

Tema 16. Metabolismo de hidratos de carbono.

Glicolisis.

Transformación de glucosa en piruvato. Participan 10 enzimas y la secuencia de reacciones es la misma para todos los organismos, las diferencias están en la regulación de los enzimas y el destino del piruvato. Cualquier célula la degrada de 2 maneras:

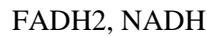
– Fermentación: la glucosa no se degrada completamente porque no se oxida sino que se crean 2 moléculas más pequeñas (de 3 carbonos). Se crea lactato en la fermentación láctica y etanol en la alcohólica. La fermentación no requiere oxígeno. $G<0 = -217 \text{ KJ/mol}$.

– Degradación completa hasta CO₂. Se necesita la ayuda del O₂:



No se produce la combustión completa de la glucosa en una sola reacción sino que se hace en muchas etapas liberando energía en porciones utilizables. Hay varias etapas:

Primera etapa o glicolisis:



Oxidación, intervienen muchos enzimas que recogen todos los electrones del sustrato, para ello necesitan cofactores. Al final de esta etapa tenemos el esqueleto carbonado en forma de CO₂ y los electrones recogidos en la deshidrogenasa.. No se libera toda la energía, parte la conservan los cofactores.

Segunda etapa:

Los cofactores ceden los electrones al O₂ formando H₂O. Los cofactores se han de regenerar. La cadena respiratoria transporta los electrones desde los cofactores al O₂. La cantidad de energía depende de la tendencia de los cofactores a ceder los electrones y la del O₂ para captarlos. Es espontáneo, muy favorable.

Al transportar electrones se bombean protones a través de la membrana:



Degradación de la glucosa por proceso llamado glicolisis en el cual la glucosa de 6 C da lugar a 2 piruvatos de 3 C, formando durante esta reacción NADH. El piruvato para degradarse se descarboxila dando 2 de CO₂ y 2 de HAc, que se une siempre al acetil-CoA. Se forma NADH. Para degradar el acetil-CoA entra en el ciclo de

los ácidos tricarboxílicos (del ácido cítrico o de Krebs).

Cada molécula:

glicolisis 2co2

glucosa acetil–CoA Krebs

NADH 2x2 CO2

H2O NADH FADH2

O2

El acetil–CoA se degrada a 2 de CO2. Acoplado al ciclo se crea mucho NADH y algo de FADH2 que ceden los electrones al O2 formando H2O. En las mitocondrias esta cesión se hace en etapas para liberar porciones de energía.

Si el aceptor final es el O2 se trata de respiración aerobia y si es distinto anaerobia. El aceptor final puede ser S que se transforma en SH2 (bacterias del azufre) o el CO2 que pasa a CH4 (bacterias metanogénicas).

GLICOLISIS.

Descripción.

Ocurren 10 reacciones a través de las cuales la glucosa se transforma en 2 moléculas de piruvato.

- La glucosa se fosforila nada más entrar en la célula a expensas del ATP y se convierte en glucosa–6–P. Si el P procede del ATP la reacción la cataliza una quinasa que como puede actuar sobre otras hexosas (aunque tiene mayor afinidad por la glucosa) recibe el nombre de hexoquinasa. También se puede fosforilar por otro enzima que no intervenga en la cadena glicolítica. El específico de la glucosa es la glucoquinasa. Tiene una afinidad por la glucosa menor que la quinasa (Km más grande). Sólo actúa cuando la concentración de glucosa es muy alta. El paso de glucosa a G6P tiene $G'<0$ pero es irreversible.
- Para facilitar una segunda fosforilación se pasa a un isómero. La G6P pasa a fructosa–6–fosfato gracias a la fosfoquinasa.
- Se fosforila a expensas del ATP gracias a la fosfofructoquinasa convirtiéndose en fructosa–1,6–bifosfato (o FBP). P en C1 y C6. Este paso es irreversible, enzima principal punto de control de la glicolisis. Ésta molécula de degradada, no se almacena.
- La molécula se parte en 2 de 3 carbonos fosforiladas: gliceraldehído–3–fosfato y fosfato dihidroxi acetona. Enzima encargado aldolasa que lleva a cabo una condensación aldoica. $G'>0$, la glicolisis ocurre porque como los productos se consumen se desplaza a la derecha.
- Los 2 isómeros pueden transformarse el uno en el otro por medio de una triosa fosfato isomerasa. Este enzima tiene perfección cinética, va todo lo rápido que le llega el sustrato al sitio activo. En el equilibrio el 90% es PDHA. todo se convierte en Gd3P por lo que la reacción Gd3P ! PDHA está desplazada a la izquierda. El Gd3P recoge todos los carbonos de la glucosa: 1,6 C(1)H2OP

2,5 C(2)HOH

3,4 C(3)OH

Hasta ahora se han gastado 2 ATP. En la segunda etapa del Gd3P se convierte en piruvato:

- Oxidación del aldehído a ácido 3-fosfoglicerato.–
- La célula guarda la energía de oxidación formando un intermediario acoplado con alto potencial de transferencia de Pi, el 1,3-bifosfoglicerato Por medio de la gliceraldehído 3P deshidrogenasa. El enlace ~ tiene gran tendencia a perderse. Ese grupo dirige la síntesis de ATP. Los electrones los recoge el cofactor de la deshidrogenasa, el NAD. Se forma 1 NADH por cada BPG.
- Se forma 3-fosfoglicerato por medio de la 3-fosfoglicerato quinasa con gasto de 1 ATP.
- El P tiene poco potencial de transferencia por lo que se cambia a la posición 2 por medio de la fosfoglicerato mutasa, siendo el resultado 2-fosfoglicerato.
- Se deshidrata por medio de una enolasa dando una forma enólica fosforilada del piruvato, el fosfoenolpiruvato (PEP), que tiene un alto potencial de transferencia del P.
- Por medio de la piruvato quinasa (que está regulado) se obtiene piruvato que conserva los carbonos de la glucosa:

1,6 CH3

2,5 C=O

3,4 COO–

Glicolisis: Gd3P

ATP ADP ATP ADP (CH₂OP)–(CHOH)–(COH)

glucosa G6P F6P F1,6BP aldolasa

glucoquinasa fosfoquinasa fosfofructoquinasa (CH₂OH)–(C=O)–(CH₂OH)

PDHA

NAD+ NADH O

Gd3P ! PDHA 3PG [(CH₂OP)–(CHOH)–(COO–)] 1,3BPG (CH₂OP)– (CHOH)–(C~O)

gliceraldehído 3P deshidrogenasa

ATP ADP

3PG (CH₂OP)–(CHOH)–(COO–) 2PG (CH₂OH)–(HCOP)–(COO–)

3-fosfoglicerato quinasa fosfoglicerato mutasa

H₂O ADP ATP

PEP (CH₂)=(C–O–P)–(COO–) piruvato (CH₃)–(C=O)–(COO–)

enolasa piruvato quinasa

Balance: 1 glucosa = 2 piruvato. Se gastan 2 ATP para los 2 gliceraldehído. En la segunda parte 1 gliceraldehído = 1 piruvato, se producen 2 NADH (1 por cada Gd). Por cada Gd se sintetizan 2 ATP, en total 4 ATP.

Balance neto: glucosa + NAD+ + 2 ADP + 2 Pi → 2 piruvato + 2 NADH + 2 H+ + 2 ATP

fosforilación a nivel de sustrato

El NADH debe reoxidarse para que la glicolisis no se pare. Si hay O₂ es mediante la cadena de transporte electrónico, si no hay otras moléculas se reducen. Depende del entorno del piruvato la manera de oxidarse.

G' = 686 Kcal/mol

Si hay O₂ suficiente el NADH se reoxida en la cadena de transporte electrónico. Para degradar la glucosa completamente entra en el ciclo de Krebs. Para que el piruvato entre en este ciclo se transforma en acetil-CoA.

2 CO₂

piruvato acetil–CoA C.A.C. 2 CO₂

2 CO₂ 3 NADH, FADH₂, GTP

se reoxida en la cadena de transporte electrónico

Otros sustratos glicolíticos.

Glucógeno.

Polisacárido formado por moléculas de glucosa unidas por enlaces glicosídicos. Almacén de glucosa. Para liberar la glucosa se hace una fosforolisis rompiendo con el fósforo y obteniendo el polímero con una unidad menos y una glucosa fosforilada en el C1. Para incorporarla a la ruta se transforma en G6P mediante mutasa..

Monosacáridos.

Fructosa,

Hay dos maneras:

1– Hexoquinasa la fosforila y entra directamente.

2– Hexoquinasa tiene más afinidad por la glucosa, si hay mucha no fosforila fructosa. En lugares con mucha glucosa como el hígado se fosforila la fructosa en el C1 con fructoquinasa obteniendo F1P. F1P Gd + PDHA. Sólo queda fosforilar Gd mediante triosa quinasa.

Galactosa.

Se fosforila mediante quinasa específica formándose galactosa 1 P (epímero de la glucosa). Como debe estar

activada se une a UDP dando UDP-glucosa1P, luego se suelta obteniendo glucosa1P. En general deben dar intermediarios tras fosforilarse de la glicolisis.

Disacáridos.

Sacarosa, lactosa, y por degradación de otros polímeros, maltosa. No entran directamente en la célula sino que se hidrolizan obteniendo los monosacáridos correspondientes:

- Sacarosa: glucosa + fructosa.
- Lactosa: glucosa + galactosa.
- Maltosa: glucosa + glucosa.

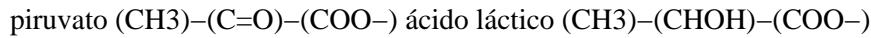
Regeneración del NAD⁺.

Hay varias posibilidades relacionadas con el destino del piruvato.

- Si hay O₂ funciona la cadena de transporte electrónico y los cofactores se reoxidan.
- Si no hay O₂ no hay cadena de transporte electrónico y el piruvato o productos relacionados con él reoxidan el cofactor por fermentación.

Fermentación láctica.

Transforman el piruvato en ácido láctico.



Puede ir en los 2 sentidos según tengamos NAD⁺ ó NADH.



Se obtiene una pequeña parte de la energía de la glucosa porque no se degrada completamente. El proceso es rentable porque se obtienen 2 ATP sin O₂ y porque se puede recuperar el lactato sintetizando glucosa. Fermentación láctica en el citosol por fosforilación a nivel de sustrato. Los organismos aerobios la utilizan cuando escasea el O₂ y no llega lo suficientemente rápido para reoxidar los cofactores.



Fermentación alcohólica.

Primero el piruvato se descarboxila quedando acetaldehído. Se necesita cofactor porque actúa una carboxilasa, puede ser la TPP (tiamina pirofosfato). Luego se transforma en etanol regenerando NAD⁺.



piruvato descarboxilasa alcohol deshidrogenasa (etanol)

Balance: glucosa + 2 ADP + 2Pi \rightarrow 2 CO₂ + 2 etanol + 2 ATP

Transformación del piruvato en acetil-CoA.

CO₂ NADH

piruvato (CH₃)-(C=O)-(COO-) CH₃-CO-SCoA

piruvato deshidrogenasa

Ocurre una reacción de descarboxilación oxidativa, los e- recogidos por el cofactor hacen que pase a NADH (habrá que regenerarlo). La piruvato deshidrogenasa en los eucariotas está en la mitocondria. El piruvato de la glicolisis ocurre en el citosol, si hay O₂ entra en la mitocondria por medio de un transportador específico y el acetil-CoA se libera dentro.

Piruvato deshidrogenasa.

Complejo formado por 3 enzimas distintos. Muchas cadenas polipeptídicas (60–80). 3 actividades distintas.

E1 es la piruvato deshidrogenasa, E2 es la dihidrolipoil transacetilasa y E3 es la dihidrolipoil deshidrogenasa. Necesitan 5 cofactores distintos: TPP (E1), HSCoA, NAD+, FAD (E3 depende de FAD). El cofactor de E2, el ácido lipoico, se une covalentemente a la proteína formando un enlace amida por lo que cuando forma parte de la proteína se le llama lipoamida. Además hay 2 enzimas reguladores. La piruvato deshidrogenasa es igual a otro que participa en Krebs pero el sustrato es distinto, el -oxoglutarato (intermediario en Krebs):

CH₂ – COO– CO₂ NADH CH₂ – COO–

CH₂ -oxoglutarato deshidrogenasa CH₂

CO – COO– CO–SCoA

oxoácido .oxoglutarato succinil CoA

igual al del piruvato igual a piruvato deshidrogenasa

Balance global de la oxidación total de la glucosa:

glucolisis mitocondria 2co₂ 2 CO₂

glucosa 2piruvato acetil–CoA C.A.C. 2 CO₂

2 ATP 2 NADH (1) 2 NADH

2x3 NADH 18 ATP

Se regenera en la cadena de transporte electrónico 2x FADH₂ 4 ATP (2x2)

1 GTP = 1 ATP 2 ATP (2x1)

2x3 = 6ATP Total 24 ATP de Krebs

(1) No puede entrar en la mitocondria, manda sólo los e- por medio de una lanzadera

Total ATP = 24 (Krebs) + 6 (piruvato deshidrogenasa) + 4 (NADH citosol) + 2 (glicolisis a nivel de sustrato)
= 36 ATP

Lanzadera del glicerolfosfato.

El NADH cede e- al glicerolfosfato que atraviesa la membrana externa. En la interna un enzima lo convierte en PDHA. El cofactor es el FAD que al recoger los e- pasa a FADH2. Así los e- que estaban en forma de NAD en el exterior pasan al interior en forma de fadh2. Se obtienen 2 ATP porque FADH2 cede los e- al CoQ (potencial de unión más pequeño). Se produce un gasto de ATP al meter NADH en la mitocondria por lo que al final se obtienen 4 ATP por fosforilación oxidativa.

– Otra lanzadera obtiene 3 ATP por cada NADH. Como no implica gasto de energía igual mete NADH que lo saca. Sólo en el corazón.

Gluconeogénesis.

Síntesis de glucosa a partir de precursores no hidratos de carbono. Se puede a partir de CO2 (fotosintéticos) o a partir de restos de 2 (sólo células que tengan el ciclo del glicoxilato) ó 3 carbonos. Proceso inverso a la glicolisis. Principales precursores: lactato, glicerol de los lípidos (lípidos son glicerol más ácido graso, no convertibles en hidratos de carbono) y aminoácidos glucogénicos. La glucosa se sintetiza porque se usa como fuente de energía y porque el esqueleto carbonado sirve para construir cosas como ribosas. Hay reservas de glucosa en forma de glucógeno para la energía. Hay células muy selectivas en cuanto al sustrato energético como las cerebrales que sólo admiten glucosa. Si falla el aporte de glucosa se sintetiza para uso de éstas células. La reserva es sólo para 1 día, luego se degradan proteínas.

La gluconeogénesis tiene lugar en el citosol igual que la glicolisis. No son procesos iguales porque en la glicolisis $G' < 0$, no se puede usar la ruta al revés. Sólo se usan las 7 reacciones que están en equilibrio y no las 3 irreversibles, sino que se da un rodeo.

Glicolisis:

hexoquinasa fosfofructoquinasa

glucosa 3 G6P ! fg 2 F1,6BP ! 2x {(Gd3P +PDHA) !!!PEP1piruvato}

ATP ADP ATP ADP

Gluconeogénesis:

piruvato acetil-CoA (oaa!citratomalato)

CO2 CO2

ATP piruvato carboxilasa (biotina)

oxalacetato

NADH

NAD+

malato

sale al citosol

CO₂

malato oxalacetato PEP

NADH NAD+ GTP

Todos los intermediarios del ciclo de Krebs pueden salir de la mitocondria menos el oxalacetato que no tiene transportador. Se transforma en malato porque esta reacción es reversible en el ciclo del ácido cítrico. El oxalacetato en el citosol se transforma en fosfoenolpiruvato.

Para dar el rodeo se gastan 2 ATP. El CO₂ se gasta y luego se libera y el NAD+ se regenera. Si en la otra reacción se producía ATP ahora se gasta, lo mismo para NAD. Para formar una molécula se 6 carbonos se necesitan 2 piruvatos y 2 gliceraldehídos. Se parte siempre de dos piruvatos y el gasto posterior se multiplica por 2. Al llegar a F1,6BP se quita el fosfato mediante una hidrólisis. La fructosa bifosfatasa es el punto de control más importante de la gluconeogénesis:

F1,6BP F6

Pi H₂O

Al llegar a G6P: [glucosa 6 fosfatasa]

ADP ATP

G6P glucosa

H₂O Pi

Balance: Si glucolisis y gluconeogénesis ocurriaran simultáneamente se perderían 4 ATP.

Regulación de la glicolisis y gluconeogénesis.

Ha de ser conjunta para gluconeogénesis y glicolisis, ha de poner en marcha uno parando el otro. La carga energética es un modulador, cuando está alta activa gluconeogénesis y desactiva glicolisis y viceversa. Son puntos importantes de control la hexoquinasa, la fosfofructoquinasa y la piruvato quinasa.

Regulación de la glicolisis.

– **Hexoquinasa:** inhibida por G6P que es el producto de la reacción. No fosforilará más si la concentración de G6P es alta. El ATP es un inhibidor también.

– **Fosfofructo quinasa:** punto más importante de control. Inhibido por ATP y activado por ADP. También inhibido por citrato (primer producto del C.A.C.). Si la concentración de citrato es alta el C.A.C. va más despacio de lo que el sustrato (acetil-CoA) llega para degradar, la concentración de glucosa será más alta. En el C.A.C. se produce mucho NADH y fad_h2, para que funcionen se han de reoxidar en la cadena de transporte electrónico creando gradiente de protones. Si el gradiente no se gasta los coenzimas no se reoxidan y el C.A.C. se para.

– **Fructosa 2,6 bifosfato:** único regulador en glicolisis y gluconeogénesis. Activador para la glicolisis. Se forma a partir de F6P por fosfofructoquinasa1 que regula también la destrucción (PFK2): F6P

PFK2 PFK1

F26BP

Si la concentración de F26BP es alta es porque hay exceso de glucosa y se activará la degradación.

Regulación de la gluconeogénesis.

– **Piruvato carboxilasa:** primer punto de control. Sólo activa cuando esté presente el acetil-CoA. Si la concentración de ATP es alta activa la gluconeogénesis.

– **FBPasa:** punto más importante de control. Las condiciones celulares determinarán que no funcionen a la misma velocidad porque hidrolizarían ATP. La FBPasa se activa por el ATP y se inhibe por ADP y AMP. Este paso está aún más regulado por estar más controlado.

ATP PFK ADP

F6P F1,6BP

FBPasa

Pi H₂O

La F26BP regula los dos flujos metabólicos, siendo activa para la PFK e inhibidora para la FBPasa. Cuando aumenta la concentración de FBPasa la glicolisis se activa y se bloquea la gluconeogénesis. Los niveles de F&BP están regulados por los niveles de glucosa. Se forma a partir de F6P por una fosforilación. Estos enzimas varían su actividad por modificación covalente ya que se pueden fosforilar por una quinasa llamada proteína quinasa a. Cuando fosforila a la PFK2 la forma es inactiva y cuando fosforila a la otra es activa. La proteína quinasa a se activa cuando los niveles de glucosa son bajos. En ese momento aparece en la sangre una hormona llamada glucagón que al llegar a la célula que puede sintetizar glucosa es reconocida y se activa la proteína quinasa a, de forma que se activará la FBP2 para que disminuyan los niveles de f26bp, se activa la gluconeogénesis y se inhibe la glicolisis.

– **Piruvato deshidrogenasa:** está muy regulado porque tiene que ver con la producción de energía. También está regulado por fosforilación (modificación covalente). Hay 2 formas del enzima, la inactiva es la fosforilada. Si hay mucha energía (concentración de ATP alta) la quinasa estará inactiva. El acetil-CoA es otro modulador positivo, como el NADH. La fosfatasa se ve afectada por la presencia de iones Ca²⁺.

Principales sustrato glucogénicos.

Lactato: la lactato deshidrogenasa funciona al revés que en la fermentación láctica.

NAD+ NADH

lactato piruvato glucosa

lactato deshidrogenasa

Glicerol: se obtiene principalmente a partir de las grasas. Es un alcohol de 3 C.

ATP ADP

glicerol glicerol 3P

glicerol 3P

Este glicerol 3P se puede transforma en PDHA que ya es un intermediario de la gluconeogénesis. Estos 2 componentes participan en la lanzadera para introducir NADH en la mitocondria.

Aminoácidos: se incorporan por reacciones de transaminación que dan lugar a los correspondientes oxoácidos que van a la cadena de gluconeogénesis.

Ala piruvato, Asp oxalacetato, Glu –oxoglutarato.

El requisito para construir glucosa es que sean C3.

Otras rutas de utilización de la glucosa.

Ciclo del glioxilato.

Es la única manera de obtener glucosa a partir de C2, normalmente el acetil–CoA. En células animales el paso de C3 a C2 está muy restringido. En el ciclo del glioxilato a partir de dos moléculas C2 se obtiene un C4 que se descarboxila y se obtiene un C3. Este ciclo es muy importante en semillas para almacenar más cantidad de energía en menos espacio, en forma de grasas en lugar de ser hidratos de carbono. Las grasas al degradarse lo hacen en forma de C2, por lo que tienen que ser capaces de utilizarlos para obtener todos los hidratos de carbono que necesiten. Este ciclo se realiza en el glioxisoma y es una variación del ciclo de Krebs.

Balance neto: 2 acetil–CoA 1 succinato.

2 CO₂

Acetil–CoA citrato isocitrato succinil CoA

isocitrato liasa

oxalacetato acetil–CoA

malato sintasa C2 C4

malato glioxilato succinato

fumarato

En este ciclo a partir del isocitrato actúa un enzima distinto, ya que debe romperse, la isocitrato liasa. Da lugar a 1 C4 (succinato)+ 1 C2 (glioxilato). El glioxilato puede aceptar otra molécula de acetil–CoA formando malato gracias a la malato sintasa. Tanto el isocitrato liasa como el malato sintasa se sintetizan cuando se necesitan.

Ruta de los fosfatos de pentosa.

Es una ruta secundaria pero muy importante que existe en todas las células, Tiene lugar en el citosol. Permite

obtener pentosas fosforiladas que se usan para sintetizar nucleótidos ya que es la fuente de ribosa necesaria. También se forma NADPH que es el poder reductor. La glucosa al entrar en la célula es G6P y por medio de la G6Pasa se convierte en fosfoglucono lactona con reducción de NAD+.

G6P fosfogluconolactona fosfogluconato

G6Pasa lactonasa

NADP+ NADPH dh CO₂

NADPH

R-5P Ribulosa 5P

La fosfoglucono lactona se hidroliza con la lactonasa, obteniendo fosfogluconato que se descarboxila oxidativamente. Actúa una deshidrogenasa dependiente del NADP+. Al descarboxilarse se obtiene un C5, la ribulosa 5P que es fuente de energía de la ribosa 5P. La célula necesita más poder reductor que 5 C, como le sobran azúcares de 5 C los utiliza para regenerar los productos de 6 C. Por esto tendrá que ocurrir 6 veces el ciclo para la degradación total de una molécula de glucosa. Si la reacción ocurre 6 veces:

6 G6P 12 NADPH + 6 CO₂ + 6 Ru5P

6 C5 5 C6P

6 G6P + 6 C5P 12 NADPH + 6 CO₂ + 6 C5P + 5 C6P

En total: 1 G6P 12 NADPH + 6 CO₂

Intervienen varios tipos de enzimas:

- Isomerasas.
- Epimerasas: transforman un epímero en otro.
- Transacetolasas (TC): catalizan transferencias de C2.
- Transaldolasas (TA): catalizan transferencias de C3 siempre de cetosa a aldosa.

Cuando el ciclo ha dado 6 vueltas tenemos 6Ru5P que se han de transformar en 5 de G6P.

Ribulosa 5 fosfato

Ru5P epimerasa Ru5P isomerasa

Xilulosa 5 P Ribosa 5 P

3 2 1

transacetolasa

Sedoheptulosa 5P Gd3P

transaldolasa

Eritrosa 5P

transacetolasa

Gd3P ! PDHA Fructosa 6P Fructosa 6P

Esta ruta es esencial, se da en el citosol de todas las células

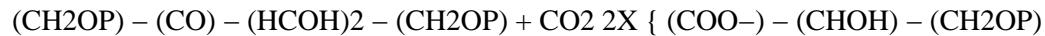
Fijación autotrófica del CO₂.

El CO₂ es la forma más oxidada del C. Los organismos fotosintéticos son los únicos capaces de sintetizar una molécula reducida a partir de una oxidada (el CO₂ atmosférico). Para la síntesis requiere ATP y poder reductor (lo que hemos formado anteriormente). En eucariotas esto se produce en el estroma del cloroplasto (porción soluble). El proceso acaba al sintetizar una triosa fosfato que tras salir al citosol se convierte en glucosa como antes. La forma de transportar la glucosa por la planta es en forma de sacarosa, que se forma en el citosol.

Normalmente el proceso es igual para todas las células, el ciclo de Calvin. Se usó CO₂ marcado radioactivamente y se comprobó que la primera molécula marcada era una molécula de 3 carbonos por lo que se las llamó plantas C3. Este resto se identificó como 3-fosfoglicerato. El CO₂ no es aceptado por un C₂ sino que se une a un C₅ y luego se rompe en dos C₃. El C₆ no se separa nunca del enzima.

Ciclo de Calvin.

Primera etapa: carboxilación.



Ribulosa 1,5 bifosfato RUBISCO 3-fosfoglicerato

La RUBISCO es el único enzima de este ciclo no presente en animales. Es una proteína muy importante en células vegetales y está sometido a regulación. Tiene subunidades catalíticas (L) y reguladoras (S) más pequeñas. Muy abundante en cloroplastos, hasta el 50% del peso de hoja fresca (más abundante en el mundo). Tal cantidad hace pensar que se use de reserva, por ejemplo de N dada la gran cantidad de aminoácidos.

Las reacciones son termodinámicamente favorables, aunque el enzima presenta un problema, que puede usar O₂ también de sustrato. El CO₂ y el O₂ compiten por el sitio activo, la enzima tendrá actividad carboxilasa y oxigenasa. Si oxigena rompe en 2 la molécula:



Ribulosa ,5 bifosfato RUBISCO fosfoglicolato fosfoglicerato

Segunda etapa: fase reductiva.

Transformar 3PG en Gd3P. Misma reacción que en la gluconeogénesis.

ADP ATP NADP+ NADP+

2x 3PG 1,3BPG 2x Gd3P

3 fosfoglicerato quinasa glicerato 3 fosfato deshidrogenasa

ATP y NADP+ producido acoplados a la cadena de transporte fotoelectrónico. Hasta ahora sólo 1 carbono procede del CO₂, por lo que ha de dar 3 vueltas para que todos sean del CO₂.

6 ATP 6 NADP+ Gd3P *novo*

6x 3PG 13BD 6x Gd3P

5x C3P (para regenerar acceptor final)

3x Ru1,5BP + 3 CO₂ 6x 3PG

RUBISCO

Segunda etapa: regeneración del acceptor final.

5 C3P 3 C5P. Cada C5P se ha de fosforilar para que sean bifosfato por medio de una quinasa.

Los enzimas que son distintos son: fosforibulosa quinasa, RUBISCO y sedorribulosa-1,7-bifosfatasa.

Balance neto: 3 CO₂ 6 ATP (de fosforilar 3PG) + 3 ATP (de fosforilar Ru5P)

3 CO₂ + 9 ATP + 6 NADPH triosa fosfato + 6 NADP+ + 9 ADP

Regulación del ciclo de Calvin.

Sólo ocurre cuando hay luz porque hace falta NADPH y ATP. La regulación asegura la fijación de CO₂ cuando hay luz y funciona la cadena de transporte fotoelectrónico. Regulación a nivel de RUBISCO a varios niveles relacionados con el periodo luminoso.

La actividad de RUBISCO depende de:

- Si el pH sube se activa. Si la cadena de transporte fotoelectrónico funciona se bombean H⁺ dentro del tilacoide y el pH sube en el estroma donde RUBISCO es activa. $H = (\text{potencial de membrana}) + \text{pH}$ (gradiente de concentración). En el cloroplasto es poco importante porque se transportan H⁺ pero se sacan Mg²⁺ y no se crea potencial. Al aumentar la concentración de Mg²⁺ aumenta la actividad.
- Si sube la concentración de Mg²⁺ se activa.
- Si sube la concentración de NADPH se activa. La cadena de transporte fotoelectrónico produce NADPH.

Relacionados con la fase luminosa mediante la cadena de transporte fotoelectrónico de la membrana tilacoidal.

Otra regulación más general (de todos los procesos del cloroplasto) activado por F6P e inhibido por F1,6BP. Se pueden interconvertir por medio de la F1,6Bifosfatasa, enzima de la gluconeogénesis. Está reglado por la luz mediante el poder reductor. Al funcionar la cadena de transporte fotoelectrónico aumenta el poder reductor en el cloroplasto. En muchos procesos la estabilidad del mensajero es el regulador y depende del estado redox. Tienen todas las cisteínas de dos maneras, formando puentes disulfuro o no. La forma SH es la reducida, muchas proteínas deben estar reducidas para funcionar. Para pasar de oxidada a reducida necesitaremos e⁻ de la cadena de transporte fotoelectrónico vía ferredoxina. La quinasa del final está igual

regulada.

Fotorrespiración.

Es el consumo de O₂ en presencia de luz. Este problema es resultado de la actividad oxigenasa de la RUBISCO. Si no hay luz RUBISCO está inactiva.

Balance neto: el O₂ se consume y se desprende CO₂, lo opuesto a lo deseado en la fotosíntesis. No se produce energía, se reduce la eficiencia de la fotosíntesis. Problema para la agricultura porque aparece menos biomasa. RUBISCO 2 actividades y una molesta porque la conformación del enzima hace que pueda aceptar O₂, aunque es más afín por el CO₂. Si la fotosíntesis es continua aumenta mucho la concentración de O₂ y disminuye la concentración de CO₂ por lo que se convierte en un competidor peligroso.

Defensa: Km < CO₂, la Km es alta para CO₂. Nadie sabe la utilidad de la función oxigenasa. Al principio no había O₂ en la atmósfera con lo que no era un problema.

Algunas plantas disminuyen la actividad oxigenasa porque separan espacialmente las 2 fases de la fotosíntesis. En la zona donde se transportan e- se produce O₂ y en la zona de actividad de RUBISCO se consume. Las hojas tienen una anatomía especial, tienen células donde se transportan e- y otras con actividad de RUBISCO. Las células del mesófilo de la hoja fijan CO₂ temporalmente, pero no por RUBISCO. PEP recoge el CO₂ (PEP carboxilasa). Al fijar CO₂ se forma OAA que se transforma en malato que viaja a las células donde está RUBISCO. El malato ahora se descarboxila, produce C₃ (piruvato) y resulta CO₂. Donde es activa la RUBISCO la concentración de CO₂ aumenta y la concentración de O₂ disminuye. La fijación es favorecida. El piruvato vuelve a la otra célula y se transforma en PEP. Al marcar radioactivamente aparece primero OAA, por lo que se llaman plantas C₄ (CO₂ fijado en un C₄). La molécula de 4 carbonos sólo transporta el CO₂ hasta RUBISCO. De este tipo son muchas plantas tropicales.

CO₂

PEP OAA

piruvato malato

CO₂

En otras plantas la separación es temporal, aunque son C₄ igualmente. Por la noche se abren los estomas que fijan el CO₂ igual que en el caso anterior (la luz no es necesaria). Por el día cierra los estomas liberando el CO₂. Son plantas tropicales.

Metabolismo de polisacáridos.

En las células animales la glucosa se almacena en forma de glucógeno y en las vegetales en forma de almidón. El glucógeno es un polisacárido formado por glucosas unidas por medio de enlaces glicosídicos α . Las ramificaciones están unidas por enlaces β . Tiene un extremo reductor y otro no reductor. El no reductor es en la cadena α el que no ofrece el C1.

Que la molécula está ramificada es una ventaja porque así tiene muchos extremos no reductores a la vista. También es más soluble. Forma gránulos en el citosol en los que normalmente están añadidos los enzimas que lo metabolizan dos tipos de células almacenan glucógeno, las musculares y las hepáticas, aunque para funciones distintas.

Glucogenolisis.

Estudiada por los Cori. Se puede hidrolizar el enlace, pero en la célula se hace por medio de un fosfato (fosforolisis). La ventaja es que se obtiene glucosa ya fosforilada por lo que no tiene que actuar la hexoquinasa:



glucógenofosforilasa

Se degrada siempre empezando por el extremo o reductor rompiendo los enlaces glicosídicos β . El enzima no puede degradar completamente el glucógeno, al llegar al extremo hay repulsiones estéricas. Se para a 4 residuos de la ramificación. Necesita otro enzima con 2 actividades enzimáticas:

- Transferasa β : coge los 2 primeros y los transfiere a un extremo no reductor.
- Glicosidasa: coge el residuo del punto de ramificación con enlace β y lo hidroliza quedando una glucosa sin fosforilar. Las glucosas almacenadas aparecen todas fosforiladas menos las de las ramificaciones.

Para degradar las glucosas han de aparecer intermediarios de la glicolisis, la mayor parte G1P:

Glucosa G6P

hexoquinasa glicolisis

G1P G6P

fosfoglucomutasa

Al movilizar el hígado el glucógeno libera glucosa y G1P que para salir de la célula ha de perder el fosfato, se transforma primero en G6P y con enzima G6fosfatasa (de la gluconeogénesis) elimina el P. *La G6Pasa salva el paso de la fosfoquinasa.*

Glucogenogénesis.

Requiere extremo no reductor para incorporar las glucosas por ese lado. El enzima es la glucogenosintasa. Estudiado por Laloir. La glucosa debe estar activada combinándola con nucleótidos (derivado de la uridina, UTP). Activación:

glucosa G6P ! G1P + UTP

hexoquinasa

G1P + P-P-P-uridina UDP-glucosa + PPi

UDP glucosapirofosforilasa

Siempre que el pirofosfato sea un producto la reacción va hacia la derecha. El enzima glucogenosintasa añade resto de glucosa formando β y libera UDP. Punto de control más importante. El UDP se necesita como UTP por lo que para recuperarlo se necesita ATP por medio de una nucleósido difosfoquinasa.

Para las ramificaciones coge un trozo ya sintetizado de unos 7 monómeros y lo mueve hacia dentro de la cadena (unas 11 glucosas). Se transfiere entero en posición 6 a una glucosa ya unida. De esto se ocupa una transferasa. Ahora una sintasa une por los 2 sitios. La separación entre ramas es de por lo menos 4 glucosas

para poder degradarlo luego.



glucógeno sintasa

La glucógeno sintasa siempre necesita cebador (extremo no reductor). Casi siempre el cebador es el glucógeno que no se degrada del todo nunca. Para sintetizar desde cero el cebador es una proteína que se puede glicosidar (añadir azúcar). El azúcar se une a los OH de Ser y Thr formando un enlace glicosídico.

Regulación.

El glucógeno está almacenado en el citosol donde se hallan los enzimas encargados de degradarlo y sintetizarlo. Las 2 rutas no pueden funcionar al revés.

La síntesis implica activar glucogenosintasa cuando haya mucha glucosa. Si la concentración de glucosa es alta no es necesario movilizar las reservas. La degradación ocurre al bajar el nivel de glucosa (es el modulador). Estos dos procesos nunca son activos a la vez.

Células hepáticas.

La glucogenofosforilasa está regulada por:

- Modificación covalente, por lo que puede existir en dos formas, la no fosforilada es inactiva.

ATP ADP

Glucosa fosforilada glucosa fosforilada

OH (Ser) glucogenofosforilasa quinasa P

forma b forma b

fosfatasa

forma a forma b

H₂O Pi

La forma b está regulada alostéricamente. Modulador positivo concentración de AMP alta (falta ATP). Si la concentración de AMP es alta pasa a la forma a.

Si la concentración de glucosa baja el glucógeno se degrada y la glucosa pasa a la sangre. Modulación regulada por hormonas, que son moléculas señalizadoras de organismos pluricelulares, producidas en algunos sitios para advertir de determinadas cosas. La concentración de glucosa e sangre dispara la producción de algunas hormonas que actúan sólo sobre células que tengan el receptor específico. Al llegar la hormona la célula desencadena una respuesta.

- Tras comer aumenta la concentración de glucosa en la sangre y se produce insulina por el páncreas. La insulina potencia la síntesis de glucógeno. Si hay insulina la glucógeno sintasa está activa y la fosforilasa no.
- Entre comidas se produce glucagón que favorece la degradación activando la fosforilasa.

Para coordinar ambos procesos la señal ha de ser la misma.

Al producirse glucagón algunas células con receptores, entre ellas las hepáticas, lo recogen. Al unirse al receptor cambia el metabolismo celular y desencadena el aumento de otro mensajero, el cAMP (3' y 5' unidos). Esto es porque la hormona no puede entrar dentro de la célula. Se favorece la síntesis de cAMP por la adenilato ciclase que a partir de ATP sintetiza cAMP. Activación mediada por proteínas muy importantes llamadas proteínas G, que pueden unir GTP. Transmiten señales dentro de la célula y tienen 3 tipos de cadenas: α , β y γ .

α : une GDP ó GTP. Es activa cuando une GTP. La proteína G se autorregula porque hidroliza GTP (es GTPasa) en la cadena α . La proteína G media el efecto entre el receptor y la adenilato ciclase. El receptor favorece el paso a forma activa. Al unirse la hormona y el receptor, la proteína G, que también está en la membrana, pasa a activa y pone en marcha a la adenilato ciclase. La proteína G es activa hasta que se hidroliza el GTP. El cólera produce diarreas debido a una toxina que bloquea la actividad GTPasa de la proteína G, que ya no puede desconectarse, y no para de transportar iones y H₂O hasta la deshidratación.

El cAMP actúa de modulador para la proteína quinasa. Está formada por 2 subunidades catalíticas y 2 reguladoras cuando está inactiva (L2R2). El cAMP se une a las R que se separan de las catalíticas y la molécula queda activada. La proteína quinasa puede modificar a la glucógeno fosforilasa quinasa, que puede estar fosforilada o no. A expensas del ATP modifica el enzima activándolo, lo que inicia la cascada enzimática disparada por una hormona activa cuando la concentración de glucosa es baja.

La PKA puede fosforilar la glucógeno sintasa que pasa a inactiva. Al activar PKA se pone en marcha una y para la otra.

Para invertir el efecto de una quinasa actúa una fosfatasa (que también está regulada). La fosfatasa es activa si la concentración de glucosa aumenta, desfosforila el enzima bloqueando un proceso timina empezando el otro.

– cAMP puede romperse para que desaparezca la señal pasando a AMP y no activa la proteína quinasa. El enzima que lo rompe es la fosfodiesterasa.

Células musculares.

El glucógeno se almacena para consumo propio de la célula. El glucagón no actúa sobre las células musculares. La cascada enzimática es la misma pero disparada por la adrenalina. El músculo necesita mucho ATP, requiere glucosa. Un esfuerzo continuado moviliza el glucógeno igual que antes. Las señales que determinan la contracción muscular son cambios en la concentración de iones. Al aumentar la concentración de Ca²⁺ dentro de la célula se activa la degradación de glucógeno (coordinando los dos procesos de lisis y síntesis). El Ca²⁺ activa la glucógeno fosforilasa quinasa uniéndose a la subunidad calmodulina. El efecto de la adrenalina es adelantarse a la situación teniendo ya preparada la glucosa antes de que la concentración de Ca²⁺ aumente.

Bioquímica. Tema 16. Metabolismo de hidratos de carbono.