

T18: METABOLISMO INTERMEDIARIO Y BIOENERGÉTICA (II). FASES DEL METABOLISMO INTERMEDIARIO. EL CICLO DE KREBS Y LA FOSFORILACIÓN OXIDATIVA.

La energía de los alimentos se extrae en tres etapas mediante oxidación

El **metabolismo oxidativo de las principales biomoléculas** (hidratos de carbono, ácidos grasos y aminoácidos) se divide en **tres etapas** descritas por Hans A. Krebs (comentadas en el tema anterior):

- **Primera etapa, de preparación.** Las macromoléculas de los alimentos son fragmentadas en unidades más pequeñas. **Digestión**, y ocurre en el sistema digestivo.



- **Segunda etapa.** Se encuentra el ciclo de Krebs, las biomoléculas sencillas se convierten en **AcetilCoA**.



- **Tercera etapa.** Oxidación completa de AcetilCoA para producir ATP. La tercera etapa consiste en el ciclo del ácido cítrico y la fosforilación oxidativa.

El **AcetilCoA** produce **3 NADH**, **1 FADH₂** y **1 GTP** en el ciclo de Krebs.

El poder reductor generado en el ciclo de Krebs (**gradiente de protones**) se emplea para la **síntesis de ATP**.

La segunda y tercera etapa forman parte del metabolismo intermediario.

El metabolismo intermediario incluye la degradación de las biomoléculas

El metabolismo oxidativo de glúcidos, grasas y proteínas se produce en **tres etapas**:

1. Producción de Acetil CoA

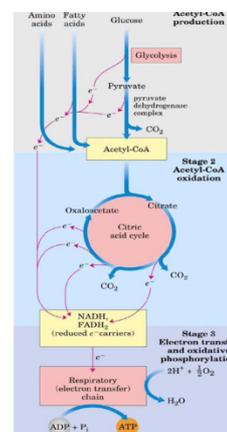
Desaminación oxidativa de aminoácidos.
Beta oxidación de ácidos grasos.
Glucólisis.

2. Oxidación de Acetil CoA:

A través del ciclo de Krebs (TCA)
Generación de energía directa (GTP) y poder reductor (NADH y FADH₂, portadores de electrones).

3. Fosforilación oxidativa: transporte de electrones (CTE) y síntesis de ATP.

El poder reductor generado se emplea para la síntesis de ATP en la mitocondria mediante el acoplamiento quimiosmótico.



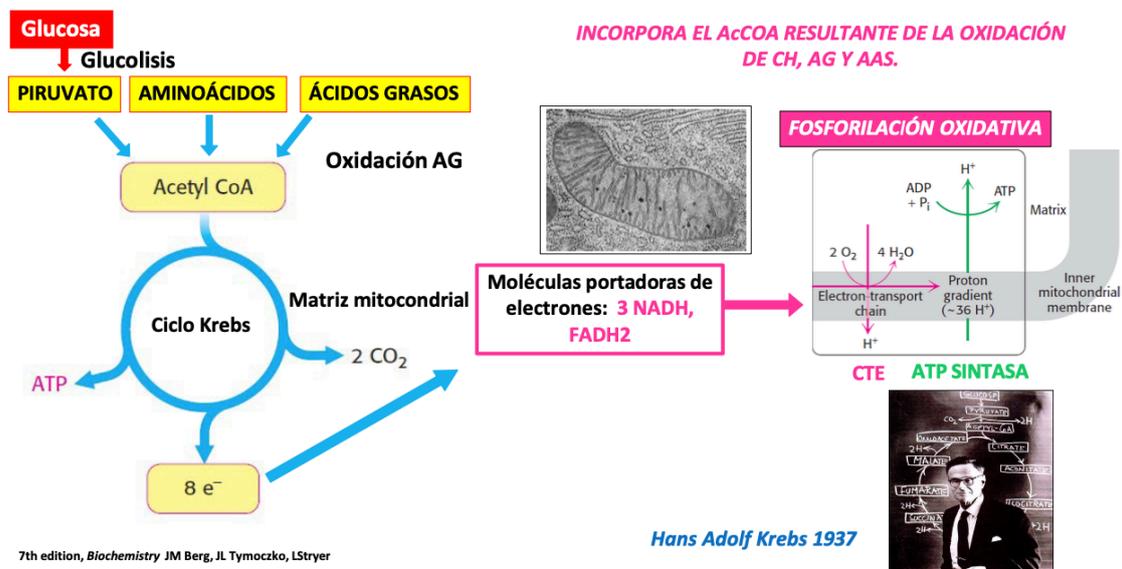
Ciclo de Krebs, ciclo de los ácidos tricarboxílicos o ciclo del ácido cítrico

El **ciclo de Krebs/ciclo del ácido cítrico/ciclo de los ácidos tricarboxílicos** es una ruta metabólica que forma parte de lo que se conoce como la respiración celular típica de los organismos aeróbicos. Es parte de la vía catabólica que realiza la oxidación de moléculas de **AcetilCoA** proveniente de **monosacáridos, ácidos grasos y aa** hasta producir CO_2 , liberando gran cantidad de energía química; sobre todo en forma de poder reductor que, gracias a la cadena transportadora de electrones y de la fosforilación oxidativa, será utilizada en la síntesis de ATP.

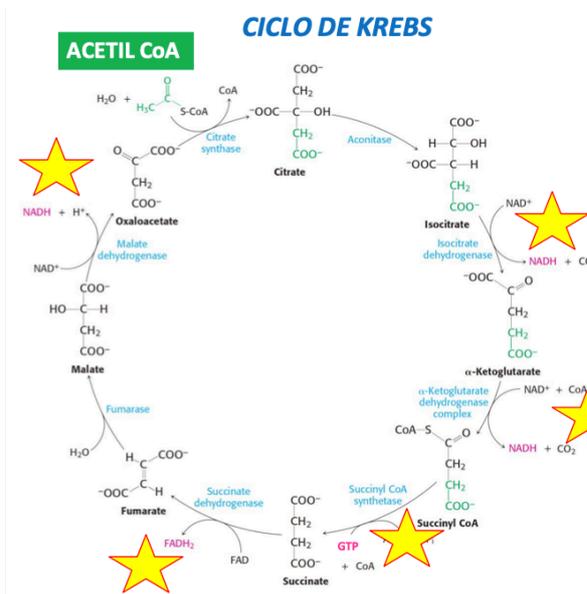
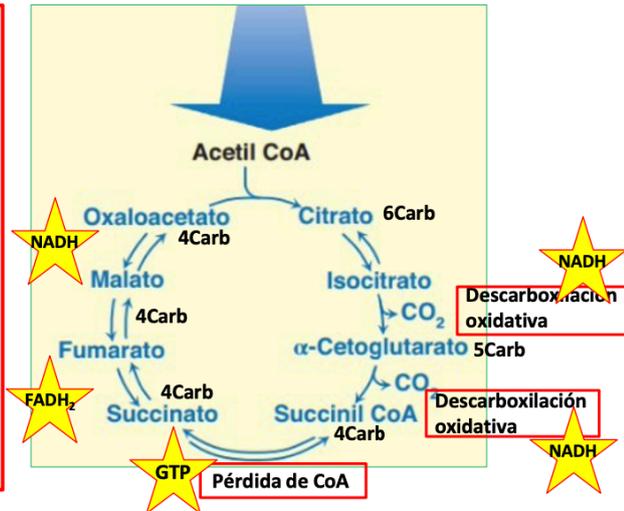
El AcetilCoA suele venir de la **β -oxidación** de los **ácidos grasos o del piruvato**, a través de la descarboxilación oxidativa. El piruvato suele originarse como producto de la glicólisis o como consecuencia de la actuación de las transaminasas

El ciclo de Krebs también presenta una parte anabólica, proporciona precursores para muchas rutas biosintéticas de diferentes biomoléculas (biosíntesis de aa), aunque también suministra intermediarios para la biosíntesis de ácidos grasos o azúcares. Por ello se considera una **vía anfipática** (catabólica y anabólica al mismo tiempo).

El ciclo de Krebs tiene lugar en la **matriz mitocondrial** de las células eucariotas. Algunas células carentes de mitocondrias (por ejemplo, los eritrocitos) no pueden realizar el ciclo de Krebs, por lo que depende de la energía formada en la glicólisis para cubrir sus necesidades energéticas (lo cual implica que tengan una mayor dependencia a los niveles de glucosa).



1. Reacciones químicas **cíclicas** consistentes en la **oxidación** glúcidos, á. grasos y aas a **CO₂**.
 2. Matriz mitocondrial en eucariotas (citósol procariontes aeróbicos).
 3. Genera **energía** 1xGTP y **potencial reductor** 3xNADH y 1xFADH₂.
 4. **VÍA ANFIBÓLICA**: catálisis por oxidación del AcCoA pero anabólica al **proporcionar precursores de los AAs** (Oxalacetato, α-cetoglutarato).
- CITRATO** para la biosíntesis de ácidos grasos.
5. **Regulado por**: disponibilidad de sustrato e inhibición de productos (**NECESIDADES ENERGÉTICAS**).



CITRATO SINTASA

Energía del S-CoA condensación del Ac con OAA.

ACONITASA

Isomerización del citrato a ISOCITRATO.

ISOCITRATO DESHIDROGENASA

Producción de CO₂ y reducción NADH.

α-CETOGLUTARATO DESHIDROGENASA

Producción de CO₂ y reducción NADH, incorporación de CoA.

SUCCINIL CoA SINTETASA

Prod. SuccinilCoA.

SUCCINATO DESHIDROGENASA

Producción GTP y liberación de CoA producción SUCCINATO.

SUCCINATO DESHIDROGENASA

Producción de FADH₂ y producción de FUMARATO.

FUMARASA

Hidratación con una H₂O, producción MALATO.

MALATO DESHIDROGENASA

Generación OAA y producción de NADH.

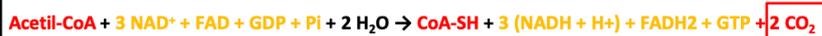
Reacciones en el ciclo de Krebs

1. **Condensación** entre una moléculas de AcetilCoA (dos carbonos) y una moléculas de oxalacetato (cuatro carbonos) Es una condensación aldólica a la que sigue una hidrólisis que libera la CoA libre. Está catalizada por la **citrato sintasa** dando como producto final el **citrato** (6 carbonos). Paso irreversible.
2. **Transformación del citrato en isocitrato**. Dos pasos: deshidratación seguida de hidratación. Se pasa de un sustrato con un alcohol terciario a una moléculas con un alcohol secundario que resulta más fácilmente oxidable. Se lleva a cabo por la **aconitasa** formando un intermediario conocido como cisaconitato.
3. **Primera descarboxilación oxidativa**. Transformación del isocitrato (6 carbonos) en α-cetoglutarato (5 carbonos), reacción que conlleva la reducción de una molécula NAD⁺ en NADH + H⁺ y la eliminación de un átomo de carbono en forma de CO₂. La cataliza la **isocitrato deshidrogenasa** y es la primera etapa en la que se produce NADH + H⁺ y que se genera CO₂. Es un paso irreversible.
4. **Segunda descarboxilación oxidativa**. Transformación de α-cetoglutarato (5 carbonos) a succinil CoA (4 carbonos); conlleva la generación de NADH + H⁺ y la eliminación de un átomo de carbono (CO₂). La reacción la efectúa el complejo multienzimático **α-cetoglutarato**

- deshidrogenasa.** Como resultado se obtiene AcetilCoA, la reducción de la segunda molécula de NAD⁺ a NADH + H⁺ y la generación de una segunda molécula de CO₂.
- 5. Fosforilación a nivel de sustrato.** Se acopla la ruptura del enlace de alta energía del succinil CoA con la síntesis de una molécula de GTP, a partir de GDP + Pi, liberando succinato y CoA libre. Llevada a cabo por la enzima **succinil CoA sintetasa**.
 - 6. Oxidación del succinato a fumarato** por acción de la **succinato deshidrogenasa**. Es una reacción de deshidrogenación, se produce la oxidación del enlace sencillo situado en el centro de la molécula de succinato, dando lugar a un doble enlace trans. El hidrógeno eliminado se acopla a la síntesis de una molécula de FADH₂ a partir de FAD.
 - 7. Hidratación del doble enlace del fumarato** originando una molécula de L-malato. La enzima que cataliza es la **fumarasa**.
 - 8. Oxidación de L-malato a oxalacetato** gracias a la enzima **malato deshidrogenasa** que oxida el grupo alcohol secundario del malato a la correspondiente cetona, Esta reacción conlleva la reducción de una tercera molécula de NAD⁺ a NADH + H⁺ (la tercera que se obtiene del ciclo de Krebs). Con esta última reacción se genera el oxalacetato que se utilizará, junto con el AcetilCoA, en la generación de citrato, al principio de un nuevo ciclo.

Balance energético del ciclo de Krebs

EL BALANCE NETO DEL CICLO ES:



Los dos carbonos del **Acetil-CoA** son oxidados a CO₂, y la energía es liberada:

-Energía química: **GTP** (fosforilación a nivel de sustrato) (GTP + ADP → GDP + **ATP**) **NUCLEÓSIDO DIFOSFATO QUINASA**

-Poder reductor (electrones de alto potencial): 3 **NADH** y **FADH₂** → **CADENA DE TRANSPORTE DE ELECTRONES**

CADA MOLÉCULA DE ACETIL CoA RESULTARÁ

-1 GTP + 3 NADH + 3 H⁺ + 1 FADH₂ + 2 CO₂

LAS MOLÉCULAS CON POTENCIAL REDUCTOR PRODUCIRÁN EN LA FOSFORILACIÓN OXIDATIVA (OXPHOS):

-NADH: 2.5 moléculas de ATP (3 x 2.5 = 7.5)

-FADH₂: 1.5 moléculas de ATP

-**Total C.Krebs: 7.5 ATP + 1.5 ATP + 1 GTP = 10 equivalentes de ATP**

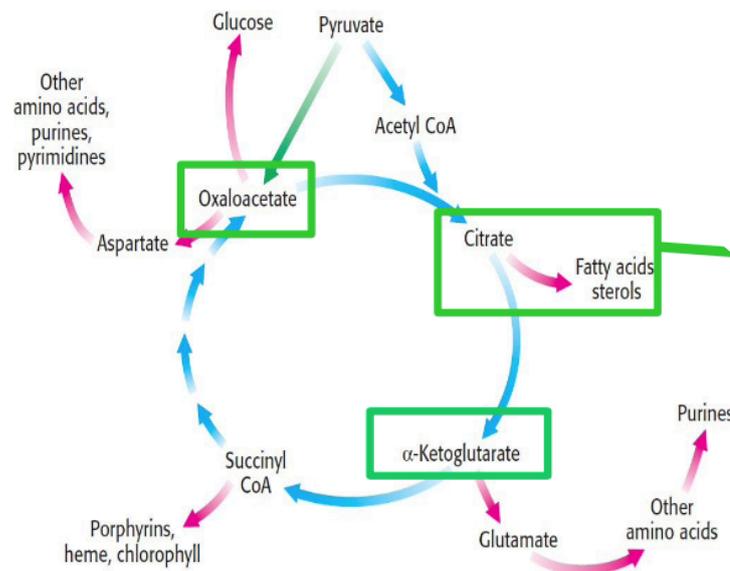
Reacciones anapleróticas y catapleróticas del Ciclo de Krebs

*Gran cantidad de rutas catabólicas convergen en el ciclo de Krebs. Estas reacciones, con origen en el metabolismo de hidratos de carbono, lípidos y aa, tienen gran importancia a la hora de reponer los intermediarios del ciclo. Las reacciones que generan dichos intermediarios se conocen como **reacciones anapleróticas** (rutas que convergen en el ciclo de Krebs y reponen los intermediarios del ciclo para que siga funcionando).*

*Por su parte, las reacciones químicas que conducen a la extracción de los intermediarios para su uso en rutas biosintéticas se conocen como **reacciones catapleróticas** (proceso que produce una depleción de intermediarios metabólicos).*

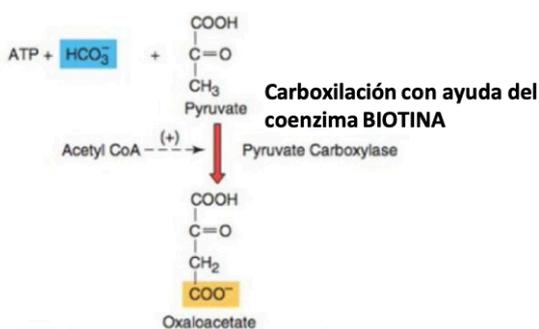
Entre los distintos intermediarios del ciclo de Krebs que pueden utilizarse como precursores, destacan:

- **Citrato:** biosíntesis de lípidos. Se utiliza para sacar el AcetilCoA que se genera en la mitocondria y que no puede atravesar la membrana mitocondrial interna.
- **α-cetoglutarato:** biosíntesis de aa (como el glutamato y sus derivados) → síntesis de bases púricas.
- **Succinil CoA:** precursor de la síntesis de porfirinas de las cuales se obtienen los grupos hemo y los citocromos.
- **Oxalacetato:** gluconeogénesis (en el citosol) y en la síntesis de aa como el aspartato y derivados → bases púricas y pirimidínicas.



Dicho de otra forma, desde el punto de vista de las reacciones que dan lugar a estos intermediarios, podemos afirmar que hay **4 reacciones anapleróticas**:

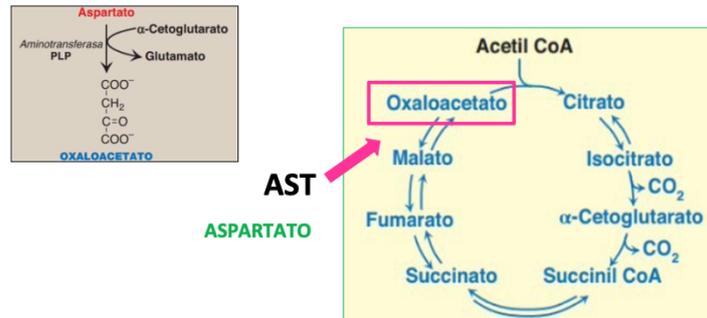
1. **Piruvato carboxilasa: activada por Acetil-CoA (acumulado)** cuando OAA está en bajas cantidades. Es la **más importante** en las reacciones anapleróticas y está ubicada en las mitocondrias.



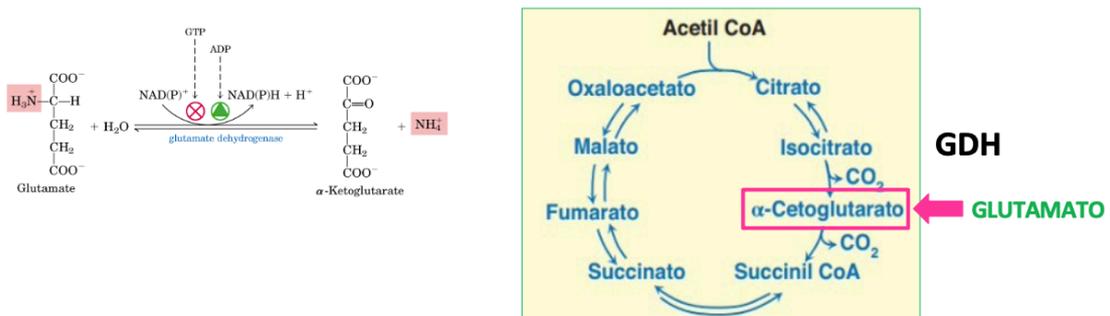
Sin OAA el AcCoA no puede CONDENSAR PARA FORMAR CITRATO. EL CICLO NO FUNCIONA.



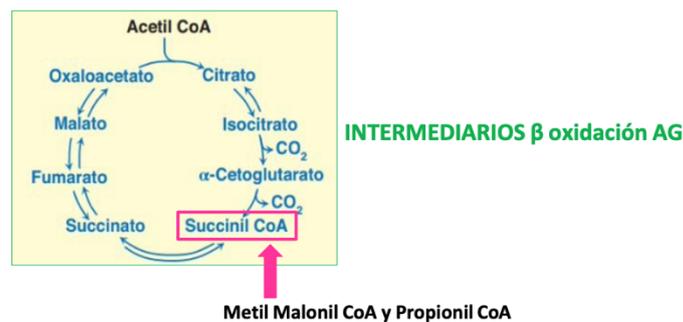
2. Aspartato aminotransferasa (AST): transaminación desde el aspartato. Eliminación grupos aminos de los aas.



3. Glutamato deshidrogenasa: Desaminación oxidativa desde el glutamato. ELIMINACIÓN GRUPOS AMINOS DE LOS AAS.

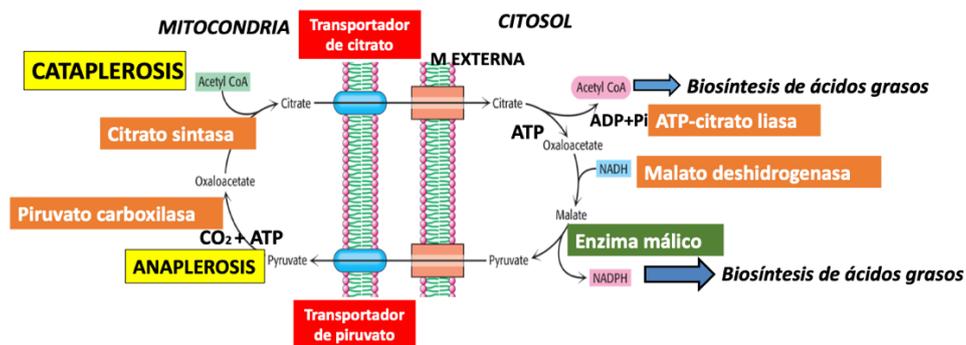


4. Metil malonil-CoA mutasa y propionil CoA carboxilasa: β OXIDACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS DE CADENA IMPAR.



Biosíntesis de ácidos grasos: etapa 1 – salida de AcetilCoA de la mitocondria

Lanzadera citrato-piruvato: es un mecanismo de transporte de ácido acético que encontramos en la membrana mitocondrial interna, y que permite que esta molécula pueda ser utilizada en el citosol celular. Este acetilo se forma en importantes vías catabólicas como la beta oxidación de ácidos grasos o en la descarboxilación oxidativa del piruvato, reacción clave catalizada por el complejo piruvato deshidrogenasa que actúa de puente entre la glicólisis y el ciclo de Krebs, ambas tienen lugar en el interior de la mitocondria. El acetil-CoA es también una molécula clave en diversas vías anabólicas como la síntesis de ácidos grasos, aminoácidos, acetilcolina o en la gluconeogénesis, reacciones que en su gran mayoría tienen lugar en el citosol, y por lo tanto requieren la presencia de esta molécula fuera de las mitocondrias.

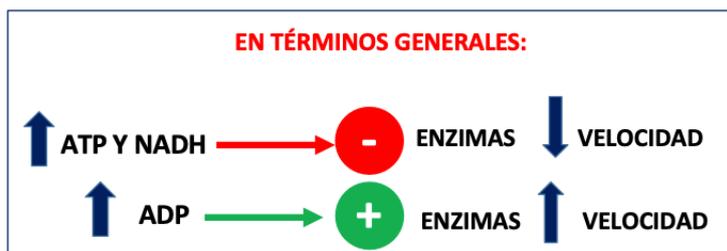


Regulación del ciclo de Krebs

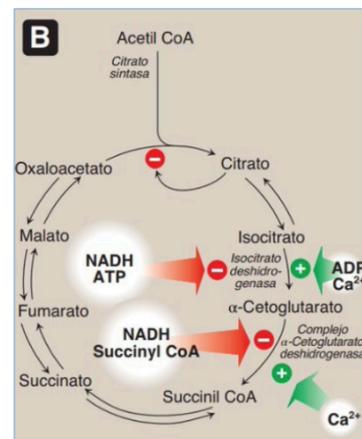
Las **enzimas reguladoras** más importantes ($\Delta G < 0$):

- **Citrato sintasa:** inhibición por producto final citrato.
- **Isocitrato deshidrogenasa:** inhibición NADH (compite NAD⁺), ATP (alostérico); activación ADP (alostérico), Ca²⁺.
- **Complejo de α -cetoglutarato deshidrogenasa:** inhibición NADH, succinil CoA (productos); **activación por Ca²⁺**.

Ca²⁺, un mensajero secundario de la activación celular.



Regulación del ciclo de Krebs



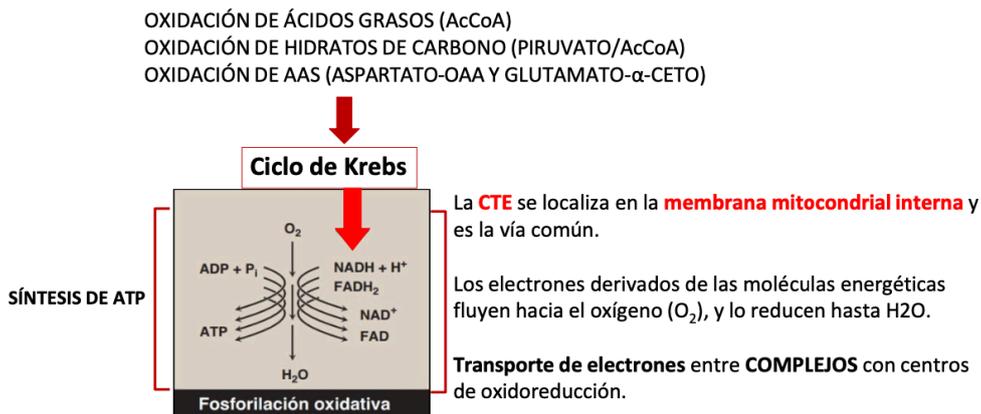
La fosforilación oxidativa: la cadena de transporte de electrones y la síntesis de ATP.

Los seres vivos consumen oxígeno y producen CO₂ como parte del metabolismo celular. Se descubrió que estas reacciones de transferencia de electrónica aprovechan la energía libre producida para obtener energía química en forma de ATP.

Los electrones involucrados en las oxidaciones celulares no pasan directamente al oxígeno, sino que se transfieren a través de diversas vías con múltiples etapas (reducir NAD⁺ y FAD a NADH + H⁺ y FADH₂). Los electrones sufren un **proceso de oxidación-reducción** secuencial a través de determinados **centros rédox** (complejos mitocondriales) para finalmente reducir el oxígeno a agua.

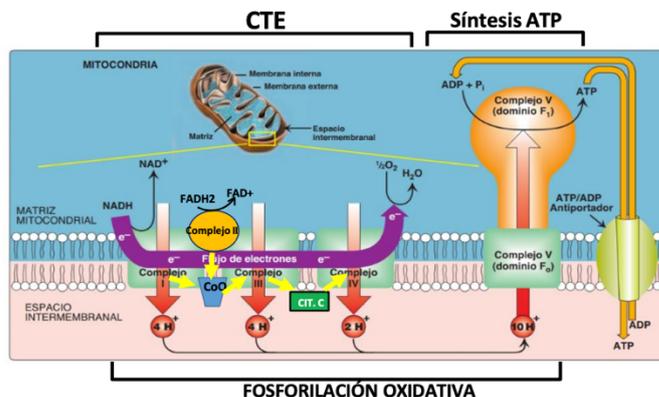
Este proceso, por el cual se transfieren electrones desde las biomoléculas del alimento hasta el oxígeno se denomina **respiración aerobia o respiración celular**. En este proceso, una serie de protones se transfieren desde la matriz mitocondrial hacia el espacio intermembrana de la mitocondria, de modo que se crea un gradiente de protones (gradiente electroquímico). Este gradiente resultante sirve para impulsar la síntesis de ATP a partir de ADP y P_i, a través de la llamada **fosforilación oxidativa**.

MATRIZ MITOCONDRIAL: oxidación de piruvato, aminoácidos y ácidos grasos (por β-oxidación) y el C. Krebs.



El flujo de electrones de los NADH y FADH₂ se realizan mediante reacciones de **oxidación-reducción**.

A medida que **fluyen los electrones**, pierden energía que se usa para **bombear H⁺** al espacio intermembrana.



Complejos y transporte de electrones

La mayoría de electrones que se van a utilizar en la cadena transportadora de electrones provienen de la acción de las deshidrogenasas [recogen electrones de distintos procesos catabólicos y los canalizan hacia los aceptores universales de electrones (NAD^+ y FAD)]. Los electrones fijados por estas coenzimas se transfieren a una serie de transportadores asociados a la membrana interna de la mitocondria, conocidos como **complejos**.

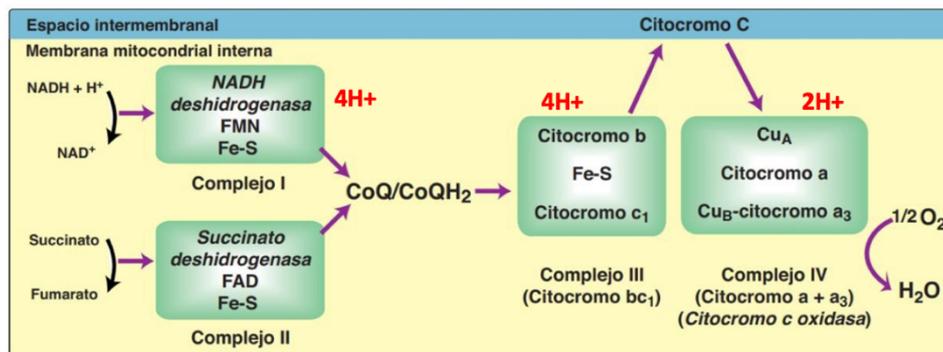
Los **complejos implicados en la transferencia de electrones** son:

Complejo I. Complejo de NADH oxidoreductasa o NADH deshidrogenasa. El H^+ libre más el ión hidruro (2 electrones + 2H^+) del NADH se transfieren a la **ubiquinona o complejo coenzima Q**. El flujo de los e^- hace que se bombeen o transloquen **4H^+** .

Complejo II. Complejo Succinato deshidrogenasa o Succinato DH. No trasloca protones H^+ y los electrones de la coenzima. **Genera FADH_2** ; los e^- se mueven por una proteína FeS y los transfieren al **Coenzima Q o ubiquinona**.

Complejo III. Complejo Citocromo bc1. Recibe los e^- del coenzima Q (o ubiquinona) y los transfiere al **citocromo c** (espacio intermembrana). Se bombean **4H^+** .

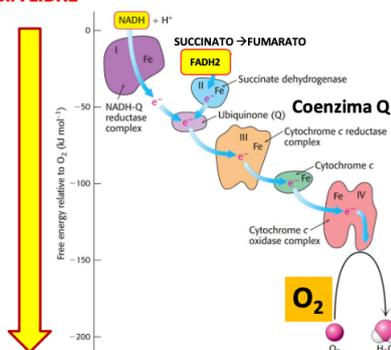
Complejo IV. Complejo citocromo a + a₃ o citocromo c oxidasa. Recibe los e^- del citocromo c y los transfiere finalmente al **O_2** para reducirlo. Bombea **2H^+** .



forma férrica (Fe^{3+}) a la ferrosa (Fe^{2+})

CADENA DE TRANSPORTE DE ELECTRONES: DISMINUCIÓN DE LA ENERGÍA LIBRE

ENERGÍA LIBRE



Reacciones de **oxido-reducción** donde los e^- pierden energía.
 La energía liberada por la transferencia de e^- se traduce en **un bombeo contragradiente de H^+** al espacio intermembrana.

Generación de H_2O por la reducción del O_2 .



GRADIENTE DE PROTONES (fuerza protón-motriz)

GRADIENTE DE PROTONES (fuerza protón-motriz): los H^+ serán devueltos a la MATRIZ (proceso exergónico) utilizada para la generación de ATP (endergónica)

Síntesis de ATP

La síntesis de ATP a partir de ADP y Pi en las mitocondrias está canalizada por la **ATP sintasa**. Peter D. Mitchel propuso en 1961 el mecanismo conocido como **Teoría quimiosmótica de acoplamiento**, que infiere que la síntesis de ATP está acoplada al transporte de electrones mitocondrial.

Los complejos transportadores de electrones logran pasar protones al espacio intermembrana en contra de gradiente, esto genera una **fuerza protón-motriz** que utiliza el **POTENCIAL ELECTROQUÍMICO** por la diferencia de concentración de H⁺ para su **transporte a favor de gradiente**. El potencial electroquímico de este gradiente o fuerza protón motriz lo aprovecha la ATP sintasa para sintetizar ATP.

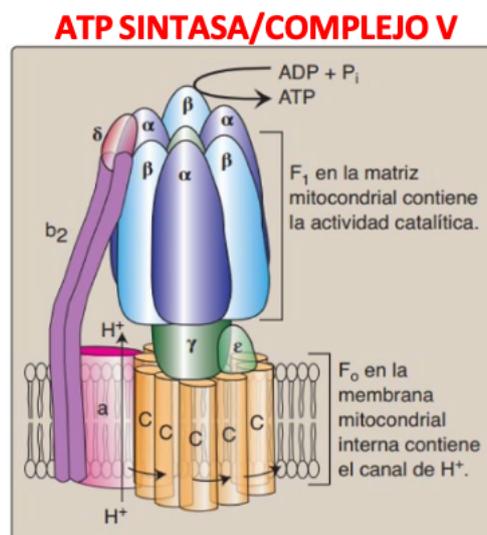
Los H⁺ serán devueltos a la matriz (proceso exergónico) utilizada para la generación de ATP (endergónica).

La **ATP sintasa (F₀F₁ ATPasa o Complejo V)** es una de las estructuras más complejas de la membrana mitocondrial. Contiene dos subestructuras principales (F₀ y F₁), cada una con una función determinada:

- **Porción F₀**: contiene un canal transmembrana para los protones. Insoluble.
- **Porción F₁**: participa directamente en la síntesis de ATP a partir de ADP y Pi. Soluble.

Actualmente se piensa que la entrada de tres protones desde el espacio intermembrana impulsa un movimiento rotatorio de la F₀. Este giro es aprovechado por F₁ para sintetizar una molécula de ATP a partir de ADP y Pi. Se necesita otro protón para la entrada de Pi a la matriz mitocondrial, mientras que el ADP se transporta gracias a la salida de ATP.

ATP SINTASA → 3-4 H⁺ por ATP



Regulación de la fosforilación oxidativa

La velocidad de la fosforilación oxidativa depende de las **necesidades energéticas de la célula**. El regulador más importante es el **ADP**: medida de las necesidades de energía metabólica (controlada por la CE).

La regulación por ADP se denomina **control respiratorio**. Se requiere de la actividad de la ATP sintasa para que funcione el acoplamiento.

El consumo de O₂ por parte de la mitocondria, es dependiente de ADP presente.

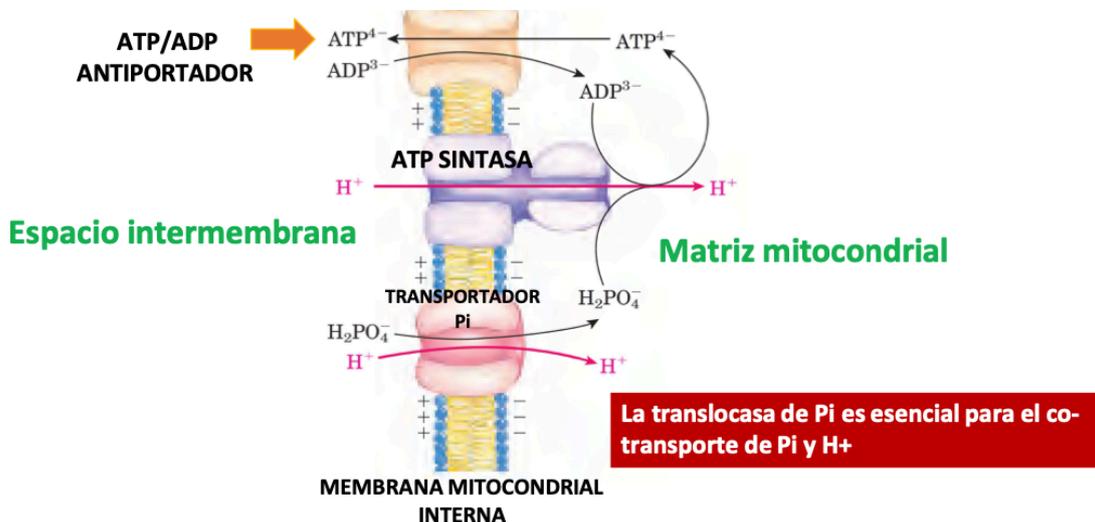
Las rutas catabólicas tienen una regulación acoplada a la fosforilación oxidativa mediante la carga energética (CE).

$$\frac{([ATP] + [ADP])/2}{([ATP] + [ADP] + [AMP])}$$

La CE en la mayoría de las células oscila entre 0.80 y 0.95.

Transporte del ATP al citosol: ATP translocasa

La membrana mitocondrial interna contiene distintos sistemas de transporte. Para el ATP/ADP y el Pi, una de las más importantes es la **ATP-ADP translocasa** o **Translocasa de nucleótidos de adenina**. Permite que las moléculas de ATP y ADP, fuertemente cargadas, puedan ser movilizadas a través de la membrana interna.



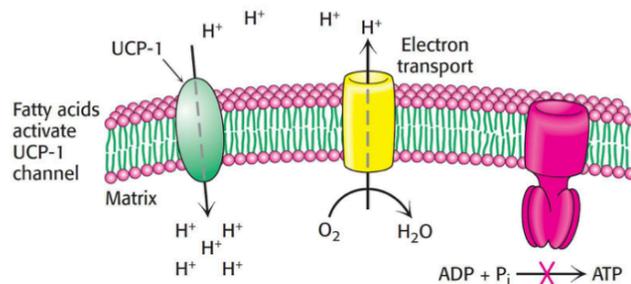
Desacoplamiento de la fosforilación oxidativa para producir calor

El acoplamiento con la fosforilación oxidativa es un paso clave en la producción de ATP, pero desacoplarlo puede tener usos biológicos.

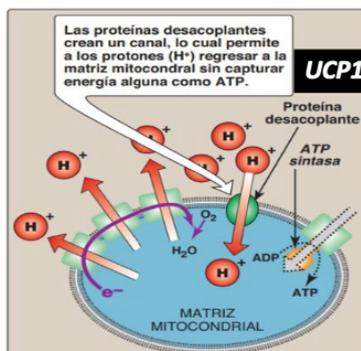
La membrana interna mitocondrial de los tejidos adiposos marrones existe una gran cantidad de **termogenina** o **UCP1**, que es una proteína desacopladora (UCP), que actúa como una vía alternativa para el regreso de los protones a la matriz.

Transporta H⁺ y la energía se utiliza para generar en **termogénesis** en vez de utilizarse para la producción de ATP (inducida por catecolaminas cuya producción es estimulada por el frío en el hipotálamo). Esto puede ser útil para generar calor cuando sea necesario (Por ejemplo, en invierno o durante la hibernación de ciertos animales).

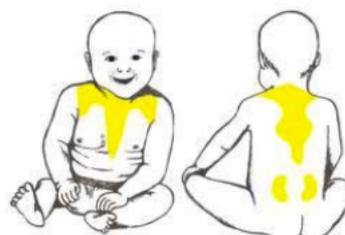
LA CAÍDA DE TEMPERATURA: liberación de hormonas conduce a la producción de ácidos grasos libres desde triacilgliceroles que a su vez activan la termogenina, la UCP1.



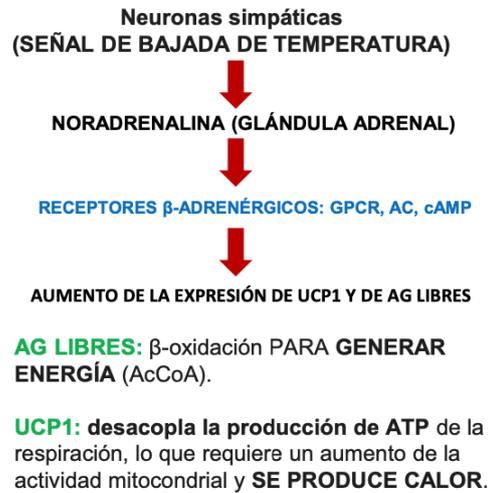
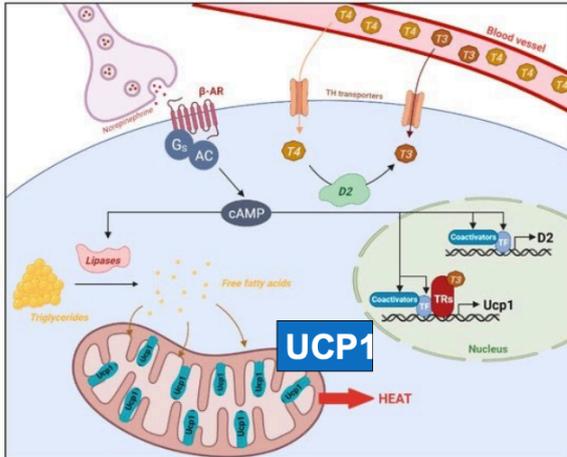
El tejido adiposo multilocular o tejido adiposo pardo es una clase de tejido adiposo, abundante en el feto y recién nacidos que tiene como única función la producción de calor. El lípido es acumulado en el citoplasma en forma de gotas de un tamaño no muy grande, rodeadas de numerosas mitocondrias, gracias a lo cual debe su característico color marrón. El núcleo tiene una localización menos excéntrica que en el tejido unilocular. El metabolismo de los lípidos en el tejido adiposo multilocular genera calor en el proceso conocido como termogénesis. Esta se produce gracias a la UCP-1 o proteína desacoplante (Termogenina), situada en la membrana interna de la mitocondria de la célula. Esta proteína desacopla la oxidación de los ácidos grasos de la producción de ATP. La energía producida por la mitocondria entonces se disipa. Las células de este tipo normalmente se disponen alrededor de los vasos sanguíneos y las mitocondrias carecen del aparato celular para transformar la energía liberada por la oxidación de los ácidos grasos en ATP por lo que ésta se transfiere en forma de calor a la sangre. Además, así se facilita el intercambio gaseoso por la intensa actividad celular. Este tipo celular aparece en los denominando animales hibernantes. En el ser humano aparece sobre todo en etapa fetal y constituye un 5% en el recién nacido.



Desacoplamiento proteico por UCP1: Rompe el gradiente de protones



CONTROL DE LA TERMOREGÉNESIS EN EL TEJIDO ADIPOSO MARRÓN POR LA NORADRENALINA: RECEPTORES β -ADRENÉRGICOS Y LA PROTEÍNA UCP1 (UNCOUPLED PROTEIN 1)



Patologías relacionadas con la fosforilación oxidativa

- 1. Oligomicina (bacterias *streptomyces*):** se une al dominio FO de la ATP sintasa. Cierra el canal y evita que los H⁺ entren en la matriz.
- 2. Defectos en la fosforilación oxidativa HEREDITARIAS:**
 - Más probables como resultado de las **alteraciones en el ADNmt HEREDITARIAS.**
 - Los tejidos con los **mayores requerimientos de ATP.**
 - LOS TEJIDOS MÁS AFECTADOS: SNC, los músculos esquelético y cardiaco, y el hígado.

EJEMPLOS:

MIOPATÍAS MITOCONDRIALES: síntomas musculares

NEUROPATÍA ÓPTICA HEREDITARIA DE LEBER: neuroretinal y daño al nervio óptico.

- 3. Defectos en la fosforilación oxidativa NO HEREDITARIA:**

-Disminución en la producción de ATP **en PARKINSON Y ALZHEIMER**

- 4. Generación de especies reactivas de oxígeno (ROS, reactive oxygen species):**

-El aceptor final de los e⁻ es el O₂ para dar H₂O.

-Pero **SE PRODUCE** un pequeño número de moléculas tóxicas, los radicales de oxígeno: O₂⁻, OH⁻.

-Defensas celulares frente a los ROS: **SUPERÓXIDO DISMUTASA Y GLUTATION PEROXIDASA**

