer un grave problema (tendencia a presentar una acumulación de TAG en el músculo: dolores musculares, colapso y/o muerte). También se ha utilizado la carnitina en medicina deportiva.

Gráfico Pág 305

La oxidación mitocondrial de ácidos grasos se produce en 3 fases:

1º FASE (β-oxidación): los ácidos grasos sufren la eliminación oxidativa de unidades sucesivas de 2 átomos de carbono en forma de acetil-CoA, a partir del extremo carboxilo de la cadena de ácido graso. Por ejemplo, el ácido palmítico (C16:0), se somete 7 veces a esta secuencia oxidativa, perdiendo en cada uno de los pasos 2 átomos de carbono en forma de acetil-CoA. Al final de los 7 ciclos, los 2 últimos átomos de carbono (C15 y C16) quedan en forma de acetil-CoA por lo que el resultado global es la conversión de 8 moléculas de acetil-CoA.

2º FASE: los residuos acetilo del acetil-CoA se oxidan a CO<sub>2</sub> por la vía del ciclo de Krebs que también tiene lugar en la matriz mitocondrial. Este acetil-CoA entra en una ruta oxidativa final común junto con el proveniente de la glucosa vía glucólisis y oxidación del piruvato. Las 2 primeras fases de la oxidación de ácidos grasos reducen los transportadores electrónicos a NADH y FADH<sub>2</sub>.

3º FASE: donación por parte del NADH y FADH<sub>2</sub> de sus electrones a la cadena respiratoria mitocondrial y fosforilación de ADP a ATP. De este modo, la energía liberada por la oxidación de los ácidos grasos se conserva en forma de ATP.

Gráfico Pág. 306

Gráfico Pág. 307

1º paso: deshidrogenación dando lugar a una trans-enoil-CoA. El nuevo enlace doble tiene la configuración trans en contra de lo habitual que es cis. El encima responsable, acil-CoA deshidrogenasa, tiene un grupo prostético de FAD. Los electrones eliminados del acil-CoA son transferidos al FAD (c. respir).

2º paso: se adiciona agua al enlace doble del trans-enoil-CoA para formar el β-hidroxi-acil-CoA (también denominado 3-hidroxiacil-CoA). Esta reacción es catalizada por la enoil-CoA hidratasa.

3º paso: deshidrogenación del β-hidroxiacil-CoA para formar β-cetoacil-CoA por acción de la β-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa; en esta reacción el NAD actúa como aceptor de electrones. El NADH formado en esta reacción dona sus electrones al NADH de la cadena respiratoria.

4º paso: catalizado por la acil-CoA acetiltransferasa (también denominada tiolasa) que promueve la reacción entre β-cetoacil-CoA y una molécula de CoA libre y da lugar a miristoil-CoA + acetil-CoA.

Gráfico Pág. 307

Los 4 pasos se repiten para generar acetil-CoA y ATP. La ecuación correspondiente a un solo paso y comenzando con el éster del CoA de nuestro ejemplo, el palmitato es:

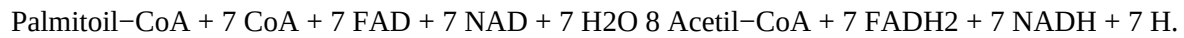


\* Después de la eliminación de una unidad de acetil-CoA del palmitoil-CoA queda el tioéster de CoA del ácido graso de cadena acortada, en este caso el miristato de 14 carbonos.

\* El miristoil-CoA está en disposición de entrar en la secuencia de la β-oxidación y someterse a otra serie de 4 reacciones, análogas a las primeras, para generar una 2ª molécula de Acetil-CoA y lauroil-CoA, el tioéster de CoA y el ácido graso de 12 átomos de carbono laurato.

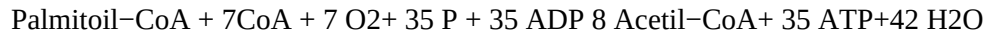
\* En total se requiere de 7 pasos a través de la secuencia de la β-oxidación para oxidar una molécula de palmitoil-CoA a 8 moléculas de acetil-CoA.

\* Reacción global:



En este proceso se produce agua (esto es esencial en los camellos).

\* Ecuación global de la oxidación del palmitoil-CoA a 8 Acetil-CoA, incluyendo la transferencia electrónica y la fosforilación oxidativa:



\* El acetil-CoA puede continuar oxidándose vía ciclo de Krebs a CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O. La ecuación de ahora es el balance de la 2ª fase de la oxidación del palmitoil-CoA junto con las fosforilaciones acopladas de la 3ª fase:



\* Combinado las ecuaciones anteriores obtenemos la ECUACIÓN GLOBAL para la oxidación completa de palmitoil-CoA a CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O:



Gráfico Pág. 310

El oleato (C18:1) se convierte en oleoil-CoA que es transportado en forma de oleoil-carnitina a través de la membrana mitocondrial, convirtiéndose de nuevo en oleoil-CoA en la matriz.

A continuación el oleoil-CoA pasa por 3 veces a través del ciclo de oxidación de ácidos grasos para generar 3 moléculas de acetil-CoA y el éster del CoA de un ácido graso insaturado de 12 carbonos, el cis-dodecenoil-CoA. Sobre este producto no puede actuar la enoil-CoA hidratasa que actúa únicamente sobre enlaces trans por lo que otra enzima la enoil-CoA-isomerasa va a transformar el cis-dodecenoil-CoA en trans-dodecenoil-CoA que a su vez es convertido por la acción de la enoil-CoA en el correspondiente -hidrox-decanoil-CoA.

Sobre este incremento actúan ahora los restantes enzimas de la -oxidación para generar acetil-CoA y un ácido graso saturado de 10 C en forma de éster de CoA (decanoil-CoA). Este último sufre 4 pasos más con lo que al final se producen 9 moléculas de acetil-CoA a partir de una molécula de oleato.

El otro auxiliar (una reductasa) actúa en la oxidación de ácidos grasos poliinsaturados.

La acción combinada de la enoil-CoA isomerasa y la 2,4-dienoil-CoA reductasa permite la producción de un sustrato que es la trans-enoil-CoA necesaria para que se produzca la -oxidación.

El resultado global es la conversión del linoleato en 9 moléculas de acetil-CoA.

En el hígado, las moléculas de acil-CoA formadas en el citosol pueden seguir 2 rutas:

- ◇ -oxidación a cargo de enzimas mitocondriales.
- ◇ Conversión a TAG y fosfolípidos a cargo de enzimas citosólicos.

El proceso de 3 pasos por el que se transportan grupos acilo de los acil-CoA citosólicos a la matriz mitocondrial constituye el factor limitante de la oxidación de ácidos grasos. Una vez en el interior de la mitocondria siguen el proceso de oxidación hasta acetil-CoA.



La concentración de malonil-CoA, primer intermedio de la biosíntesis citosólica de ácidos grasos de cadena larga a partir de acetil-CoA, aumenta cuando se recibe un suministro abundante de glucosa: el exceso de glucosa que no puede ser oxidado o almacenado en forma de glucógeno se convierte en ácidos grasos en el citosol para su almacenamiento como TAG.

El mecanismo de inhibición de la carnitina aciltransferasa I por el malonil-CoA garantiza la inhibición de la oxidación de ácidos grasos siempre que el hígado reciba un suministro abundante de glucosa como fuente de energía y fabrique activamente TAG a partir del exceso de glucosa. Es decir, la ingesta de grandes cantidades de glucidos suprime la oxidación de ácidos grasos y favorece su biosíntesis.

2 de los enzimas de la  $\beta$ -oxidación están también regulados: cuando la relación NADH/NAD<sup>+</sup> es elevada, la  $\beta$ -hidroxiacil-CoA deshidrogenasa está inhibida, además concentraciones elevadas de acetil-CoA inhiben a la tiolasa.

Existe una  $\alpha$ -oxidación realizada en los peroxisomas que parece especialmente activa para los denominados ácidos grasos de cadena muy larga entre 20 y 26 átomos de carbono.

El balance energético de esta ruta es diferente del de la mitocondrial. La  $\alpha$ -oxidación en los peroxisomas del palmítico produce 121 moléculas de ATP frente a las 129 de la  $\beta$ -oxidación mitocondrial.

No se trata de una ruta marginal. Supone el 30% de la oxidación total de palmítico por el hígado y además su disfunción ocasiona una grave enfermedad congénita, la ADRENOLEUCODISTROFIA, que afecta a 1 de cada 20.000 varones y se desarrolla entre los 5 y 12 años. Origina una grave insuficiencia adrenal y síntomas neurológicos graves por desmielinización. Condiciona la muerte del paciente y el tratamiento consiste en una dieta con restricción de ácidos grasos de cadena muy larga así como el ACEITE DE LORENZO formado por una mezcla de ácidos insaturados oleico y erúcido.

## **TEMA 25. FORMACIÓN, METABOLISMO Y UTILIZACIÓN DE LOS CUERPOS CETÓNICOS. IMPORTANCIA FISIOLÓGICA. ASPECTOS PATOLÓGICOS.**

### **INTRODUCCIÓN**

Hay circunstancias como el ayuno o la diabetes no tratada en la que se produce una movilización masiva de las grasas del tejido adiposo generándose gran cantidad de ácidos grasos no esterificados (AGNE) que unidos a la albúmina llegan a los tejidos periféricos pero también al hígado en cantidades que pudiera existir el peligro de colapso de este tejido (hígado graso).

Para evitarlo, el hígado acelera la síntesis de unos compuestos denominados cuerpos cetónicos (CC), lo que provoca una salida abundante de los mismos a la sangre, muy superior a las pequeñas cantidades que lo hacen en circunstancias normales.

Los cuerpos cetónicos, metabolitos de origen lipídico, no se tratan de productos marginales ya que incrementan su concentración de 0.07 mM tras una comida a casi 8 mM tras 1 mes de ayuno y alcanzan valores > 20 mM en situación de cetoacidosis diabética.

Cuando se habla de CC se hace referencia a 2 compuestos de 4 átomos de carbono (acetoacetato y  $\beta$ -hidroxiacetato) de carácter ácido y solubles en agua (lo que es raro en los lípidos) por lo que pueden ser excretados por la orina. El 3º de los CC es minoritario, la acetona..

### **FORMACIÓN DE LOS C.CETÓNICOS.**

En los seres humanos y en la mayoría de los mamíferos, el acetil-CoA formado en el hígado durante la

oxidación de los ácidos grasos puede entrar en el ciclo de Krebs o ser convertido en los cuerpos cetónicos (CC) y ser exportados a otros tejidos. Estos CC se sintetizan, en el hígado, por la condensación de hasta 3 moléculas de Acetil-CoA, que abunda en el hígado en situación de ayuno por la activación de la  $\beta$ -oxidación, produciendo acetoacetato por medio de la acción de la enzima acetoacetil-CoA sintasa.

A continuación, el acetoacetil-CoA se condensa con acetil-CoA para formar HMG-CoA por medio de la HMG-CoA sintasa. Finalmente la HMG-CoA liasa escinde a la HMG-CoA en Acetil-CoA y acetoacetato, el primero de los CC.

Este CC podría salir del hepatocito a la sangre pero lo habitual es transformarlo en otro CC,  $\beta$ -hidroxibutirato que es el más abundante de los 2 en sangre en cualquier circunstancia, gracias a la actividad de la enzima mitocondrial  $\beta$ -hidroxibutirato deshidrogenasa.

Los CC son solubles en agua y orina salvo la acetona que se exhala por vía respiratoria.

Gráfico Pág 317

## **METABOLISMO Y UTILIZACIÓN DE LOS CUERPOS CETÓNICOS.**

Acetoacetato y  $\beta$ -hidroxibutirato son transportados por la sangre a tej. Extrahepáticos impidiendo un posible colapso graso del hígado.

Son compuestos ricos en energía potencial ya que sufren oxidación a través del ciclo de Krebs. Liberan gran parte de la energía necesaria para tejidos como músculo esquelético, cardíaco y la corteza renal. Además, el cerebro que normalmente prefiere glucosa como combustible, puede adaptarse al uso de los CC en condiciones de ayuno, cuando no es posible disponer de glucosa, es decir son usados como combustible alternativos de la glucosa y los ácidos grasos prolongando el periodo en el que un mamífero puede sobrevivir en ayuno (generan el 50% de ATP que precisa el cerebro).

Su uso como combustible se debe a su catabolismo, que tiene lugar en los órganos periféricos, entre ellos el cerebro, donde existe una actividad enzimática que no actúa en hígado, la tiorforasa, que puede integrar los CC en el metabolismo degradativo, originando acetoacetil-CoA que luego es sustrato de la última de las actividades enzimáticas de las de la  $\beta$ -oxidación (tiorforasa) que lo escinde en 2 moléculas de acetil-CoA listo para integrarse en el ciclo de Krebs y la cadena transportadora de electrones y, por tanto, para producir ATP.

Gráfico Pág. 320

## **ASPECTOS PATOLÓGICOS DE LOS CUERPOS CETÓNICOS Y REGULACIÓN.**

En circunstancias especiales como ayuno prolongado o diabetes descontrolada puede producirse una sobreproducción de CC que desborde la capacidad de los órganos consumidores para retirarlos de la sangre. En esas condiciones se produce acumulación de CC en sangre que debido a su carácter ácido produce descenso del pH conocido con el nombre de CETOSIS o CETOACIDOSIS. Si es severa puede producir coma y la muerte del paciente.

El cuerpo reacciona aumentando la excreción de CC por la orina lo que conlleva necesidad de eliminar otros iones para mantener el equilibrio electrónico y de agua (osmolaridad) lo que conlleva la producción de DESHIDRATACIÓN y pérdida de electrolíticas severas.

Un factor limitante de la ruta tomada por el acetil-CoA en las mitocondrias hepáticas es la disponibilidad de oxalacetato para iniciar la entrada del ciclo de Krebs. Tras inanición se extrae el oxalacetato del ciclo de Krebs para utilizarlo en la síntesis de glucosa. Cuando la concentración de oxalacetato es muy baja, entra muy

poco acetil-CoA en el ciclo y se favorece la formación de CC. La producción y exportación de CC desde el hígado a los tejidos extrahepáticos permite la oxidación continuada de los ácidos grasos en el hígado cuando el acetil-CoA no está siendo oxidado via ciclo de Krebs.

En personas sanas, la producción de acetona a partir de acetoacetato se lleva a cabo por la acción de la acetoacetato descarboxilasa. Por tanto los diabéticos no sometidos a tratamiento médico producen grandes cantidades de acetoacetato y acetona que es tóxica. Al ser volátil se exhala por vía respiratoria confiriendo un olor característico a la respiración.

En situaciones de diabetes no tratada no hay suficiente cantidad de insulina para que los tejidos extrahepáticos puedan captar glucosa de la sangre de manera eficiente y para que los niveles de glucosa en sangre aumenten se acelera la gluconeogénesis hepática así como la oxidación de los ácidos grasos en hígado y músculo con el resultado de la producción de CC.

Gráfico pág. 322.

## **TEMA 26. BIOSÍNTESIS DE ÁCIDOS GRASOS: CARACTERÍSTICAS GENERALES Y LOCALIZACIÓN CELULAR. FORMACIÓN DE MALONIL-CoA. COMPLEJO ÁCIDO GRASO SINTASA. ETAPAS DE LA SÍNTESIS. BIOSÍNTESIS DE TRIACILGLICEROL.**

### **BIOSÍNTESIS DE ÁCIDOS GRASOS.**

Cualquier ácido graso (AG), saturado o insaturado, puede ser sintetizado en el interior de la célula de los mamíferos excepto el linoleico y linolénico que son esenciales.

La biosíntesis y el catabolismo de los AG transcurren por vías diferentes catalizadas por enzimas distintas y tiene lugar en partes diferentes de la célula. Además, en la biosíntesis de los AG participa un intermedio de 3 carbonos, el malonil-CoA que no interviene en la degradación.

La fuente de carbonos para fabricar AG es el acetil-CoA, procedente de los aminoácidos cetógenos o de los carbohidratos y la obtención del acetil-CoA tiene lugar en la mitocondria ( o en los peroxisomas) mientras que el sistema enzimático fundamental para la biosíntesis de AG es citoplasmática.

El Acetil-CoA no tiene transportadores que le permitan salir de la mitocondria al citoplasma por lo que necesita de un sistema lanzadera de citrato el cual y dentro del citosol se rompe por la acción de la citrato liasa regenerando acetil-CoA y precisando de energía en forma de ATP.

Por tanto, el citrato es fundamental por 3 razones:

- Puede salir de la membrana interna mitocondrial gracias a un transportador tricarboxílico (citrato).
- Puede convertirse en acetil-CoA a nivel del citosol, gracias a la citrato liasa.
- Induce la activación de la enzima que controla el proceso de síntesis de ácidos grasos, acetil-CoA carboxilasa.

Una vez que el citrato cede acetil-CoA se transforma en oxalacetato que no puede volver a la matriz mitocondrial al no haber transportador por lo que es reducido a malato por medio de la malato deshidrogenasa citosólica y al disponer del transportador de malato-cetoglutarato vuelve el malato a la matriz mitocondrial siendo reoxidado a oxalacetato para completar el intercambio.

Alternativamente se puede utilizar el malato producido en el citosol para generar NADPH citosólico mediante la enzima málica. Tras ello el malato se transforma en piruvato y este vuelve a la matriz mitocondrial al disponer de un transportador de piruvato.

En resumen, cuando el ciclo de Krebs está ralentizado por que la célula tiene mucho ATP pero se sigue produciendo acetil-CoA, funciona la citrato sintasa y se genera citrato y el ! de ATP frena a la isocitrato deshidrogenasa no avanzando el ciclo por lo que se acumula el citrato y sale de la mitocondria por medio del transportador citrato.

El citrato citosólico es escindido por la citrato liasa en acetil-CoA (precursor de ácidos grasos) y osalacetato el cual a su vez se transforma en malato por medio de la málico deshidrogenasa citoplasmática. Posteriormente el malato pasa a la mitocondria gracias al transportador de malato-cetoglutarato (no reconoce a oxalacetato).

En la mitocondria y por medio de la málico deshidrogenasa mitocondrial se regenera de el oxalacetato a partir del malato estando de nuevo disponible para fabricar citrato que puede volver a salir, si las circunstancias energéticas celulares no han variado.

Cuando baja el nivel de ATP celular, se desbloquea el ciclo de Krebs y detiene la salida de citrato al citoplasma.

Para poder regular la biosíntesis de AG independientemente de la -oxidación, no es conveniente que el acetil-CoA, primer producto del ciclo de Krebs, sea también la molécula que ponga en marcha esta otra. Por ello y de forma previa a la actividad del complejo multienzimático sintetasa de AG, hay una actividad enzimática, ACETIL-CoA CARBOXILASA, que cataliza la conversión de acetil-CoA en un metabolito específico de la síntesis de AG, el MALONIL-CoA, el cual regula el funcionamiento del proceso global.

Co2

ACETIL-CoA ----- MALONIL-CoA PALMITICO

Acetil-CoA Corboxilasa

Para conseguir formar el acilo de 16 átomos de carbono serán precisas 7 vueltas completas al sistema.

7 Ciclos de condensación y reducción producen el grupo saturado palmitoilo de 16 carbonos. La reacción global para la síntesis de palmitato a partir de acetil-CoA se puede separar en 2 partes.

Primero la formación de 7 moléculas de malonil-CoA:

7 acetil-CoA + 7 CO2 + 7 ATP ----- 7 malonil-CoA + 7 ADP + 7 Pi

A continuación 7 ciclos de condensación y reducción:

Acetil-CoA + 7 malonil-CoA + 14 NADPH + 14 H\*----- PALMITATO + 7 CO2 + 8 CoA + 14 NADP + 6 H2O

El proceso global es:

8 acetil-CoA + 7 ATP + 14 NADPH + 14 H\* ----- PALMITATO +

8 CoA + 6 H2O + 7 ADP + 7 Pi + 14 NADP\*

La biosíntesis de AG requiere de acetil-CoA y el aporte de energía química en 2 formas: el potencial de

transferencia de grupo ATP y el poder reductor del NADPH. El ATP une el CO<sub>2</sub> al acetil-CoA produciendo malonil-CoA y el NADPH reduce los dobles enlaces.

En los mamíferos, el complejo de la ácido graso sintetasa se encuentra exclusivamente en el citosol al igual que los enzimas biosintéticos de los nucleótidos, aminoácidos y glucosa.

El NADPH citosólico es generado por el enzima málico (paso de malato a piruvato) o por las reacciones de la ruta de las pentosas-fosfato.

### **REGULACIÓN DE LA BIOSÍNTESIS DE ÁCIDOS GRASOS.**

Cuando una célula u organismo tiene combustible más que suficiente para sus necesidades energéticas, el exceso se convierte en AG almacenándose en forma de triacilglicérol en el tejido adiposo. La reacción catalizada por la acetil-CoA carboxilasa es el paso limitante de la velocidad de síntesis de AG siendo importante en la regulación.

El palmitoil-CoA producto principal de la síntesis de Ag actúa como retroinhibidor del enzima mientras que el citrato es un activador.

La acetil-CoA carboxilasa también está regulada por la fosforilación desencadenada por las hormonas glucagón y adrenalina que la inactiva, con lo que disminuye la síntesis de AG.

Cuando se produce un aumento en la concentración de acetil-CoA mitocondrial y ATP, se transporta citrato fuera de la mitocondria transformándose tanto en el precursor del acetil-CoA citosólico como en una señal para la activación de la acetil-CoA carboxilasa.

El complejo de la piruvato deshidrogenasa y la citrato liasa que proporcionan acetil-CoA son activados por la insulina.

La insulina y glucagón se liberan en respuesta a las concentraciones de glucosa sanguínea según sean altas o bajas, respectivamente.

Si la síntesis y el catabolismo de los AG tuviesen lugar a la vez los 2 procesos constituirían un ciclo fútil, malgastando energía.

La  $\alpha$ -oxidación es bloqueada por el malonil-CoA que inhibe la carnitina aciltransferasa I. Así durante la síntesis de AG la producción del primer intermedio, malonil-CoA, detiene la  $\alpha$ -oxidación.

Gráfico Pág 331.

### **BIOSÍNTESIS DE ÁCIDOS GRASOS DE CADENA LARGA.**

El palmitato, producto principal del sistema de la ácido graso sintasa, es el precursor de otros AG de cadena larga, excepto los esenciales. Se pueden alargar para formar estearato o incluso AG saturados más largos mediante adiciones de grupos acetilo presentes en retículo endoplásmico y el mitocondria.

Gráfico Pág. 332.

### **BIOSÍNTESIS DE ÁCIDOS GRASOS INSATURADOS.**

El palmitato y esterato son precursores de 2 AG insaturados en animales como son el palmitoleato y oleato. Cada uno de estos AG tiene un solo doble enlace cis en la posición delta-9. El doble enlace se introduce en la

cadena por una reacción oxidativa catalizada por la acil graso-CoA desaturasa requiriendo el flujo electrónico de citocromos y flavoproteínas que están presentes junto a la enzima en el retículo endoplásmico liso.

Los mamíferos no pueden sintetizar linoleato y linolenato (esenciales). Debería considerarse al araquidónico como esencial pero puede fabricarse a partir del linoleico.

Gráfico Pág. 333.

### **BIOSÍNTESIS DE LA GRASAS.**

Las grasas más importantes, los triacilglicerol, se sintetizan en prácticamente todos los tejidos de mamíferos, aunque sobre todo en el hígado y en el tejido adiposo. Son fuente de energía potencial y debido a su hidrofobicidad se deposita en forma de grasa y no agua.

Cuando se degrada los triacilglicerol se suministrará no sólo ATP sino que también agua. No sólo los lípidos en exceso sino también los hidratos de carbono e incluso algunos aminoácidos serán convertidos en triglicéridos.

Los AG que se emplean para la síntesis de triglicéridos pueden proceder de la dieta o de los biosintetizados en el propio tejido, indistintamente, pero deben ser activados a acil-CoA antes de poderse utilizar en dicha biosíntesis.

El otro sustrato, glicerol, puede proceder de triacilglicerol hidrolizados, o de intermediarios de la glicólisis, y también debe estar como glicerol-fosfato para proceder a la síntesis.

El equilibrio entre grasa depositada y movilizada está regulado hormonalmente. Si se produce un desequilibrio en el que predomine el depósito de grasa se origina el sobrepeso u obesidad (grave problema sanitario actual) que precisa de una dieta hipocalórica equilibrada y ejercicio físico aeróbico.

Gráfico Pág. 335.

### **REGULACIÓN BIOSÍNTESIS DE GRASAS.**

Si se ingieren glúcidos, grasas o proteínas en cantidades superiores a las necesidades energéticas, el exceso se almacena en forma de triacilglicerol. La grasa conservada de este modo puede ser utilizada para obtener energía permitiéndose al cuerpo soportar periodos de ayuno.

La biosíntesis y degradación de triglicéridos están reguladas recíprocamente por varias hormonas. La insulina promueve la conversión de glúcidos en triglicéridos. Las hormonas lipolíticas (glucagón, adrenalina, cortisol y hormona del crecimiento) están implicadas en el catabolismo de los ácidos grasos.

Los diabéticos mal controlados, debido a la falta de secreción o de acción de la insulina, no sólo no pueden utilizar adecuadamente la glucosa sino que tampoco pueden sintetizar Ag a partir de los glúcidos o aminoácidos. Presentan un aumento en la velocidad de oxidación de grasas y de formación de cuerpos cetónicos. La consecuencias es que pierden peso.

Gráfico Pág. 337.

## **TEMA 27. METABOLISMO DEL COLESTEROL. BIOSÍNTESIS DEL COLESTEROL Y SU REGULACIÓN.**

### **BIOSÍNTESIS DEL COLESTEROL**

El colesterol es el lípido natural más popular debido a la fuerte correlación entre los niveles elevados de colesterol en sangre y la incidencia de enfermedades del sistema cardiovascular.

El colesterol es un compuesto esencial y fundamental en los tejidos ya que forma parte de las membranas celulares y es el precursor inmediato de varias biomoléculas esenciales para la vida como son las hormonas esteroideas y los ácidos biliares. Por tanto, todas las células precisan de colesterol que puede proceder de la dieta o de su síntesis de novo a partir del acetil-CoA, síntesis que tiene lugar en prácticamente todos los tejidos, pero que es especialmente activa en el hígado, corteza suprarrenal, piel, intestino y aorta.

Debido a la imposibilidad de oxidar el colesterol a CO<sub>2</sub>, el organismo lo excreta a la bilis como colesterol libre y el hígado se libera del colesterol por medio de la síntesis de los ácidos biliares.

El colesterol no se requiere en la dieta ya que el hígado puede sintetizarlo a partir de precursores sencillos. La cantidad de colesterol procedente de la síntesis es superior a la derivada de la dieta por lo que el organismo pone en marcha un complejo sistema de procesos para conseguir que el nivel de colesterol este equilibrado, metabolizando, excretando o ambas cosas, su exceso ya que es una fuente de problemas cardiovasculares.

El colesterol se excreta como tal a través de secreciones y descamaciones celulares de la piel o de las células intestinales, de las secreciones pancreáticas, gástricas o intestinales o tras su transformación en ácidos biliares. También tras su conversión en hormonas esteroideas y posterior degradación de éstas, puede aparecer en el tracto gastrointestinal u orina.

Diariamente, un hombre adulto sintetiza unos 9 mg/Kg de peso. El precursor es el acetil-CoA y el comienzo de la ruta de síntesis es exactamente el mismo que se observó en la síntesis de cuerpos cetónicos. Aunque la estructura del colesterol parece compleja, todos sus átomos proviene de un único precursor: el ACETATO (CH<sub>3</sub>-COO<sup>-</sup>)

El colesterol, al igual que los ácidos grasos de cadena larga, se va a formar a partir del acetil-CoA en 4 fases. En la fase 1 se condensan 3 unidades de acetato para formar un intermedio de 6C, el MEVALONATO. La fase 2 supone la conversión del mevalonato en unidades de isopreno activadas y la fase 3 la polimerización de 6 unidades de 5C para formar la estructura lineal de 30C del ESCUALENO. Finalmente en la 4 fase es la ciclación del escualeno para formar los 4 anillos del núcleo esteroide y una serie de cambios adicionales (oxidaciones, eliminación migración de grupos metilo) conduce al producto final, el COLESTEROL.

ACETATO MEVALONATO ISOPRENO ACTIVADO ESCUALENO COLESTEROL

1 2 3 4

FASE 2. SÍNTESIS ISOPRENOS.

GRÁFICO Pág 342.

Se transfieren 3 grupos fosfatos de 3 moléculas de ATP al mevalonato.

En el paso siguiente salen este fosfato y el grupo carboxilo vecino produciendo un doble enlace en el producto de 5C, isopentenil pirofosfato.

Éste es el primero de los 2 isoprenos activados cruciales en la formación del colesterol. La isomerización del isopentenil pirofosfato produce el 2º isopreno activado, el dimetilalil pirofosfato.

Se combinan 6 de estas unidades para formar el ESCUALENO (30C).

### FASE 3. SÍNTESIS ECUALENO.

GRÁFICO. Pág 343.

El isopentenil pirofosfato y el dimetilalil pirofosfato experimentan una condensación cabeza-cola en la que se desplaza un grupo pirofosfato formándose una cadena de 10C, el geranio pirofosfato.

El geranio pirofosfato experimenta otra condensación cabeza-cola con el isopentenil pirofosfato dando el intermedio de 15C, farnesil pirofosfato.

Finalmente, se unen 2 moléculas de farnesil pirofosfato cabeza-cabeza obteniéndose el ESCUALENO de 30C con eliminación de ambos grupos pirofosfato.

### FASE 4. SÍNTESIS COLESTEROL.

GRÁFICO. Pág 344.

Todos los esteroides tienen 4 anillos fusionados (núcleo esteroide) y todos son alcoholes de ahí el nombre de esteroide.

La acción de la escualeno monooxigenasa adiciona un átomo de oxígeno formando un epóxido. El NADH reduce el otro átomo de oxígeno a H<sub>2</sub>O.

La ciclación posterior conduce a la formación de lanosterol, que contiene los 4 anillos característicos del núcleo esteroide.

El lanosterol se convierte finalmente en COLESTEROL en una serie de unas 20 reacciones entre las que se incluye la migración de algunos grupos metilo y la eliminación de otros.

La elucidación de esta ruta biosintética, una de las más complejas que se conocen, fue obra principalmente de Honrad Bloch, Feodor Lynen, John Cornforth y Georges Popjak a finales de los años cincuenta.

El colesterol es el esteroide característico de las células animales, pero las plantas, hongos y protistas fabrican otros esteroides estrechamente relacionados utilizando la misma ruta sintética hasta el epóxido. En este punto las rutas sintéticas divergen dando lugar en las plantas al estigmasterol y ergosterol en hongos.

### DESTINO DEL COLESTEROL

La mayor parte de la síntesis del colesterol en los vertebrados tiene lugar en el hígado. Una pequeña fracción del colesterol allí elaborado se incorpora a las membranas de los hepatocitos, pero la mayor parte se exporta en una de las 3 formas siguientes: COLESTEROL BILIAR, ÁCIDOS BILIARES o ESTERES DE COLESTEROL.

Los ácidos biliares y sus sales sintetizados en el hígado ayudan a la digestión de los lípidos.

Los ésteres de colesterol se forman en el hígado por medio de la acción de la acil-CoA-colesterol acil-transferasa (ACAT). Esta enzima cataliza la transferencia de un ácido graso desde el CoA al grupo hidroxilo del colesterol, convirtiendo al colesterol en una forma más hidrofóbica. Los ésteres de colesterol se transportan en lipoproteínas y se secretan a otros tejidos que utilizan colesterol o se almacenan en el hígado.

Gráfico pág 345.



Los ésteres de colesterol entran en las células por endocitosis mediada por receptor. Los endosomas se fusionan finalmente con un lisosoma que contiene enzima que hidrolizan los ésteres de colesterol liberando colesterol y ácidos grasos al citosol. La apo B se degrada dando aminoácidos y el receptor 4 de LDL se escapa de la degradación y vuelve a la superficie celular para recaptar nueva LDL (Brown y Goldstein). El colesterol que entra en las células por esta ruta puede incorporarse en membranas o ser reesterificado por la ACAT para su almacenamiento. Cuando se acumula mucho colesterol en la célula se reduce la velocidad de síntesis de colesterol (disminuye la producción del receptor LDL).

Gráfico Pág. 346.

Gráfico Pág. 347.

## HIPERCOLESTEROLEMIA.

Los niveles de colesterol en sangre dependen de un perfecto equilibrio entre la ingesta y la síntesis de colesterol, por un lado, y su excreción por otro.

Diferentes estudios epidemiológicos han demostrado una asociación positiva entre niveles elevados de colesterol total y LDL-colesterol con un mayor riesgo de enfermedad coronario así como una correlación inversa entre niveles elevados de HDL-colesterol con el riesgo de cardiopatía isquémica.

El colesterol no es soluble en agua por lo que para circular por los líquidos biológicos, sangre y linfa, debe hacerlo formando parte de las lipoproteínas. Las 2 tipos de lipoproteínas con mayor presencia de colesterol aunque éste se encuentra principalmente esterificado con ácidos grasos son LDL y HDL. Por el contrario las 2 lipoproteínas ricas en triglicéridos son: quilomicrones y VLDL.

Si aumenta mucho la concentración de las lipoproteínas puede superarse el nivel de solubilidad admitido y empezar a producirse depósitos de las mismas sobre las paredes de los vasos sanguíneos. A estos depósitos, que de forma general son LDL se le denomina ATEROMAS y la patología que se presenta cuando se generaliza su depósito ATEROSCLEROSIS.

Por tanto la hipercolesterolemia produce aumento de la concentración de LDL en sangre que induce la formación de ateromas y aterosclerosis y finalmente eventos cardiovasculares en forma de angina de pecho, infarto agudo de miocardio, accidente cerebrovascular, arteriopatía periférica, insuficiencia cardíaca y muerte súbita.

Un tipo de hipercolesterolemia es la denominada hipercolesterolemia familiar, enfermedad congénita autonómica dominante que se produce por la disfunción del mecanismo habitual de eliminación de las LDL de la sangre...

Estos pacientes no tienen receptores de LDL o son disfuncionales y no se puede llevar a cabo la endocitosis aumentando los niveles plasmáticos de colesterol total y LDL-colesterol junto a la producción de aterosclerosis.

Los heterocigotos respecto a la hipercolesterolemia familiar (1:500 recién nacidos) tienen desde muy jóvenes una concentración media de LDL-colesterol 2 veces o más de lo normal.

Estos pacientes van a sufrir de infartos de miocardios hacia los 35 años de edad y más de 1/5 de los infartados en personas > 60 años sufren esta enfermedad. El 80% de estos pacientes van a sufrir de un evento cardiovascular antes de los 65 años.

Aún más grave es la situación de los homocigotos (1:1000.000 recién nacidos) donde los niveles de

LDL-colesterol son 6 veces superior a los normal desde muy jóvenes comenzando con infartos a la edad de 2 años no alcanzando los 20 años de edad.

Hoy día existen fármacos potentes para combatir esta enfermedad y son las estatinas: lovastatina, simvastatina, pravastatina, fluvastatina, atorvastatina, rosuvastatina. Reducen > 60% niveles de LDL-Colesterol y por tanto los eventos coronarios e incluso la mortalidad global.

## **TEMA 28. DIGESTIÓN Y ABSORCIÓN DE LAS PROTEÍNAS DE LA DIETA. ENZIMAS PROTEOLÍTICAS. METABOLISMO DEL GRUPO AMINO DE LOS AMINOÁCIDOS. TRANSAMINACIÓN Y DESAMINACIÓN OXIDATIVA. ELIMINACIÓN DEL GRUPO AMINO: CICLO DE LA UREA.**

### **INTRODUCCIÓN.**

Las proteínas aunque potencialmente suministran un aporte energético similar a los hidratos de carbono, su participación media energética es sólo del 15% ya que su función dietética es más plástica que energética.

Las proteínas aportan material nitrogenado que en forma de aminoácidos proteicos se necesita para la síntesis de las proteínas características del cuerpo humano.

Por todo ello, las rutas degradativas individuales de los aminoácidos son mucho menos activas que la glucólisis y la oxidación de los ácidos grasos.

Las proteínas deben ser transformadas en sus componentes unitarios, los aminoácidos, para ser absorbibles por el intestino. Las proteínas que no son degradadas no pueden ser absorbidas y aparecen en las heces, siendo generalmente esta fracción fecal una pequeña proporción del total de proteínas ingeridas. También mencionar que en los alimentos existen aminoácidos libres que pueden ser absorbidos sin ninguna modificación, si bien su aporte nitrogenado es prácticamente insignificante con respecto al de las proteínas, excepto en el caso de los aminoácidos no proteicos.

### **DIGESTION**

La gran mayoría de compuestos ingeridos sufren reacciones de transformación que consisten en la conversión de biomoléculas de tipo polimérico en otras monoméricas más sencillas que pueden ser transportadas a la sangre por las células intestinales.

El conjunto de reacciones de degradación son procesos hidrolíticos exergónicos que se producen extracelularmente en la luz del aparato digestivo y se conoce con el nombre de DIGESTIÓN.

La digestión corre a cargo de:

**ENZIMAS DIGESTIVAS:** aceleran la velocidad de degradación de los materiales poliméricos en monoméricos. Estas enzimas son sintetizadas en células y glándulas especializadas en forma de zimógenos digestivos.

**COMPONENTES NO ENZIMÁTICOS:** presentes en las secreciones de diferentes glándulas digestivas que suministran los iones y pH adecuados para la actuación de las enzimas o que ayudan como es la bilis a solubilizar los lípidos para favorecer su digestión y absorción.

**PROCESOS FÍSICOS:** masticación o trituración de los alimentos y los movimientos de contracción del tubo digestivo.

**SISTEMA NERVIOSO Y ENDOCRINO:** coordinación entre tiempo de residencia del bolo alimenticio y el aporte de secreciones digestivas en tiempo y cantidad adecuado para llevar a cabo la degradación de los alimentos.

La degradación de las proteínas se lleva a cabo de forma conjunta por una serie de proteasas que catabolizan la ruptura de los enlaces peptídicos mediante el ataque de los mismos por parte de una molécula de agua.

Las aminopeptidasas hidrolizan al enlace peptídico por el extremo amino terminal y las carboxipeptidasas por el carboxilo terminal.

La entrada de proteína en el estómago estimula a la mucosa gástrica que secreta la hormona GASTRINA, la cual, a su vez estimula la secreción de ácido clorhídrico por las células parietales de las glándulas gástricas y pepsinógeno por las células principales.

La degradación de las proteínas comienza en el estómago y corre a cargo de la PEPSINA, endoproteasa ácida que es sintetizada en forma de pepsinógeno y que se activa por el pH ácido del estómago. La acidez del jugo gástrico actúa como antiséptico eliminando la mayor parte de las bacterias y células foráneas.

La degradación final de las proteínas tiene lugar en el lumen del duodeno, donde actúan una serie de endopeptidasas (tripsina, quimotripsina y elastasa) y carboxipeptidasas. Todas ellas son sintetizadas en forma de zimógenos en el páncreas y vertidas a la luz duodenal donde tiene lugar la activación del tripsinógeno mediante una proteólisis parcial catalizada por una proteasa específica, la enteropetidasa, transformando el tripsinógeno en tripsina.

La tripsina formada cataliza la activación del resto del tripsinógeno así como el resto de los otros zimógenos, dando lugar a quimotripsina elastasa y carboxipeptidasas.

Los ácidos nucleicos son degradados durante el proceso digestivo fundamentalmente en el duodeno. La degradación del ADN y del ARN se lleva a cabo por medio de las nucleasas pancreáticas (ADNasas y ARNasas), que dan lugar a la formación de nucleótidos, que son transformados en desoxinucleósidos y nucleósidos por medio de las fosfatasas pancreáticas. Estos últimos a su vez son degradados a bases nitrogenadas y pentosas por medio de las nucleosidas pancreáticas.

| ENZIMA         | PROENZIMA     | LUGAR SÍNTESIS  | LUGAR ACTIVACIÓN  | ACTIVADOR       |
|----------------|---------------|-----------------|-------------------|-----------------|
| Pepsina        | Pepsinógeno   | Mucosa gástrica | Estómago          | ClH, Autoactiv. |
| Tripsina       | Tripsinógeno  | Páncreas        | Intestino delgado | Enterop, Trips  |
| Quimiotripsina | Quimiotripsin | Páncreas        | Intestino delgado | Tripsina        |
| Elastasa       | Proelastasa   | Páncreas        | Intestino delgado | Tripsina        |
| Carboxipep A   | Procarboxip A | Páncreas        | Intestino delgado | Tripsina        |
| Carboxipep B   | Procarboxip B | Páncreas        | Intestino delgado | Tripsina        |
| Aminopeptid    | -----         | Mucosa duodenal | Intestino delgado | -----           |

## ABSORCIÓN DE PROTEÍNAS.

Una vez digeridas, es necesario que las biomoléculas pasen a través de la membrana luminal del enterocito (absorción).

Los aminoácidos se absorben por medio de un transporte activo secundario, dependiente de gradiente de sodio (parecido al de la glucosa) ubicado en la membrana luminal enterocítica, sobre todo de duodeno y yeyuno.

Hay varios tipos de transportadores: para aminoácidos ácidos, básicos, neutros, para iminoácidos, etc.

Una vez dentro del enterocito, gracias a un transporte pasivo de la membrana basal, salen a la sangre y una parte llega al hígado, vía portal. Sin embargo hay diferencias en la composición de los aminoácidos que circulan por vía enterohepática con respecto a los absorbidos ya que glutamina, glutamato, aspartato y asparragina son rápidamente convertidos en CO<sub>2</sub>, lactato y amoníaco y en otros aminoácidos: citrulina, alanina y prolina que son los que se liberan a la sangre. Este proceso tiene connotaciones de protección al organismo ya que glutamato y aspartato son neurotransmisores y si hay una alta concentración afecta al sistema nervioso.

Es conocido que personas sensibles a la sobrecarga de glutamato tienen problemas de quemazón, presión facial y dolor en el pecho cuando ingieren grandes cantidades de glutamato: Síndr. Restaurante chino.

## METABOLISMO DEL GRUPO AMINO DE LOS AMINOÁCIDOS.

Gráfico Pág. 356.

El metabolismo nitrogenado incluye a proteínas y aminoácidos, así como a otros muchos compuestos importantes que se pueden considerar derivados de los aminoácidos, bases nitrogenadas, porfirinas, etc.

El esqueleto carbonado aminoacídico puede servir de punto de partida, dependiendo de las vías particulares de cada caso para la obtención de ácidos grasos, grasas y esteroides o como precursor gluconeogénico, ayudando, al aporte necesario de glucosa al cerebro en condiciones de déficit de carbohidratos. Además de ese papel precursor de los aminoácidos, su catabolismo oxidativo es esencial para proporcionar energía al organismo en situaciones de necesidad energética, como el ayuno.

Los esqueletos carbonados de los aminoácidos generalmente van a parar al ciclo del ácido cítrico y de allí se oxidan para producir energía química o se canalizan hacia la gluconeogénesis.

Sin embargo hay un factor importante que distingue la degradación de aminoácidos de los procesos catabólicos descritos hasta el momento: cada aminoácido contiene un grupo amino.

En 1960 Schinke concluyó que las proteínas se renuevan más rápidamente de lo que vive la célula. Existe una renovación proteica intracelular, cuyo equilibrio dinámico de biosíntesis/degradación es de 300 g/día, lo que supone que una energía, aproximadamente del 20% de la correspondiente al metabolismo basal, se debe utilizar para efectuar la biosíntesis endergónica compensadora.

El papel del catabolismo proteico intracelular puede ser múltiple: contrarrestar la acumulación de proteínas anormales, potencialmente dañinas; luchar contra el envejecimiento celular; colaborar al aporte energético en ocasiones metabólicas especiales (ayuno, situación hipocalórica); finalmente la proteólisis puede constituir un eficaz sistema para controlar la cantidad de proteínas relevantes.

Para catalizar la degradación existen proteasas intracelulares (similares a las digestivas) que han sido asociadas a diversas estructuras celulares pero suelen abundar más en las organelas especializadas en la digestión intracelular, los lisosomas, que son vesículas intracelulares de tamaño variable ácidas dotadas de enzimas denominadas CATEPSINAS.

Desde el punto de vista hormonal, la degradación aumenta con niveles elevados de hormonas tiroideas, glucocorticoides, glucagón o la alta ingesta proteica mientras que la insulina actúa de modo opuesto. En todo caso, la degradación intracelular de las proteínas conduce a la liberación de sus aminoácidos, componentes que pueden volver a utilizarse en la resíntesis proteica, catabolizarse totalmente o transformarse en precursores neoglucogénicos para glucosa o cetogénicos, hasta acetyl-CoA.

## DESTINO DEL NITRÓGENO AMÍNICO.

El nitrógeno ocupa el 4º lugar después del hidrógeno, oxígeno y carbono en la composición de las células vivas. El nitrógeno atmosférico es abundante pero inerte para su utilización en la mayoría de procesos bioquímicos.

Los aminoácidos presentes en las proteínas de la dieta son la fuente de la mayor parte de grupos amino. La mayoría de los aminoácidos se metabolizan en el hígado. Parte del amoníaco generado se recicla y utiliza en diversos procesos biosintéticos; el exceso se excreta directamente o se convierte en ácido úrico o urea para su excreción según el organismo.

## Gráfico Pág. 360

En estas reacciones encontramos el coenzima piridoxal fosfato (forma funcional de vitamina B6). Los aminoácidos glutamato y glutamina juegan papeles especialmente críticos en estas rutas.

Los grupos amino de los aminoácidos se transfieren en 1º lugar al  $\alpha$ -cetoglutarato del citosol de las células hepáticas formando glutamato.

A continuación se transporta el glutamato a la mitocondria y sólo allí se elimina el grupo amino para formar  $\text{NH}_4^+$ . El exceso de amoníaco generado en la mayor parte de los tejidos se convierte en el nitrógeno amídico de la glutamina transportándolo después a la mitocondria.

En el músculo los grupos amino en exceso se transfieren al piruvato formando alanina que es otra molécula importante en el transporte de grupos amino llevándolos desde el músculo hasta el hígado.

## Gráfico Pág. 361.

El piridoxal fosfato (PLP) facilita la transferencia de grupos amino al glutamato. Los grupos  $\alpha$ -amino de los 20 aminoácidos que se encuentran en las proteínas se eliminan durante la degradación oxidativa de los aminoácidos.

Muchos organismos acuáticos (peces y anfibios) liberan simplemente amoníaco en forma de  $\text{NH}_4^+$  al medio circulante (animales amoniotélicos).

La mayoría de vertebrados terrestres convierten primero al amoníaco en urea (hombre, otros mamíferos y tiburones) o ácido úrico (aves, reptiles) que se eliminan por orina (animales ureotélicos y uricotélicos, respectivamente).

La eliminación de los grupos amino, 1º paso del catabolismo de la mayoría de los aminoácidos se lleva a cabo por medio de las enzimas denominadas aminotransferasas o transaminasas. En estas reacciones de transaminación se transfiere el grupo  $\alpha$ -amino al átomo de carbono  $\alpha$  del  $\alpha$ -cetoglutarato, dejando el correspondiente  $\alpha$ -cetoácido análogo del aminoácido.

El efecto de las reacciones de transaminación es recoger los grupos amino de muchos aminoácidos diferentes en forma de uno sólo, el L-glutamato.

Reacción de las aminotransferasas (transaminación). El  $\alpha$ -cetoglutarato es el aceptor del grupo amino.

## Gráfico Pág. 363.

El grupo prostético de las aminotransferasas es el piridoxal fosfato (PLP), forma coenzimática de la piridoxina o vitamina B6.

La medida de las concentraciones de alanina aminotransferasa (ALT = GPT; glutamato-piruvato transaminasa) y aspartato amino-transferasa (AST = GOT: glutamato-oxalacetato transaminasa) en el suero constituye un procedimiento diagnóstico importante en medicina utilizando como indicador de lesión cardíaca y/o hepática y para comprobar la recuperación de la misma.

El amoníaco se forma a partir del glutamato. En el hígado, los grupos amino de muchos aminoácidos se eliminan mediante la transaminación con cetoglutarato formando L-glutamato.

Gráfico Pág. 364.

El glutamato se transporta desde el citosol a la mitocondria en donde experimenta desaminación oxidativa catalizada por la L-glutamato deshidrogenasa. Esta enzima, que sólo se encuentra en la matriz mitocondrial, requiere el NAD<sup>+</sup> como aceptor de los equivalentes de reducción.

La acción combinada de las aminotrasferasas y la glutamato deshidrogenasa se conoce con el nombre de tansdesaminación.

La glutamato deshidrogenasa está influenciada por el modulador positivo ADP y por el modulador negativo GTP. Cuando un hepatocito necesita combustible para el ciclo de Krebs aumenta la actividad de la glutamato deshidrogenasa, suministrando cetoglutarato (c. Krebs) y libera NH<sub>4</sub><sup>+</sup> para su excreción por orina.

La glutamina transporta amoníaco al hígado. El amoníaco es muy tóxico para los tejidos animales y debe ser convertido en un compuesto no tóxico antes de ser exportado de los tejidos extrahepáticos a la sangre y de ahí al hígado o riñones.

El glutamato, que es muy importante para el metabolismo de grupos amino intracelulares, es sustituido por L-glutamina para la función de transporte. En muchos tejidos, incluido el cerebro, el amoníaco se combina enzimáticamente con el glutamato dando glutamina por acción de la glutamina sintasa. Esta reacción requiere de ATP y tiene lugar en 2 pasos. La glutamina es un compuesto neutro, no tóxico que puede pasar fácilmente a través de las membranas celulares, cosa que no puede hacer el glutamato.

En la mayoría de animales terrestres la glutamina se transporta por la sangre al hígado. La glutamina da origen al amoníaco sólo dentro de las mitocondrias hepáticas en donde la glutaminasa convierte la glutamina en glutamato y NH<sub>4</sub><sup>+</sup>

La glutamina es una forma principal de transporte de amoníaco, normalmente se halla presente en la sangre a concentraciones mucho más elevadas que otros aminoácidos. Además de su papel de transporte de grupo amino, la glutamina sirve de fuente de grupos amino en diversas reacciones biosintéticas.

Gráfico Pág. 366.

La alanina transporta amoníaco desde los músculos al hígado. La alanina transporta a los grupos amino al hígado en forma no tóxica mediante el ciclo de la glucosa-alanina.

La alanina pasa a la sangre y es transportada al hígado. Al igual que con la glutamina, el exceso de nitrógeno transportado al hígado en forma de alanina se descarga fácilmente como amoníaco en la mitocondria. La alanina transfiere su grupo amino al cetoglutarato formando glutamato en el citosol. Parte de este glutamato se transporta a la mitocondria y sobre él actúa la glutamato deshidrogenasa liberando NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.

El glutamato transfiere en el músculo su grupo amino al piruvato, un producto fácilmente asequible de la glucólisis muscular, por acción de la alanina aminotransferasa.

La utilización de la alanina para transportar amoníaco desde músculos esqueléticos muy activos al hígado es otro ejemplo de la economía intrínseca de los organismos vivos.

Los músculos esqueléticos sometidos a contracción vigorosa operan de forma anaeróbica, produciendo no sólo amoníaco a partir de la degradación de proteínas sino también grandes cantidades de piruvato a partir de la glucólisis.

Los dos productos van al hígado: el amoníaco para ser convertido en urea para excreción y el piruvato para formar glucosa y volver a los músculos.

Se transporta átomos de carbono del piruvato así como el exceso de amoníaco, desde el músculo al hígado en forma de alanina. En el hígado, la alanina forma piruvato, material de partida de la gluconeogénesis y libera  $\text{NH}_4^+$  para la síntesis de urea imponiéndose la carga energética de la gluconeogénesis al hígado y no al músculo de modo que el ATP disponible en el músculo sirve para la contracción muscular.

#### Resumen:

El metabolismo de cualquier aminoácido suele iniciarse con una desaminación, es decir la pérdida de su nitrógeno amínico y producción de amoníaco. Ello puede ocurrir de varias formas:

- Por medio de las transaminasas o aminotransferasas, cuyo grupo prostético es el fosfato de piridoxal (vitamina B6). Entre las transaminasas más abundantes en los tejidos animales destacan la glutamato/oxalacetato transaminasas o GOT (AST = aspartato aminotransferasa) y la glutamato/piruvato transaminasa o GPT (ALT = alanina aminotransferasa). Los niveles de transaminasas están regulados por vía hormonal y por la dieta y el interés clínico radica en que son marcadores de enfermedades cardíacas (infarto) y hepáticas (hepatitis).
- Desaminación oxidativa efectuada por una aminoácido deshidrogenasa (ej: la glutamato deshidrogenasa cataliza la transformación de glutamato en cetoglutarato).
- Mediante la acción combinada de la glutamato deshidrogenasa con la transaminasa.
- Conversión entre glutamato y glutamina, catalizada por la glutamina sintetasa o la recíproca de glutamina a glutamato catalizada por la glutaminasa.
- Ciclo de los nucleótidos adenílicos.

El amoníaco es un producto muy tóxico para todos los tejidos de los mamíferos, especialmente para el sistema nervioso. Cuando aumenta la concentración de amoníaco en plasma aparece visión borrosa, torpeza en la expresión oral pudiendo provocar el coma y la muerte del paciente.

Para liberar al citosol del amoníaco se utiliza la afinación reductora del cetoglutarato que forma glutamato mediante la glutamato deshidrogenasa y la conversión del glutamato a glutamina por la glutamina sintetasa.

Estas 2 enzimas se hallan a concentraciones elevadas en el cerebro, aunque el 2º representa la vía más importante para la eliminación de amoníaco.

Los mamíferos superiores, como el hombre, son ureotélicos y fabrican urea, que se elimina por orina.

En el hombre y muchos organismos superiores, para evitar la acumulación tóxica del amoníaco libre, existen mecanismos de control en órganos y tejidos, como el músculo, riñón, intestino y cerebro. 2 vías: a.–

glutamato, transformándose en glutamina por medio de la glutamina sintetasa; b.– cetoglutarato que pasa a glutamato (glutamato deshidrogenasa). El glutamato vuelve nuevamente a cetoglutarato por acción de las transaminasas que simultáneamente convierten el piruvato en alanina y el oxalacetato en aspartato.

Gráfico Pág. 371.

Así pues, en estos órganos y tejidos se produce una desaparición de glutamato, piruvato y oxalacetato, y una producción de glutamina, aspartato y alanina, que son transportados por la sangre hasta el hígado. Allí, el aspartato puede entrar directamente en el ciclo de la urea, de donde saldrá como fumarato, y la alanina y glutamina retornan a sus formas iniciales titulares de piruvato y glutamato, cediendo el amoníaco al ciclo de la urea.

Para cerrar todo el proceso, el fumarato mediante los sistemas enzimáticos relacionados con el ciclo de Krebs puede convertirse a la forma original tisular de oxalacetato.

### CICLO DE LA UREA

Los seres ureotélicos, como el hombre, eliminan el nitrógeno amínico de los aminoácidos en forma de urea por la orina, de modo que el nitrógeno ureico, en condiciones normales representa el 80% del nitrógeno total excretado.

La síntesis de urea se realiza en el denominado ciclo de la urea, merced a un conjunto de enzimas que actúan coordinadamente y que suelen estar presentes, muchos de ellas, en la mayor parte de los tejidos de los mamíferos, aunque el ciclo parece funcionar globalmente como tal tan sólo en el hígado. Por tanto, el amoníaco en las mitocondrias de los hepatocitos se convierte en urea mediante el CICLO DE LA UREA.

Gráfico Pág. 372.

Esta ruta fue descubierta en 1932 por Hans Krebs y Kart Henseleit.

La producción de urea tiene lugar casi exclusivamente en el hígado y representa el destino de la mayor parte del amoníaco allí canalizado.

Krebs y Henseleit encontraron que la velocidad de formación de urea a partir del amoníaco se aceleraba mucho al añadir cualquiera de los siguientes aminonácidos: ornitina, citrulina y arginina y que el proceso es CICLICO en el que la ornitina juega un papel similar al del oxalacetato en el ciclo de Krebs. Por tanto, los 3 aminoácidos que estimulan la formación de urea a partir de amoníaco en el hígado son ornitina, citrulina y arginina siendo los 2 primeros los precursores sucesivos de la arginina.

Una molécula de ornitina se combina con una molécula de amoníaco y una de CO<sub>2</sub> para formar citrulina. Se adiciona un segundo grupo amino a la citrulina formando arginina que es hidrolizada a continuación dando UREA y regenerando la ornitina.

Los animales ureotélicos tienen grandes cantidades del enzima arginasa en el hígado. Este enzima cataliza la hidrólisis irreversible de la arginina en urea y ornitina. La ornitina está entonces a punto para la próxima vuelta del ciclo de la urea.

La urea pasa, a través de la sangre, a los riñones y es excretada por la orina.

En la formación de urea a partir de amoníaco intervienen 5 pasos enzimáticos.

El ciclo de la urea empieza en el interior de las mitocondrias de los hepatocitos si bien 3 pasos tienen lugar en



el citosol; por tanto el ciclo abarca 2 compartimentos celulares.

El primer grupo amino que entra en el ciclo de la urea proviene del amoníaco del interior de la mitocondria resultado de las múltiples rutas antes descritas o del intestino a través de la vena porta llega al hígado, en donde se produce por oxidación bacteriana de aminoácidos.

Cualquiera que sea su origen, el  $\text{NH}_4^+$  generado en las mitocondrias hepáticas se utiliza inmediatamente, junto con el  $\text{HCO}_3^-$  producido por la respiración mitocondrial, produciendo carbamoil fosfato en la matriz. Esta reacción gasta 2 ATP y es catalizada por el enzima mitocondrial, carbamoil fosfato sintetasa I (enzima regulador).

El paso siguiente consiste en la transferencia del carbamoil fosfato hasta el grupo lateral del aminoácido no proteico ornitina para dar lugar a otro aminoácido no proteico, citrulina, mediante la enzima mitocondrial ornitina transcarbamoilasa. La citrulina abandona la mitocondria gracias a un transportador específico ubicado en la membrana interna mitocondrial. En esta situación, se incorpora el que será el segundo grupo amínico de los 2 que forman la urea.

El donador directo del mismo es el aspartato, que condensa al grupo carbonilo de la citrulina, necesitando de la participación de ATP y de la enzima arginosuccinato sintetasa produciéndose el arginino-succinato que es escindido por la enzima arginino-succinato liasa liberándose fumarato y formándose el aminoácido directamente precursor de la urea, la arginina, que entra en el fondo de intermedios del ciclo de Krebs.

En muchos seres vivos, el proceso finaliza aquí, pero en los seres ureotélicos, el ciclo suele concluir con la acción de una última enzima, la arginasa, que de modo muy irreversible escinde arginina en urea y ornitina entrando en la mitocondria y reiniciando el ciclo.



## Urea

El ciclo de la urea es un proceso oneroso para los organismos ureotélicos, con el consumo de 4 ATP por cada urea eliminada. Respecto al oxalacetato, se puede recuperar del fumarato que sale del ciclo de la urea, vía malato, gracias a las enzimas descritas en el ciclo de Krebs, fumarasas y malato deshidrogenasa, con lo que se obtendría un NADH por lo que si consideramos la reconversión del fumarato en oxalacetato, el costo energético queda notablemente reducido.

Gráfico Pág. 376.

## Los ciclos del ácido cítrico y de la urea están conectados.

El fumarato producido en la reacción de la arginina-succinato liasa es también un intermedio del ciclo de krebs.

El fumarato entra en la mitocondria en donde las actividades combinadas de la fumarasa y de la malato deshidrogenasa transforman el fumarato en oxalacetato.

Con la formación de oxalacetato se obtiene un NADH por lo que si consideramos la reconversión del fumarato en oxalacetato, el costo energético del ciclo de la urea de 4 ATP queda notablemente reducido (1 ATP).

El aspartato, que actúa como dador de nitrógeno en la reacción del ciclo de la urea catalizada por la arginino-succinato sintetasa del citosol, se forma a partir del oxalacetato por transaminación desde

glutamato; el otro producto de esta transaminación es el cetoglutarato que es otro intermediario del ciclo de Krebs. Dado que las reacciones de los ciclos de la urea y de Krebs están interconectadas se las han denominado conjuntamente como DOBLE CICLO DE KREBS.

Gráfico Pág. 377.

Gráfico Pág. 378.

Cuando la dieta es hiperproteica y durante la inanición severa, en la que la degradación de la proteína muscular suministra gran parte del combustible metabólico, aumenta de manera sustancial la producción de urea.

El enzima que regula el proceso en su conjunto es la carbamoil fosfato sintetasa I. Hay que destacar la activación alostérica ejercida por un metabolito, N-acetil-glutamato, que no participa en el ciclo de la urea, pero que con su presencia regula la actividad. Dicho producto resulta de la actuación de una enzima mitocondrial, N-acetil-glutamato sintetasa, que cataliza la reacción. La enzima necesita, para ser activa, de la presencia de niveles altos de arginina.

El ciclo de la urea apareció como una reconversión necesaria de la ruta biosintética de arginina en respuesta a la necesidad de eliminar los altos niveles de  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{HCO}_3^-$  y constituye además una vía indirecta de regulación del equilibrio ácido-base y del mantenimiento del pH corporal.

Gráfico Pág. 378.

Si el ciclo no funciona correctamente existe una hiperamoniemia acompañada de citrulinemia, aciduria arginosuccínica y/o hiperargininemia según los enzimas que fallen.

Los individuos afectados congénitamente mueren en las primeras semanas de vida o presentan retraso mental como consecuencia de los altos niveles de amoníaco y de la grave repercusión en el desarrollo cerebral.

Si se le detecta precozmente, estas enfermedades pueden paliarse e incluso prevenirse mediante la adopción de dietas especiales bajas en proteínas y el uso de fármacos que disminuyen los niveles de amoníaco.

También puede haber problemas si la carencia congénita es de una enzima que no participa en el ciclo, pero que desarrolla un papel fundamental en la regulación como la N-acetilglutamato sintasa, cuyo déficit provoca cierta hiperamoniemia. El tratamiento es suministrar al afectado fármacos con sustancias análogas a la N-acetilglutamato.

## **TEMA 29. DEGRADACIÓN DEL ESQUELETO CARBONADO DE LOS AMINOÁCIDOS. AMINOÁCIDOS CETOGÉNICOS Y GLUCOGÉNICOS. DEFECTOS ENZIMÁTICOS DE INTERÉS. DESCARBOXILACIÓN DE LOS AMINOÁCIDOS.**

### **DEGRADACIÓN ESQUELETO CARBONADO DE LOS AMINOÁCIDOS.**

El catabolismo de los esqueletos carbonados de los aminoácidos se realiza en cada caso mediante reacciones específicas que desembocan en moléculas participantes en el ciclo de Krebs o bien en el metabolismo intermediario (piruvato, acetil-CoA).

Teniendo en cuenta el carácter renoglucogénico de los intermedios del ciclo de Krebs, los aminoácidos cuyo producto final único es un intermedio del ciclo o el piruvato se consideran como NEOGLUCOGENICOS, mientras que la leucina y lisina, al rendir en su degradación únicamente acetil-CoA, se clasifican como aminoácidos exclusivamente CETOGÉNICOS. El resto se clasifican como mixtos, ya que junto a un

precursor neoglucogénico se obtiene también acetil-CoA.

Hay una ruta catabólica diferente para cada aminoácido (20 rutas).

Las 20 rutas catabólicas convergen para formar sólo 5 productos que entran en el ciclo de Krebs. De ahí los carbonos se pueden desviar hacia la gluconeogénesis o cetogénesis o se pueden oxidar a CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O.

Los esqueletos carbonados de 10 aminoácidos se degradan total o parcialmente, dando en último término acetil-CoA y entran directamente en el ciclo de Krebs [ 5 se degradan a acetil-CoA vía piruvato (alanina, glicina, serina, cisterna, triptófano); los otros 5 se convierten en acetil-CoA y/o acetoacetil-CoA que se rompe seguidamente para formar acetil-CoA (lisina, fenilamina, tirosina, leucina e isoleucina)].

Gráfico Pág. 382.

El triptófano constituye la ruta más compleja de todas las vías catabólicas de aminoácidos ya que parte de él produce acetil-CoA por 2 rutas diferentes, una vía piruvato y la otra vía acetoacetil-CoA.

5 aminoácidos se convierten en cetoglutarato (prolina, glutamato, glutamina, arginina e histidina), 4 en succinil-CoA (metionina, isoleucina, treonina y valina), 2 en fumarato (fenilalanina y tirosina) y 2 en oxalacetato (asparagina y aspartato).

Algunos aminoácidos aparecen más de una vez indicando de que partes diferentes de sus esqueletos carbonados tienen destinos diferentes.

Algunos aminoácidos (los que se degradan a acetoacetil-CoA y/o acetil-CoA: triptófano, fenilalanina, tirosina, isoleucina, leucina y lisina) pueden dar cuerpos cetónicos en el hígado por conversión del acetoacetil-CoA en acetona y  $\beta$ -hidroxibutirato: Aminoácidos CETOGÉNICOS.

La capacidad de formación de cuerpos cetónicos por los aminoácidos cetogénicos es evidente en la diabetes no tratada (a partir no sólo de ácidos grasos sino también de estos aminoácidos).

La degradación de la leucina, aminoácidos exclusivamente cetogénico muy abundante en las proteínas, contribuye de forma sustancial a la cetosis durante la inanición.

Los aminoácidos que se pueden convertir en piruvato, succinil-CoA, cetoglutarato, fumarato y oxalacetato se pueden convertir en glucosa y glucógeno. Se denominan Aminoácidos GLUCOGÉNICOS. Los mejores precursores neoglucogénicos son alanina y serina.

La división entre aminoácidos cetogénicos y glucogénicos no es absoluta ya que 4 aminoácidos (triptófano, fenilalanina, tirosina e isoleucina) son a la vez glucogénicos y cetogénicos. Algunos de los aminoácidos que se pueden convertir en piruvato, especialmente alanina, cisterna y serina, pueden formar también acetoacetato vía acetil-CoA, especialmente en la inanición severa y en la diabetes sin tratar.

Los aminoácidos también pueden ceder parte de sus esqueletos para sintetizar algunos productos nitrogenados de gran interés biológico. Así, pueden ser precursores del grupo hemo y de porfirinas, de las bases purínicas y pirimidínicas, de ciertos coenzimas, nucleótidos y ácidos nucleicos y de numerosos neurotransmisores y hormonas. En concreto, la histamina, sustancia de gran potencia vasodilatadora involucrada en los fenómenos de alergia, procede de la descarboxilación de la histidina, mientras que la serotonina, otro frecuente neurotransmisor, procede de la descarboxilación del triptófano. Las catecolaminas (adrenalina, dopamina y noradrenalina) derivan de tirosina.

El producto de oxidación de la fenilalanina es la tirosina. Además, la fenilalanina, después de su hidroxilación a

tirosina, es también precursor de las hormonas adrenalina y noradrenalina secretadas por la médula adrenal y del neurotransmisor dopamina y melanina que es el pigmento de la piel y del pelo.

#### Descarboxilaciones de interés biológico en los aminoácidos.

Gráfico Pág. 385.

#### CATABOLISMO DE LOS AMINOÁCIDOS.

El catabolismo de los aminoácidos ocurre en los siguientes puntos:

- El hígado es el órgano más importante en el catabolismo de los aminoácidos ya que en él se produce el 75–80% del catabolismo de los aminoácidos incluyendo a casi todos los esenciales, pero exceptuando los ramificados.
- En el músculo esquelético se metabolizan principalmente los aminoácidos ramificados (leucina, isoleucina y valina). En el tejido adiposo, riñón y tejido cerebral ocurre lo mismo, pero en menor cuantía.
- En el intestino, con células que poseen una alta velocidad de división existe una gran necesidad de nitrógeno y de aminoácidos, como el aspartato, precursor de los nucleótidos.
- En el riñón, el equilibrio glutamato/glutamina es de gran utilidad para la regulación del pH urinario. En el cerebro, si no cuantitativamente, si tiene gran interés cualitativo las actuaciones de las descarboxilasas y otras enzimas que a partir de los aminoácidos producen neurotransmisores, tales como el GABA o ácido  $\gamma$ -aminobutírico (desde glutamato); a la dopamina, noradrenalina y adrenalina (desde tirosina); o la serotonina (desde 5-hidroxitriptófano).

#### AMINOACIDOPATÍAS.

Trastornos del catabolismo de algunos aminoácidos por defecto de una enzima participante, lo que provoca un bloqueo metabólico con múltiples consecuencias: acumulación de metabolitos situados con anterioridad al bloqueo; intensificación de rutas metabólicas alternativas para poder transformar o eliminar los metabolitos inusuales acumulados; y déficit de metabolitos que deberían estar presentes tras el lugar en el que ocurre el bloqueo.

Las consecuencias de estas metabolopatías, enzimopatías o aminoacidopatías son variadas pero producen diversas alteraciones neurológicas en las etapas madurativas e incluso la muerte.

Hiperfenilalaninemias. La tipo I o fenilcetonuria aparece en 1:10.000 recién nacidos y produce oligofrenia por defecto de la fenilalanina hidroxilasa. En orina y la sangre de los afectados se acumula fenilalanina cuyo tratamiento es dar dietas libres de fenilalanina (está incluida dentro de los programas de detección de metabolopatías en recién nacidos).

Albinismo (3/100.000 recién nacidos): defecto de la síntesis de melanina a partir de tirosina y el enzima defectuosa es la tirosinasa originando falta de pigmentación, cabello blanco y piel rosada.

Homocistinuria (0.5/100.000 r.n.): alteración en la degradación de metionina por defecto de la enzima cistatina sintasa y origina desarrollo incorrecto de los huesos y retraso mental.

Gráfico Pág. 388.

#### BIOSÍNTESIS DE AMINOÁCIDOS.

En el hombre normal existen una síntesis y catabolismo diario de proteínas de unos 300 g.

Una parte de los aminoácidos necesarios para la síntesis proteica (75%) se recuperan de los obtenidos en el catabolismo proteico, pero el resto deben suministrarlos la dieta o sintetizarse en nuestras células.

La mitad de los 20 aminoácidos proteínicos no son sintetizados (carecemos de genes y de enzimas precisos) en nuestro organismo, y por tanto se deben de tomar en los alimentos: AMINOÁCIDOS ESENCIALES, que en los adultos son: fenilalanina, triptófano, valina, isoleucina, leucina, lisina, metionina y treonina. A ellos es normal sumar durante el periodo de infancia la arginina y la histidina e incluso la tirosina y la cisterna en niños prematuros con sistemas enzimáticos inmaduros.

Atendiendo a la naturaleza de sus precursores respectivos, la biosíntesis de los aminoácidos puede agruparse en familias.

Gráfico Pág. 390.

Aminoácidos no esenciales y esenciales para el hombre.

| NO ESENCIAL | ESENCIALES   |
|-------------|--------------|
| Alanina     | Arginina*    |
| Asparagina  | Histidina*   |
| Aspartato   | Isoleucina   |
| Cisteína    | Leucina      |
| Glutamato   | Lisina       |
| Glutamina   | Metionina    |
| Glicina     | Fenilalanina |
| Prolina     | Treonina     |
| Serina      | Triptófano   |
| Tirosina    | Valina       |

Esencial en individuos jóvenes en crecimiento, pero en los adultos.

### **TEMA 30. METABOLISMO DE LOS NUCLEÓTIDOS PURÍNICOS Y PIRIMIDÍNICOS. FORMACIÓN DE ÁCIDO ÚRICO.**

#### **INTRODUCCIÓN**

Gráfico Pág. 393.

1. Los nucleótidos son los precursores de los ácidos nucleicos ADN y ARN.
2. El ATP y en cierta medida el GTP, son los principales transmisores de energía.
3. Los nucleótidos son cofactores NAD, FAD, coenzima A,

4. Finalmente tanto AMPc como CMPC pueden actuar como segundos mensajeros.

La estructura ribonucleotídica purínica se puede alcanzar mediante una síntesis total desde sus adecuados precursores (de novo) o bien a través de las vías de salvamento o de recuperación (reciclan las bases libres y los nucleósidos liberados a partir de la ruptura de los ácidos nucleicos), a partir del depósito de bases y nucleósidos procedentes de la dieta o del propio catabolismo purínico.

Los nucleótidos primimidínicos se sintetizan a partir de bases y nucleósidos ya disponibles, pero en este caso la síntesis intracelular de novo se realiza al nivel de base, no en forma de nucleótido, como ocurre con los purínicos.

En cuanto a los desoxirribonucleótidos, se obtienen desde los correspondientes ribonucleótidos, mediante una reducción a nivel de ribosa hasta 2-desoxirribosa, catalizada enzimáticamente.

Los lugares de síntesis más activa se corresponden con situaciones de multiplicación o división celular y por tanto de gran producción de los correspondientes ARNmensajero que formarán los nuevos ácidos nucleicos.

El catabolismo es mayor en los sitios en que hay pérdidas celulares importantes (piel, mucosa intestinal, sangre, etc).

## ORIGEN ESTRUCTURA PRIMARIA

Gráfico Pág. 395.

El núcleo purínico consta de 2 heterociclos unidos entre sí, con un total de 9 átomos.

Las 2 bases purínicas más habituales de los ácidos nucleicos son la ADENINA y la GUANINA, siendo de interés, así mismo la HIPOXANTINA y la XANTINA.

## BIOSÍNTESIS DE NUCLEÓTIDOS PURÍNICOS.

La vía de biosíntesis de las purinas fue descrita por 1ª vez por Buchanan y Grenberg en la década de los cincuenta.

Existen vías metabólicas que pueden reutilizar bases ya preformadas (procedentes de la dieta o del metabolismo) que junto al 5-fosforribosil-1-pirofosfato (PRPP) y mediante enzimas fosforribosil transferasas, catabolizan la formación de los correspondientes nucleótidos... Estas rutas denominadas de salvamento o recuperación permiten, a partir de adenina y con la enzima adenina fosforribosil transferasa, sintetizar AMP o ácido adenílico, mientras que otra enzima, la hipoxantina-guanina fosforribosil transferasa permite obtener IMP o GMP a partir, respectivamente, de hipoxantina o de guanina. La falta de esta última enzima, codificada por un gen del cromosoma X, es el origen del síndrome de Lesch-Nyhan que cursa con importantes afectaciones neurológicas y funcionales de los niños afectados.

En cualquier caso, la vía biosintética más importante desde el punto de vista cuantitativo es la de novo, que conduce a la estructura purínica del nucleótido ácido inosínico, IMP, precursor de AMP, XMP y el GMP.

El origen final de los átomos del núcleo purínico varía. Los átomos 4, 5 y 7 proceden de la glicina. Los 2 nitrógenos, en posiciones 3 y 9, de la glutamina, mientras que el N1 tiene su origen en el aspartato.

1ª etapa del proceso: síntesis del 5-fosforribosil-1-pirofosfato (PRPP), catalizada por la correspondiente sintetasa que necesita de la hidrólisis de ATP y que es muy importante para la regulación de la ruta.

El PRPP da origen tras varios pasos al IMP y este nucleótido precursor purínico puede seguir 2 alternativas:

- Mediante la adenilsuccinato sintetasa y la adenilsuccinato liasa, el nitrógeno del aspartato se introduce en la molécula aceptora del IMP, que se convierte en AMP, con la ayuda de la energía de hidrólisis de un GTP.
- Con el concurso de la IMP deshidrogenasa, se transforma el IMP en XMP que, mediante la GMP sintetasa (XMP-glutamina amidotransferasa), conduce hasta GMP, necesitándose la energía de hidrólisis de un ATP hasta AMP.

Gráfico Pág. 398.

#### ORIGEN ESTRUCTURA PIRIMIDÍNICA.

Gráfico Pág. 399.

El núcleo pirimidínico es un heterociclo con 2 átomos de nitrógeno situados en posiciones 1 y 3.

Las bases pirimidínicas más usuales en los ácidos nucleicos son el URACILO, CITOSINA Y TIMINA.

El origen de los átomos del núcleo pirimidínico es menos variado que en el caso del purínico. Así, los átomos 1, 4, 5 y 6 proceden del aspartato y el N3 y C2 del carbamoilfosfato, es decir, de glutamina y CO<sub>2</sub>, respectivamente.

#### BIOSÍNTESIS DE NUCLEÓTIDOS PIRIMIDÍNICOS.

La principal diferencia entre la biosíntesis de nucleótidos pirimidínicos y purínicos es que el núcleo pirimidínico se sintetiza a nivel de base, no de nucleótido.

La vía biosintética se lleva a cabo en el citoplasma aunque una de sus etapas (dihidroorotato deshidrogenasa) transcurre en el interior de la mitocondria.

Se inicia con la formación de carbamoil fosfato. Tras ella actúa la aspartato transcarbamoilasa y otras 2 enzimas más y se consigue la ciclación pirimidínica en forma de la base ácido uracilo, que mediante la ornato fosforribosil transferasa cataliza la síntesis del nucleótido purínico ácido orotidílico, cuya descarboxilación conduce al UMP.

El CTP deriva del UTP mediante la CTP sintetasa, reacción en la que la glutamina proporciona el nitrógeno necesario y el ATP su energía de hidrólisis.

Gráfico Pág. 401.

Alteraciones patológicas del metabolismo purínico:

Aciduria urica: falla la ornato fosforribosil transferasa o la orotidilato descarboxilasa, o ambas, presentando los afectados cuadros de anemia megaloblástica, retraso mental y excreción de mucho ácido urico.

#### FORMACIÓN DE DESOXIRRIBONUCLEÓTIDOS.

Gráfico Pág. 402.

Para la síntesis o replicación del ADN son necesarios los correspondientes desoxirribonucleótidos (nucleótidos que poseen 2-desoxirribosa en lugar de ribosa).

La reducción correspondiente se realiza en los nucleósidos difosfato, actuando el NADPH como reductor final, mediante un sistema enzimático, cuya actividad ribonucleótido reductasa o ribonucleótido difosfato reductasa hace que una pequeña proteína participante, la tioredoxina, actúe de reductora. La situación inicial de la tioredoxina se recupera mediante una actividad flavoenzimática tioredoxina reductasa, cuyo reductor final es el NADPH. Existe un mecanismo alternativo que en vez de utilizar la tioredoxina se sustituye por la glutarredoxina reductasa.

El dATP y el ATP son los principales reguladores. El precursor inmediato del dTMP es el dUMP, catalizada por la timidilato sintasa.

En efecto, el dATP bloquea todas las reacciones, mientras que el ATP estimula la reducción de todos los nucleótidos, directamente con los pirimidínicos UDP y CDP hasta dUDP y dCDP, e indirectamente los purínicos. El ATP favorece la obtención secuencial de dCDP, dUMP y dTTP y el dTTP activa la transformación de GDP hasta dGDP; el dGTP, a su vez incrementa la conversión de ADP hasta dADP. Todo ello significa la existencia de un fino control del proceso.

## DEGRADACIÓN DE LAS PURINAS: FORMACIÓN DE ÁCIDO ÚRICO.

Gráfico Pág. 404

La degradación de los nucleótidos purínicos mediante las nucleotidasas y nucleósido fosforilasas correspondientes conduce hasta sus bases constitutivas, salvo en el caso de la adenosina que, mediante la adenosina desaminasa, se transforma en inopina, no existiendo la adenosina fosforilasa.

De un modo análogo, la base guanina se convierte en xantina. Finalmente, es la enzima xantina oxidasa la que actúa catalizando la oxidación de hipoxantina en xantina.

La xantina se convierte por medio de la xantina oxidasa en ácido úrico, producto final, que se excreta por la orina en la mayoría de los primates entre ellos el hombre y algunas aves.

El alopurinol (fármaco) inhibe a la xantina oxidasa.

Gráfico Pág. 405.

El ácido úrico es el producto final de excreción del catabolismo de las purinas en los primates, aves y algunos otros animales.

La velocidad de excreción de ácido úrico por un ser humano adulto normal está alrededor de 0.6 g/24 horas, formándose a partir de las purinas ingeridas y del recambio de los nucleótidos de purina.

En otros seres vivos, el ácido úrico puede continuar la ruta degradativa hasta alantoína por medio de la acción de la urato oxidasa (mamíferos no primates, ciertos reptiles y moluscos), ácido alantoico (peces teleósteos) o incluso urea y amoníaco (otros peces y anfibios).

### La vía de degradación de las pirimidinas por lo general produce UREA.

Una sobreproducción de purinas conduce a la producción de unos niveles elevados de ácido úrico y GOTA. En la enfermedad de la gota existe hiperuricemia y poca solubilidad de urato monosódico el cual se deposita en forma de cristales en articulaciones y riñones. Las articulaciones se inflaman, son dolorosas y se desarrolla artritis (depósito anormal de cristales de urato monosódico). No se sabe cual es la causa de la gota pero se piensa en un defecto genético enzimático implicado en el metabolismo de las purinas.



El alopurinol (fármaco para el tto de la gota), por su similitud estructural con el sustrato, es un inhibidor competitivo de la xantina oxidasa reduciendo la producción de ácido úrico. Favorece la producción de hipoxantina y xantina, más soluble en agua y con menos posibilidad de formar cristales, eliminándose xantina e hipoxantina por orina.

La falta de adenosina desaminasa (mutación en su gen, cromosoma 20) es la responsable de una cierta proporción de los casos de inmunodeficiencia combinada (T y B) grave (niños burbuja). El tratamiento génico realizado por 1ª vez fue exitoso y por tanto es un nuevo camino terapéutico.

Xantina: enfermedad hereditaria por falta de xantina oxidasa que impide la formación de ácido úrico, por lo que los productos catabólicos consisten fundamentalmente en xantina, que se deposita en forma de cálculos en el tracto urinario, además de producir otras complicaciones.

Las bases purínicas y pirimidínicas libres que se forman en la degradación metabólica de los nucleótidos se recuperan y pueden utilizarse de nuevo para sintetizar nucleótidos. La vía es distinta de la utilizada para la síntesis de novo de purinas. Una de las vías de recuperación consiste en una única reacción catalizada por la adenosina fosforribosiltransferasa en la que la adenina libre reacciona con el PRPP para dar el correspondiente nucleótido de adenina (AMP). La guanina libre y la hipoxantina se recuperan de la misma forma utilizando el enzima hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa.

La carencia genética de actividad hipoxantina-guanina fosforribosil transferasa, enfermedad genética ligada al sexo, o enfermedad de Lesch-Nyham: son niños varones con retraso mental, mala coordinación, hostiles, tendencias compulsivas autodestructivas (automutilación de dedos y labios) y se suele expresar a los 2 años de edad.

### **UNIDAD III: BASE MOLECULAR DE LA INFORMACIÓN GENÉTICA.**

#### **TEMA 31. ÁCIDOS NUCLEICOS. CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES DEL ADN. ARN: CARACTERÍSTICAS, TIPOS Y FUNCIONES.**

##### **INTRODUCCIÓN.**

Los ácidos nucleicos (ADN y ARN) van a participar en multitud de funciones del metabolismo celular y son los depositarios moleculares de la información genética celular. Son compuestos ricos en energía que dirigen los procesos metabólicos en todas las células y además son señales químicas y como componentes estructurales de cofactores enzimáticos e intermediarios metabólicos.

La estructura de cada una de las proteínas es producto de la información programada en la secuencia de nucleótidos de los ácidos nucleicos de la célula. En el ADN de cada célula se encuentra especificada las secuencias de aminoácidos de todas sus proteínas y las secuencias de nucleótidos de todas sus moléculas de ARN.

Estructuralmente un nucleótido está formado por 3 componentes: base nitrogenada (pirimidina o purina), pentosa (ADN: 2-desoxi-D-ribosa; ARN: D-ribosa) y grupo fosfato. Bases y pentosas son compuestos heterocíclicos unidos por medio de un enlace N-glucosídico y el fosfato está esterificado a la pentosa.

Cuando la molécula no contiene el grupo fosfato se denomina NUCLEÓSIDO.

Tanto el ADN como el ARN contienen 2 bases purínicas: adenina (A) y guanina (G). El ADN y el ARN contienen también 2 bases pirimidínicas: citosina (C) en ambos tipos de ácido nucleico y la segunda base es la única diferencia importante entre las bases del ADN que es timina (T) y del ARN que es uracilo (U).

Los 4 desoxirribonucleótidos del ADN son: dAMP, dGMP, dTMP y dCMP. Los 4 ribonucleótidos del ARN son: AMP, GMP, UMP, CMP.

Los nucleótidos sucesivos del ADN y del ARN están unidos covalentemente mediante puentes de grupo fosfato. El grupo hidroxilo en 5' de un nucleótido está unido al grupo hidroxilo 3' del siguiente nucleótido por un enlace fosfodiéster. La estructura de una cadena o hebra simple de ácido nucleico se escribe siempre con el extremo 5' a la izquierda y el 3' a la derecha; es decir en la dirección 5' 3' (ejemplo pApCpGpT ó pACGT).

Un ácido nucleico de cadena corta (< 50 nucleótidos) se denomina oligonucleótido. Los ácidos nucleicos de mayor longitud se denominan polinucleótidos.

Las bases se unen entre sí por medio de puentes de hidrógeno y permiten la asociación complementaria de 2 cadenas de ácido nucleico. Los patrones de formación de enlaces de hidrógeno son los definidos por Watson y Crick, según los cuales A se enlaza específicamente con T (o U) y G se enlaza con C (bases complementarias). Estos 2 tipos de pares de bases predominan en el ADN y el ARN de doble cadena. El apareamiento específico de las bases complementarias permite la duplicación de la información genética.

ADN y ARN, componentes fundamentales de ácidos nucleicos, están localizados en el núcleo de la célula eucariota. También existe ADN en mitocondrias y ARN en mitocondrias, ribosomas y citosol. Además ambos tipos de ácidos nucleicos forman parte de procariotas y virus.

Las moléculas de ARN sirven como portadoras de la información genética en algunos virus y en la célula el ARN puede llevar a cabo funciones de transmisor temporal de parte de la información genética (ARN mensajero, ARNm) o bien participar en el proceso de síntesis de proteínas o como componentes esenciales de parte de la maquinaria biosintética: ARN de transferencia (ARNt) y ARN ribosómico (ARNr).

## TIPOS DE ÁCIDOS NUCLEICOS.

El descubrimiento de la estructura del ADN a cargo de James Watson y Francis Crick en 1953 fue un acontecimiento trascendental para la ciencia que supuso el inicio de la era moderna de la bioquímica genética: la estructura en doble hélice del ADN. La teoría genética aportó el concepto de que la codificación corre a cargo de los genes. La bioquímica desveló la composición del ADN.

La unidad fundamental de información en los sistemas vivos es el GEN y el ADN es el único componente cromosómico dotado de información genética en las células vivas. Un gen se define como aquel segmento de ADN (o ARN en algunos casos) que codifica la información necesaria para la síntesis de un producto biológico final (proteína o ARN). Una célula tiene muchos miles de genes (< 100.000 genes) y por tanto las moléculas de ADN tienden a ser muy largas.

- ◊ ARN ribosómico (ARNr): componentes estructurales de los ribosomas, son de gran tamaño y llevan a cabo la síntesis de proteínas.
- ◊ ARN mensajeros (ARNm): ácidos nucleicos que transportan la información desde un gen o unos pocos genes hasta el ribosoma, donde se sintetizan las proteínas codificadas por dichos genes.
- ◊ ARN de transferencia (ARNt): moléculas adaptadoras que traducen con fidelidad la información contenida en el ARNm en secuencias específicas de aminoácidos.

Gracias al descubrimiento del ARNm y del ARNt y a la resolución del código genético se pudo comprender de qué modo se convertía la información contenida en el ADN en proteínas funcionales.

3 pasos fundamentales utilización celular de la información genética:

**REPLICACIÓN:** copia del ADN paterno para formar moléculas de ADN hijas con idéntica secuencia de nucleótidos.

**TRANSCRIPCIÓN:** proceso mediante el cual parte del mensaje genético del ADN se copia de manera precisa en forma de ARN.

**TRADUCCIÓN:** por la cual el mensaje genético codificado en el ARNm se traduce en los ribosomas en forma de proteína caracterizada por una secuencia de aminoácidos específica.

Gráfico Pág. 413.

Hoy día se está desarrollando a partir de estos conocimientos la base de la tecnología del ADN recombinante por la cual es posible el diagnóstico prenatal de enfermedades genéticas, producción de una gran variedad de agentes farmacéuticos, secuenciación de la totalidad del genoma humano, introducción de características nuevas en bacterias, plantas y animales con aplicaciones agrícolas e industriales, terapia génica humana, etc..

La información genética de todas las células está almacenada bajo la forma de ADN que forma el genoma celular. La estructura del ADN permite llevar a cabo 2 funciones básicas:

- Portar la información para la síntesis de las diferentes proteínas celulares que van a determinar el fenotipo celular.
- asegurar la continuidad genética entre generaciones, mediante la capacidad de replicación o copia de la información que se transmite a la descendencia.

La información codificada en el ADN bajo secuencias de 4 bases nitrogenadas necesita ser copiada a otro tipo de moléculas muy parecidas, constituidas por ARN.

#### CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES DEL ADN

- CADENA POLINUCLEÓTIDA.

Gráfico Pág. 415.

La estructura química base de las moléculas de los ácidos nucleicos es una cadena polinucleótida formada por la repetición de unidades (nucleótidos) unidas por enlaces típicos: enlaces fosfodiéster entre la posición 5' de un nucleótido y la 3' del nucleótido adyacente. La sucesión de bases nitrogenadas forma la denominada secuencia.

Las cadenas polinucleótidas de ADN y ARN son muy similares, ya que sólo se diferencian en que la pentosa es 2-desoxi-D-ribosa en el ADN y ribosa en el ARN y en el que el ADN utiliza la base timina y el ARN el uracilo.

Las cadenas de ADN son más estables que las de ARN.

- ESTRUCTURA DEL ADN.

La estructura primaria de un ácido nucleico es su estructura covalente y su secuencia de nucleótidos. Cualquier estructura regular y estable adoptada por secuencia de nucleótidos. Cualquier estructura regular y estable adoptada por algunos o todos los nucleótidos de un ácido nucleico puede ser considerada secundaria. En general se denomina estructura terciaria al plegamiento complejo de grandes cromosomas en la cromatina eucariótica.

Diferentes tipos de estudios han puesto de manifiesto que la mayor parte de las moléculas de ADN son estructuras largas, flexibles y de aspecto filamentosas en disolución, que pueden adoptar estructuras más empaquetadas al interactuar con otros componentes en el interior de las células.

La forma predominante de las moléculas de ADN es una estructura de doble hélice formada por 2 cadenas polinucleótidas que se enrollan helicoidalmente, una alrededor de la otra, sobre un eje imaginario central. Las bases purínicas y pirimidínicas de ambas cadenas están apiladas en el interior de la doble hélice.

Todas las bases de cada una de las cadenas interactúan por medio de enlaces por puentes de hidrógeno, siendo 0.34nm la separación entre cada par. La hélice tiene un enrollamiento con giro a la derecha dando una vuelta completa cada 3.6 nm (cada 10 pares de bases).

Gráfico Pág. 417.

La estructura helicoidal presenta 2 surcos de diferentes anchura denominados surco mayor y menor.

Se forman 3 enlaces de hidrógeno entre G y C mientras que solamente se pueden formar 2 entre A y T (reglas de Chargaff).

Watson y Crick postularon un modelo tridimensional para la estructura del ADN. Las 2 cadenas de la doble hélice tienen secuencias complementarias, ya que sólo están permitidos los apareamientos específicos entre bases: A-T y G-C. La característica fundamental del modelo es la complementariedad de las 2 hebras de ADN. El proceso de copia de la estructura (replicación) ocurre tras la separación de las 2 hebras y la síntesis de una hebra complementaria para cada una de ellas mediante la secuencia de apareamiento.

La forma de doble hélice descrita es la B pero existen la forma A y Z (más rara).

- **TAMAÑO Y FORMA DE LAS MOLÉCULAS ADN.**

Gráfico Pág. 418.

Las moléculas de ADN presentan tamaños diferentes, según su origen, que van desde los miles de pares de bases (las más pequeñas) hasta millones de pares de bases.

El tamaño del ADN se expresa en kilobases (1kb = 1000 pares de bases). El ADN en el interior de la célula debe encontrarse bajo formas que permitan un mayor empaquetamiento.

En cuanto a la forma, se conocen moléculas de ADN lineal (cromosomas de células eucariotas), ADN circular (cromosomas bacterianos, virus, etc) pero la gran mayoría del ADN es bicatenario a excepción de los genomas de determinados virus que es circular monocatenario.

- **DINÁMICA DEL ADN: DESNATURALIZACIÓN Y RENATURALIZACIÓN.**

El ADN funciona correctamente como un depositario de la información genética gracias en parte a su estabilidad inherente. Las transformaciones químicas que tienen lugar en su estructura son generalmente muy lentas en ausencia de un catalizador enzimático.

Procesos como la carcinogénesis y el envejecimiento pueden estar íntimamente ligados a la acumulación lenta de alteraciones irreversibles en el ADN.

Además de proporcionarnos información sobre procesos biológicos, el conocimiento de la química de los ácidos nucleicos nos ha dotado de mitologías de aplicación en biología molecular, medicina y medicina legal.

Debido a que las uniones entre las 2 cadenas del ADN son débiles (enlaces por puentes de hidrógeno e interacciones entre bases) es posible separar parcial o totalmente ambas cadenas con un aporte bajo de energía. Las disoluciones de ADN cuidadosamente aislado y en estado nativo son muy viscosas a pH 7 y temperatura ambiente (20 – 25°C).

La separación total de las cadenas de un ADN bicatenario en disolución recibe el nombre de DESNATURALIZACIÓN y ésta se puede conseguir fácilmente elevando el pH de la disolución o por calentamiento de la misma (> 80 – 90°C). La desnaturalización no rompe ningún enlace covalente del ADN.

La desnaturalización conlleva la rotura de enlaces de hidrógeno entre las bases apareadas y la rotura de las interacciones hidrofóbicas. Como consecuencia de ello la doble hélice se desenrolla y da lugar a 2 hebras simples separadas una de otra.

La temperatura de desnaturalización depende de cada especie de ADN y va a depender del contenido G + C (son más estables que los A + T) ya que al poseer 3 enlaces por puentes de hidrógeno necesita más temperatura.

La renaturalización del ADN es un proceso rápido si es de un solo paso y algo más lento en el de 2 pasos, cuando la temperatura y el pH retornan a valores situados dentro del margen biológico. Los segmentos desenrollados de las 2 hebras vuelven a enrollarse, es decir, hibridarse o templarse (anneal) para dar lugar al dúplex intacto.

El proceso de desnaturalización es reversible, por lo que al restablecer las condiciones normales las cadenas complementarias vuelven a aparearse para formar la estructura bicatenaria, mediante el paso de renaturalización.

También se pueden separar los ARN de doble cadena pero las moléculas dúplex de ARN son más estables que las moléculas dúplex de ADN y necesitarán > 20° C para desnaturalizarse con respecto al ADN.

Si las moléculas dúplex de ADN aisladas a partir de células humanas se desnaturalizan completamente por acción del calor y a continuación se mezclan y mantienen a 65°C durante muchas horas, una gran parte del ADN se renaturalizará o hibridará (anneal) en doble hebra a cadenas complementarias.

La hibridación del ADN de origen diferente es la base de un conjunto de poderosas técnicas, esenciales para la práctica moderna de la genética molecular. Gracias a estas técnicas de hibridación es posible actualmente la exacta identificación de un individuo (cabello) o predecir ciertas enfermedades.

Las purinas y pirimidinas junto a los nucleótidos de los que forman parte sufren una serie de reacciones (desaminación, radiaciones UV, ionizantes, fármacos, etc) en las que se producen alteraciones espontáneas de su estructura covalente. Las alteraciones en la estructura del ADN que dan lugar a variaciones permanentes en la información genética codificada por la molécula se denominan MUTACIONES. Es posible que la fuente más importante de alteraciones mutagénicas en el ADN sean los procesos oxidativos (radicales libres, ión superóxido, etc) y disponemos de catalasas o superóxido dismutasa.

La propiedad más importante del ADN es su secuencia de nucleótidos (identificar el GENOMA HUMANO). La secuenciación de nucleótidos se basa en métodos electroforéticos que permiten la separación de hebras de ADN que difieren en únicamente un nucleótido. La electroforesis (archilamida o agarosa) del ADN es similar a las de las proteínas.

Gráfico Pág. 422.

- EMPAQUETAMIENTO DEL ADN EN LOS CROMOSOMAS.

Las moléculas del ADN que contienen los genes celulares son las mayores macromoléculas. Normalmente se encuentran empaquetadas en estructuras denominadas CROMOSOMAS. La mayor parte de las bacterias y los virus tienen un único cromosoma; los organismos eucarióticos suelen tener muchos de ellos. Un cromosoma suele contener normalmente miles de genes individuales. El conjunto de todos ellos y del ADN intergénico de todos los cromosomas de una célula se conoce como GENOMA CELULAR.

**Cromosoma:** molécula de ácido nucleico que actúa como depositaria de la información genética en un virus, bacteria, orgánulo o célula eucariota. Se localiza en el núcleo durante el periodo inmediatamente anterior a la mitosis y si la célula eucariótica no está en proceso de división, el material cromosómico, denominado CROMATINA, es amorfo y aparece disperso y desordenado por la totalidad del núcleo.

La cromatina está formada por ADN y proteínas en cantidades aproximadamente equivalente, siendo las histonas las proteínas más abundantes en la cromatina y una pequeña cantidad de ARN. Las histonas son proteínas de bajo peso molecular, ricas en aminoácidos básicos (arginina y lisina), que empaquetan y ordenan el ADN en unidades estructurales denominadas NUCLEOSOMAS (unidad fundamental de organización). Una porción del ADN, de aproximadamente 200 pb se enrolla dando lugar a la formación del nucleosoma. El plegamiento empaqueta el ADN unas 50 veces. El grado de compactación final del cromosoma es de aproximadamente 10.000 veces.

Gráfico Pág. 424.

Además del gran cromosoma de ADN circular que se encuentra en el núcleo, muchas especies de bacterias contienen 1 o más moléculas pequeñas de ADN circular que se encuentran libre en el citosol denominados plásmidos. Los plásmidos constituyen modelos de utilidad para el estudio de muchos procesos del metabolismo del ADN.

La longitud de contorno total de todo el ADN de una única célula humana es de aproximadamente 2 metros, si el cuerpo contiene aproximadamente  $10^{14}$  células, se encuentra alrededor de  $2 \times 10^{11}$  Km (distancia al sol  $1,5 \times 10^{14}$  Km o circunferencia de la tierra  $4 \times 10^4$  Km).

Por ello es necesario un nivel de organización y compactación extraordinaria para conseguir empaquetar el ADN de las células.

La estructura de la cromatina es variable (en forma de fibras delgadas o empaquetados como los cromosomas durante la metafase). El nº diploide de cromosomas depende de cada especie (humano: 46 (23 pares); bacterias: 1; mosca de la fruta: 8; gato: 38; rata: 42; conejo: 44; gallina: 78). Cada cromosoma tiene unos determinados genes.

Además del ADN del núcleo existe ADN mitocondrial (0.1% del total).

Un gen es aquella parte de un cromosoma que determina o afecta a un solo carácter o fenotipo (enzima, proteína o polipéptido) como por ejemplo, el color de los ojos. Sin embargo, no todos los genes se expresan finalmente en forma de cadena polipeptídica. Algunos genes codifican diferentes clases de ARN, como ARNt y ARNr.

Los genes que codifican para polipéptidos o ARN se conocen como GENES ESTRUCTURALES: codifican la secuencia primaria de algún producto génico final, como una enzima o un ARN estable. El ADN contiene también otros segmentos o secuencias que tiene una función puramente REGULADORA.

Cada aminoácido de una cadena polipeptídica está codificada por una secuencia de 3 nucleótidos consecutivos en una sola cadena de ADN.

Sin embargo no siempre es así ya que muchos genes se hallan interrumpidos por segmentos de ADN no codificantes denominados INTRONES, dando como resultado genes considerablemente más largos. Los segmentos del ADN codificantes se denomina EXONES.

Gráfico Pág. 427.

El ADN celular debe estar altamente compactado para poder caber dentro de la célula.

El empaquetamiento debe permitir el acceso a la información contenida en el ADN y hacer posible los procesos de replicación y transcripción.

Para ello se necesita del superenrollamiento (enrollar algo que ya está enrollado). El superenrollamiento es una característica intrínseca e importante de la estructura terciaria del ADN.

Se estima que en el genoma humano existen 100.000 genes.

### CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES DEL ARN

Las moléculas de ARN son polinucleótidos semejantes al ADN pero en los que el azúcar es ribosa en lugar de desoxirribosa y de uracilo en lugar de timina.

Las moléculas de ARN suelen tener monocatenarias y de tamaño mucho menor que las moléculas de ADN. El ADN se localiza en el núcleo mientras que el ARN se localiza en el núcleo y citoplasma.

El ARN, el segundo tipo principal de ácido nucleico de la célula, actúa de intermedio en la conversión de la información genética en proteínas funcionales. El ARN transporta la información genética por medio del ARNm, desde el ADN hacia la maquinaria biosintética del ribosoma, lugar en el cual los mensajeros actúan como moldes que sirven para especificar las secuencias de aminoácidos de las cadenas polipeptídicas.

El proceso de formación del ARNm sobre un molde de ADN se conoce con el nombre de TRANSCRIPCIÓN.

Si únicamente contiene información para la síntesis de un polipéptido, el ARNm es monocistrónico (son los habituales en las células eucarióticas) y si codifica para 2 o más polipéptidos diferentes, el ARNm es policistrónico. Una cadena polipeptídica de 100 residuos aminoácidos requiere una secuencia codificante de ARN de al menos 300 nucleótidos, puesto que cada aminoácido está codificado por un triplete de nucleótidos.

El ARNm es sólo una de las varias clases de ARN celulares. Los ARN de transferencia actúan como moléculas adaptadoras en la síntesis de proteínas; unidos covalentemente a un aminoácido por un extremo, se aparean por el otro extremo con el ARNm, de tal modo que los aminoácidos se unen formando cadenas con la secuencia correcta. Los ARN ribosómicos son componentes estructurales de los ribosomas..

En las células, el ARN es más abundante que el ADN, ocupando el ARNr alrededor del 80% del total, seguido del ARNt con un 15%. El ARNm representa alrededor del 5% del ARN celular.

Los ARN tienen una función relacionada con el proceso de síntesis de proteínas, sin embargo se conocen moléculas de ARN que representan por sí misma actividad catalítica semejante a las enzimas, por lo que se conoce con el nombre de RIBOZIMAS.

Independientemente de la clase de ARN que se sintetice, el producto de la transcripción es siempre una cadena simple de ARN. La naturaleza nonohebra de estas moléculas no implica que su estructura sea al azar. El ARN puede formar pares de bases de hebras complementarias de ARN o ADN. Las reglas estándar de apareamiento son idénticas que las de ADN: G-C y A-U.

## FLUJO DE INFORMACIÓN EN LOS SERES VIVOS.

En todos los seres vivos, la información almacenada en el ADN sirve para la síntesis de proteínas específicas, existiendo un flujo de información que va desde las secuencias codificadas del ADN a las secuencias proteicas, a través de la síntesis de moléculas intermediarias del ARNm, portadoras de la información de una parte reducida del genoma. Este camino se puede considerar dividido en 2 etapas: TRANSCRIPCIÓN Y TRADUCCIÓN.

**TRANSCRIPCIÓN:** información de una determinada parte del genoma, escrita en una secuencia de 4 bases en el ADN que es copiada bajo la forma de una molécula de un material muy similar, el ARNm, que presenta una secuencia de bases similar a la copiada (con la excepción de U en lugar de T).

**TRADUCCIÓN:** con esta copia la información escrita bajo la forma de secuencia de bases en el ARNm va a servir para la síntesis de una cadena polipeptídica en la que el orden o secuencia de aminoácidos dentro de la misma refleja la sucesión de bases en la molécula de mensajero.

Gráfico Pág. 430

La lectura de secuencia de bases se realiza en conjuntos de 3 bases o unidades de codificación (CODONES), denominándose código genético a la relación existente entre los diferentes codones y los 20 aminoácidos proteicos.

La transmisión de la información genética entre las diversas generaciones celulares requiere de la duplicación del material genético por medio de un proceso de copiado o REPLICACIÓN de ADN.

Por tanto, los procesos de replicación, transcripción y traducción son fundamentales para el mantenimiento del flujo de la información genética.

La información genética de muchos virus está también codificada por ADN y sigue mecanismos de expresión similares a los utilizados por el ADN celular.

Sin embargo, existen virus en los que la información está codificada por un genoma de ARN, que sirve para la síntesis de proteína y para su replicación sin el concurso de ADN, transmitiéndose la información de ARN a ARN (replicación de ARN). También existen virus ARN en los que la vía de flujo de información genética incluyen la síntesis de ADN a partir de ARN (transcripción inversa).

Gráfico Pág. 432.

Aunque la información genética se encuentra almacenada en el ADN, no todas las secuencias de ADN son codificantes. Una secuencia codificante está formada por una sucesión de nucleótidos, que leídos de 3 en 3 y de manera no solapada (cada base forma parte de un solo triplete) codifican para una secuencia polipeptídica, incluyendo además las señales de iniciación y terminación en ambos extremos.

En el ADN humano, sólo una pequeña fracción del ADN total es codificante. Parte del ADN no codificante está formado por regiones reguladores que flaquean las regiones codificantes y por secuencias intercaladas que interrumpen las regiones codificantes.

Las secuencias más altamente repetidas se denominan ADN satélite y se han asociado con 2 estructuras importantes de los cromosomas: centrómero y los telómeros (situados en los extremos de los cromosomas, ayudan a estabilizarse).

Una característica de muchas secuencias diana es la de poseer elementos de simetría como ocurre con las



secuencias palindrómicas (se leen igual en un sentido que en el opuesto).

## **TEMA 32. REPLICACIÓN DEL ADN: ADN POLIMERASA. TRANSCRIPCIÓN: ARN POLIMERASA. ETAPAS DE LA TRANSCRIPCIÓN. MADURACIÓN DEL ARN.**

### **CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS PROCESOS DE SÍNTESIS DE ÁCIDOS NUCLEICOS.**

El ADN ocupa un lugar central y único entre las macromoléculas biológicas. Las secuencias de nucleótidos del ADN describen en último término la estructura primaria de todos los ARN y proteínas celulares.

Se puede utilizar el término de metabolismo del ADN para describir el proceso mediante el cual se hacen copias fieles de las moléculas de ADN (REPLICACIÓN) junto con los procesos de afectan a la estructura de la información contenida (REPARACIÓN y RECOMBINACIÓN).

El ADN es la única molécula para la que existen mecanismos de reparación. Los procesos mediante los que se reordenan la información genética se denomina RECOMBINACIÓN. La mayoría de procesos de recombinación son conservadores en le sentido de que no se pierde ni gana información genética.

La replicación tiene como misión la transmisión de la información genética de célula a célula, de generación a generación, mientras que la transcripción es la 1ª etapa en el camino de la obtención de la información genética del ADN, lo que va a conferir a cada célula su propia identidad, manifestada en la síntesis de un conjunto de proteínas típicas responsables del fenotipo celular.

La replicación es un proceso previo a la división por el que las moléculas de ADN de una célula se duplican para formar nuevas moléculas iguales a las preexistentes, que se van a repartir equitativa entre cada una de las 2 células hijas formadas en el proceso de división celular. Este proceso se produce tan sólo una vez para una célula en cuestión y afecta a todo el ADN de la misma.

La transcripción es un proceso de síntesis de moléculas de ARN que consiste en el copiado de la secuencia de 1 de las 2 cadenas de una zona concreta del ADN. Es un proceso de copia parcial y reiterativa del ADN, a diferencia de la replicación en la que se copian integramente y de una sola vez las 2 cadenas del mismo.

Desde el punto de vista químico, ambos son procesos de síntesis de cadenas polinucleótidas a partir de desoxinucleósidos trifosfato (dNTP), en el caso de replicación, o de nucleósidos trifosfato (NTP) en el de la transcripción. A parte de los 2 procesos mayoritarios de síntesis de ácidos nucleicos existen otros minoritarios: transcripción inversa y replicación de ARN.

Las enzimas que llevan a cabo la síntesis de ácidos nucleicos (ADN plimerasas y ARN polimerasas) sólo son capaces de hacerlo en dirección 5' 3'. Las cadenas de ADN deben de estar desapareadas, en forma parcialmente monocatenaria, para que sus bases pueden aparearse de manera específica con las bases de los nucleótidos que van a ser polimerizados.

La degradación dirigida del ADN se lleva a cabo por enzimas denominadas NUCLEASAS O DNasas son específicos para el ADN. Cada célula contiene diversas nucleasas diferentes que se reparten en 2 clases amplias: exonucleasas y endonucleasas.

Las exonucleasas degradan ADN desde un extremo de la molécula (rompen enlaces terminales, liberando mononucleótidos).

Las endonucleasas actúan en el interior de los ácidos nucleicos reduciéndolos a fragmentos cada vez más pequeños (rompen enlaces internos). Existen también unas cuantas clases importantes de endonucleasas que cortan en secuencias nucleotídicas específicas (ej: endonucleasas de restricción).

Una diferencia importante en el mecanismo de síntesis de los 2 tipos de ácidos nucleicos es que el proceso de transcripción la síntesis de ARN puede comenzar mediante la unión de 2 NTP, mientras que los enzimas que sintetizan a ADN sólo pueden unir dNTP al hidroxilo del extremo 3' de una cadena preexistente de ácido nucleico, denominada CEBADOR. Debido a que al apareamiento entre cadenas sólo puede ser antiparalelo, la cadena molde es leída o recorrida por las enzimas en la dirección 3'5'.

## REPLICACIÓN DEL ADN

La replicación es un proceso muy complejo que se desarrolla con gran fidelidad ya que en él se lleva a cabo la copia de millones de pares de bases con una tasa de error prácticamente insignificante.

La replicación del ADN es semiconservadora. Si cada cadena de ADN actúa de molde para la síntesis de una nueva cadena, se producirán 2 moléculas de ADN nuevas cada una con una cadena nueva y una vieja. Este proceso se denomina replicación semiconservadora (hipótesis propuesta por Watson y Crick).

La replicación del ADN bacteriano es un proceso altamente coordinado en el que las cadenas parenterales se desarrollan y replican simultáneamente, siendo bidireccional. Comienza en una zona concreta del cromosoma circular, denominada origen de replicación y se extiende a partir de este punto en direcciones opuestas (replicación bidireccional), mediante la actuación de 2 equipos de maquinaria replicativa (replisomas), cada uno de los cuales se encarga de la síntesis de la mitad del cromosoma.

La síntesis del ADN transcurre en dirección 5'3' y es semidiscontinua. Una cadena nueva de ADN siempre se sintetiza en la dirección 5'3'. Debido a que las 2 cadenas de ADN son antiparalelas, la cadena que actúa de molde se lee desde su extremo 3' al 5'.

Más del 90% de la actividad ADN polimerasa de los extractos de E. Coli se debe a la ADN polimerasa I. En los años 70 se identificaron a la ADN polimerasa II y III. La II tiene una función de reparación de ADN muy especializada y la III es el enzima primario de replicación en E. Coli. La I cumple importantes funciones de limpieza durante la replicación, recombinación y reparación.

2 requisitos centrales para la polimerización del ADN:

- Todas las ADN polimerasas requieren de un molde (reglas apareamiento de bases en donde hay una G en el molde se añade una C).
- Se requiere de un cebador. Un cebador es un segmento de cadena nueva (complementario al molde) con un grupo 3' hidroxilo al que se pueden añadir nucleótidos.

Después de la adición de un nucleótido a una cadena creciente de ADN, la ADN polimerasa se ha de disociar o bien trasladarse a lo largo del molde y añadir otro nucleótido.

La ADN polimerasa además de su actividad polimerizante 5'3' posee una actividad exonucleasa 3' 5' (actividad correctora que asegura el copiado sin errores de las largas cadenas polinucleotídicas).

En los organismos eucariotas, la replicación del ADN nuclear es más compleja que en las bacterias (mayor nº de pares de bases y de más longitud, la organización de la fibra de cromatina es más compleja).

La síntesis del ADN eucariota tiene lugar durante una fase concreta del ciclo celular (la fase S) en la que se replican los diferentes cromosomas nucleares y en la que se produce una gran síntesis de proteínas histonas (necesarias para regenerar la cromatina).

Maquinaria de replicación del ADN eucariota: ADN POLIMERASA ( , , , ). Otras enzimas (cebadora,

ADN ligasa topoisomerasa, etc).

En las bacterias, además de la molécula de ADN principal, existen pequeñas moléculas de ADN circular, denominadas plásmidos, que se replican, simultáneamente o no, con el cromosoma principal, y por un mecanismo similar. En las células eucarióticas, tiene también lugar la replicación del ADN mitocondrial por medio de la maquinaria mitocondrial que es diferente a la existencia en el núcleo celular.

Gráfico Pág. 440.

## LESIONES DEL ADN. MUTACIONES.

Una célula generalmente sólo tiene 1 ó 2 conjuntos de ADN genómico y mientras que las proteínas y las moléculas de ARN pueden ser reemplazadas rápidamente en caso de resultar dañadas utilizando información codificada en le ADN, las moléculas de ADN son irremplazables.

Las moléculas de ADN y la información genética se va transmitiendo de generación con muy pocos cambios. Ello se debe por una parte a que el proceso de replicación se realiza de una manera muy precisa y por otra a que las moléculas de ADN son metabólicamente estables.

Sin embargo, las moléculas de ADN no son invulnerables y están sujetas a una serie de ataques tanto por agentes físicos como químicos, exógenos y endógenos, que producen lesiones o alteraciones de las estructura del mismo.

Gran nº de estas lesiones pueden ser detectadas y corregidas por los sistemas de reparación del ADN presentes en cada célula. Las que no se reparan, pueden dar lugar a errores en la replicación, originando un cambio permanente de la información genética o mutación. Por tanto, las MUTACIONES son los cambios permanentes en la secuencia nucleotídica del ADN.

### Lesiones y modificaciones del ADN

| Tipos de lesiones                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Pérdida de bases</li> <li>• Cambios de bases</li> <li>• Modificaciones química de bases</li> <li>• Cortes en cadenas polinucleot.</li> <li>• Entrecruzamiento de cadenas</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Producción de sitios apurínicos o apirimidínicos.</li> <li>• Desaminaciones (C–uracilo, A–hipoxantina, etc)</li> <li>• Errores de replicación (sustitución de bases).</li> <li>• Mutilación, alquilación, etc</li> </ul>                                                                                                                                                      |
| Causa de las lesiones                                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Espontáneas</li> <li>• Inducidas</li> </ul> <p style="margin-left: 150px;">◇ Agentes físicos</p> <p style="margin-left: 150px;">◇ Agentes químicos</p>                              | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Desaminaciones</li> <li>• Pérdida de bases</li> <li>• Errores de replicación</li> <li>• Radiación UV (dímeros de pirimidina)</li> <li>• Radiación ionizante (cortes en las cadenas)</li> <li>• Acido nitroso (C–U)</li> <li>• Agentes alquilantes (mutilaciones, alquilaciones)</li> <li>• Agentes bifuncionales (entrecruzamientos)</li> <li>• Carcinógenos, etc.</li> </ul> |
| Efectos sobre el ADN                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |

|                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• alteraciones de bases: <ul style="list-style-type: none"> <li>◊ Desaminaciones</li> <li>◊ Metilaciones</li> <li>◊ Etc</li> </ul> </li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Distorsión de la estructura <ul style="list-style-type: none"> <li>◊ Dímeros de pirimidinas</li> <li>◊ Entrecruzamientos</li> <li>◊ Modificaciones de bases por grupos voluminosos.</li> </ul> </li> </ul> |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

Las mutaciones más corrientes son las denominadas PUNTUALES, que afectan a un par de bases en la secuencia del ADN, y que incluyen el cambio de una base por otra (sustitución) o la pérdida (delección) o ganancia (inserción) de una base.

Gráfico Pág. 443

En algunos casos, la mutación no produce ninguna alteración (mutación silenciosa) pero en otros origina el cambio de un aminoácido de una proteína por lo que puede afectar a su actividad biológica. En algunos casos, la mutación puntual puede dar lugar a una proteína troncada o con gran parte de la secuencia alterada, por lo que serán biológicamente inactivas.

Las mutaciones favorables que confieren alguna ventaja a la célula en la que tienen lugar son raras si bien la frecuencia es suficiente para conferir la variación necesaria para la selección natural y, por tanto, la evolución. No obstante la mayoría de las mutaciones son deletéreas para la célula y algunas están ligadas al cáncer.

Otras mutaciones comprenden la pérdida de varios pares de bases o incluso secuencias más grandes, multiplicaciones anormales de determinadas secuencias o traslados de secuencias de unas regiones del cromosoma a otras o entre diferentes cromosomas (translocaciones). Todas ellas suelen ocasionar alteraciones fenotípicas evidentes.

Las mutaciones del ADN son muchas menos que el nº de alteraciones que se producen en las moléculas de ADN debido a la existencia de mecanismos de reparación.

Sistemas de reparación del ADN:

- ◊ Reparación apareamientos incorrectos: varias proteínas y enzimas.
- ◊ Reparación por eliminación de bases alteradas: ADN glicosilasas (eliminan uracilo, hipoxantina, bases metiladas, etc).
- ◊ Reparación por escisión (eliminación secuencia): endonucleasas, ADN polimerasa, ADN ligasas.
- ◊ Reparación con tendencia al error: ADN polimerasa II y otras enzimas.

Las alteraciones de algunos de los sistemas de reparación dan lugar a determinadas enfermedades (xeroderma pigmentosa: gran parte de las lesiones son inducidas por la luz UV por lo que los pacientes desarrollan múltiples cánceres de piel si se exponen a la luz solar, ataxia telangiectasia) y a un aumento de la predisposición a neoplasias.

La reparación del ADN es posible en gran parte debido a que la molécula de ADN consta de 2 cadenas complementarias. Puede eliminarse y reemplazarse de forma precisa la lesión del ADN en una cadena siguiendo las instrucciones del molde en la cadena complementaria no dañada.

## TRANSCRIPCIÓN

En la expresión de la información genética contenida en un segmento de ADN siempre interviene la generación de una molécula de ARN. Por tanto, el ARN es la única molécula conocida que tiene tanto

funciones informativas como catalíticas. El ARN tiene una diversidad estructural mayor que el ADN que le permite asumir varias funciones celulares.

La transcripción es el proceso por el cual la información que, en forma de secuencia de 4 bases (A, T, C, G) en una cadena de polidesoxirribonucleótidos, se plasma en una información escrita en el mismo lenguaje (4 bases: A, U, C, G) en forma de cadena de polirribonucleótido. Desde el punto de vista químico, es un proceso de síntesis de ARN a partir de 4 ribonucleósidos trifosfato y ADN que actúa como molde. Por tanto por medio de la transcripción, un sistema enzimático convierte la información genética de un segmento de ADN en una cadena de ARN con una secuencia de bases complementaria a una de las cadenas de ADN.

Resultado global de la transcripción: síntesis de los diferentes tipos de moléculas de ARN celulares:

- ◊ ARNr: se asocia con la formación de proteínas en los ribosomas.
- ◊ ARNt: lee la información codificada en el ARNm y transfiere el aminoácido adecuado a la cadena polipeptídica en crecimiento durante la síntesis proteica.
- ◊ ARNm: portador de las secuencias de a.a. de 1 ó más polipéptidos especificados por un gen o conjunto de genes de cromosomas.

La replicación y la transcripción difieren en un aspecto importante. Durante la replicación se copia el cromosoma entero dando ADN hijo que es idéntico al ADN parenteral, mientras que la transcripción es un proceso selectivo.

La transcripción es un proceso reiterativo ya que una zona concreta del ADN se puede copiar repetidamente, dando lugar a la formación de copias múltiples de una determinada molécula de ARN.

La transcripción es muy similar a la replicación en términos de mecanismo químico. Los 2 procesos difieren en que la transcripción no requiere de un cebador, sólo afecta generalmente a cortos segmentos de una molécula de ADN y dentro de estos segmentos, sólo una de las 2 cadenas de ADN actúa como molde.

## TRANSCRIPCIÓN DE GENES PROCARIOTAS

En las bacterias existe una única enzima, ARN polimerasa dependiente de ADN, que se encarga de transcribir todos los genes del cromosoma bacteriano, dando lugar a la formación de los 3 tipos fundamentales de ARN (ARNr, ARNt y ARNm).

La ARN polimerasa requiere además de un molde de ADN, los 4 ribonucleósidos trifosfatos (ATP, GTP, UTP y CTP) como precursores de las unidades nucleotídicas del ARN, así como magnesio.

La ARN polimerasa elonga una cadena de ARN por adición de unidades de ribonucleótido al extremo 3' de la cadena de ARN, por lo que construye cadenas de ARN en la dirección 5' 3'. Sólo se utiliza una de las 2 hebras de ADN como molde, copiada en la dirección 3' 5' (antiparalela a la nueva cadena de ARN) al igual que en la replicación de ADN.

A diferencia de la ADN polimerasa, la ARN polimerasa no requiere de un cebador para iniciar la síntesis. Sin embargo, el inicio de la síntesis de ARN sólo tiene lugar en secuencias específicas llamadas PROMOTORES.

La hebra que sirve de molde para la síntesis de ARN se denomina hebra molde o hebra menos (-). La hebra de ADN complementaria al molde se denomina hebra codificante, no molde o más (+) que es idéntica en secuencia de bases al ARN transcrito del gen con T en lugar de U.

Codificante (5') CGCTATAGCGTTT (3') Hebra no molde de ADN (+)

(3') GCGATATCGCAA (5') Hebra molde de ADN (-)

(5') CGCUAUAGCGUUU (3') Transcrito de ARN

La ARN polimerasa se une a secuencias específicas del ADN o promotores que dirigen la transcripción de segmentos adyacentes de ADN (genes). Mutaciones que afectan a los promotores modulan la eficiencia de la fijación de la ARN polimerasa y de la transcripción.

El proceso de síntesis se puede considerar dividido en 3 etapas denominadas iniciación, elongación y terminación.

Las unidades de transcripción procariotas suelen estar formadas por más de 1 gen, por lo que el ARNm resultante, denominado policistrónico, lleva la información para la síntesis de 2 o más cadenas polipeptídicas diferentes.

## TRANSCRIPCIÓN EN EUKARIOTAS

La transcripción del ADN nuclear en organismos eucariotas es muy similar a la que tiene lugar en bacterias, aunque las enzimas participantes, la organización de las unidades de transcripción y sus promotores son muy diferentes a las procariotas.

Se conocen 2 ARN polimerasas nucleares diferentes, cada una de las cuales participa en la síntesis de un tipo determinado de ARN. Además, existe una ARN polimerasa dependiente de ADN localizada en la mitocondria que se encarga de la síntesis de los ARN mitocondriales.

Los eucariotas tienen 3 ARN polimerasas diferentes designados como I, II y III.

Los genes eucariotas se pueden clasificar, de acuerdo con la polimerasa que los transcribe, en genes tipo I (codifican para las cadenas grandes de ARNr), de tipo II (codifican para ARNm) y de tipo III (codifican para ARNt, ARNr y otros ARN).

Las ARN polimerasas dependientes de ADN, para llevar a cabo la transcripción, requieren de una serie de factores auxiliares (de transcripción), que participan en el proceso de iniciación favoreciendo la localización o anclaje de la ARN polimerasa al lugar de iniciación o el inicio de la síntesis de ARN.

Los factores de transcripción que modulan la fijación de la ARN polimerasa al promotor. Además estos factores junto con la ARN polimerasa forman un complejo multiproteico que es capaz de comenzar la síntesis de ARN en los lugares adecuados.

Los factores de transcripción se clasifican en generales (están presentes en todos los tipos de células) y específicos o inducibles (se sintetizan o activan en tejidos determinados y en un momento concreto).

## INHIBIDORES DE LA REPLICACIÓN Y TRANSCRIPCIÓN

Existen inhibidores que interactúan con el ADN, afectando su estructura y su capacidad para actuar como molde en los procesos de replicación y transcripción. Estos inhibidores son muy poco específicos ya que afectan a dichos procesos tanto en virus como en células procariotas y eucariotas.

Determinadas sustancias afectan a la síntesis de ácidos nucleicos, porque inhiben los procesos de síntesis de nucleótidos (caso de análogos de bases y nucleósidos), o bien porque se transforman en nucleótidos que al incorporarse a la cadena en síntesis paralizan su extensión o crecimiento.

Por último, los inhibidores más específicos son aquellos que interactúan con alguna de las enzimas implicadas en las diferentes reacciones de la replicación o la transcripción. Dentro de este grupo se encuentran inhibidores de ADN polimerasa, topoisomerasas, ADN ligasas, ARN polimerasas dependientes de ADN, etc, tanto de origen eucariota como procariota.

Los inhibidores específicos de enzimas bacterianos tienen un potencial terapéutico interesante para el tto. De enfermedades bacterianas, mientras que determinados inhibidores de enzimas eucariotas poseen gran interés como agentes antineoplásicos.

## PROCESOS POSTRANSKRIPCIONALES

El producto directo de la transcripción suele sufrir una serie de modificaciones estructurales necesarias para que la molécula de ARN sea funcional (procesos postranscripcionales).

El proceso postranscripcional engloba 3 reacciones: recorte de la cadena polinucleotídica, modificación de bases y nucleósidos y adición de secuencias a ambos extremos de la cadena de ARN. Estas modificaciones contribuyen a hacer más resistentes estas moléculas a los procesos de degradación celular, aumentando, por tanto, su estabilidad metabólica o vida media.

Estos procesos de maduración de los ARN eucariotas ocurren en el núcleo celular y son catalizados por enzimas diferentes. Dichos procesos son necesarios para la salida al citosol de las moléculas de ARN maduro correspondiente.

La mayoría de exones codifican cadenas polipeptídicas de 30 a 50 aminoácidos de longitud. Los intrones presentan una variación de tamaño superiores, incluido el hombre, tienen mucho más ADN dedicado a los intrones que los exones. Los intrones son capaces de autocorte y empalme.

Ciertos virus ARN contienen una ADN polimerasa denominada transcriptasa inversa (retrovirus) por medio de la cual la información genética fluye desde ARN a ADN. Los retrovirus producen cáncer y SIDA.

Gráfico Pág. 453.

## **TEMA 33. BIOSÍNTESIS DE PROTEÍNAS. CÓDIGO GENÉTICO: CARACTERÍSTICAS. ACTIVACIÓN DE AMINOÁCIDOS. ETAPAS DE LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS. MADURACIÓN DE LAS PROTEÍNAS.**

### PRINCIPIOS GENERALES DE LA TRADUCCIÓN.

Las proteínas son los productos finales de la mayoría de las rutas informativas. La síntesis de proteínas que se hace en respuesta a las necesidades celulares del momento es el más complejo de los mecanismos biosintéticos y su elucidación ha sido uno de los mayores retos de la historia de la bioquímica.

La síntesis de proteínas o traducción va a permitir que la información genética almacenada en las moléculas de ácidos nucleicos se plasme bajo la forma de proteínas, que son los componentes estructurales y funcionales básicos para la organización y funcionamiento de la célula.

La síntesis proteica requiere la participación de casi 300 macromoléculas diferentes para sintetizar polipéptidos y consume hasta el 90% de la energía química utilizada por la célula en todas las reacciones biosintéticas. A pesar de esta complejidad, las proteínas se fabrican a velocidades vertiginosas (cadena polipeptídica de 100 residuos se sintetizan a 37°C en 5 segundos).

El 1º descubrimiento: la síntesis de proteínas se produce en los ribosomas.

Un 2º descubrimiento importante fue el hecho de que los aminoácidos estaban unidos a una forma especial de ARN termoestable llamada ARN de transferencia formado aminoacil-ARNt y los enzimas que catalizan este proceso son las aminoacil-ARNt sintetetasas.

Un 3º descubrimiento importante fue el que el ARNt adaptador traduce la secuencia nucleotídica de un ARNm a la secuencia de aminoácidos de un polipéptido y a este proceso global de síntesis de proteínas guiada por el ARNm se denomina TRADUCCIÓN.

La información que determina la secuencia proteica está especificada en el ADN, bajo la forma de secuencia de las 4 bases nitrogenadas (A, T, C, G) características de este tipo de ácido nucleico.

La unidad de codificación o CODÓN viene determinado por una secuencia de 3 bases, que codifica para un determinado aminoácido.

La estructura 1ª de un determinado polipéptido (secuencia de aminoácidos) está escrita en una secuencia concreta de ADN denominada GEN, que se leen en forma de tripletes y en dirección 5' 3'.

La relación existente entre los aminoácidos proteicos y los diferentes tripletes se conoce como CÓDIGO GENÉTICO. Esta información, cifrada en el ADN, no es transmitida de manera directa a las proteínas, sino que lo es a través de moléculas intermediarias de ARN (funciones: información genética; descifrado de la misma; y constitución de la maquinaria celular que va a llevar a cabo el proceso de síntesis proteica). Existen 3 tipos principales de ARN, que participan activamente en el proceso de síntesis de proteínas y que, de acuerdo con su función se clasifican en ARNm, ARNt y ARNr..

La molécula de ARN, resultado de la transcripción de un gen codificante de una cadena polipeptídica determinada, y que lleva la información correspondiente al gen, se denomina ARNm. Existen tantas moléculas de ARN diferentes como genes. Estas moléculas de ARNm son monocatenarias y portan una sucesión de codones equivalentes a la del gen a partir del cual se han copiado. La lectura o descifrado del mensaje, utilizando el ARNm como molde, por la maquinaria biosintética de proteínas, va a dar lugar a la unión de aminoácidos por medio de enlaces peptídicos en una ordenación determinada.