

Bioenergética

Miguel Ángel Ordorica & María de la Luz Velázquez Monroy

Introducción

En su sentido más amplio, se llama **Bioenergética** a la aplicación de la **Termodinámica** en los sistemas biológicos, esto incluyen todas las transformaciones de energía que se producen en los seres vivos. Sin embargo, prácticamente en todos los procesos que se dan en los seres vivos, existe un intermediario común en los intercambios de energía, el Trifosfato de Adenosina (ATP) de ahí que en forma clásica la Bioenergética se ocupe del estudio de los mecanismos de síntesis de ATP, dejando los mecanismos de consumo para su revisión durante el estudio del metabolismo.

Ciclo Energético Celular

Como recordarás, al estudiar Termodinámica, describimos a los seres vivos como sistemas termodinámicos abiertos en estado estacionario, que disipan energía para mantenerse alejados del equilibrio. Esta energía proviene de la degradación de los alimentos que consumen, la cual se lleva a cabo en un conjunto de reacciones que incluyen hidrólisis, rompimiento y oxido-reducción, al cual denominamos **Catabolismo**. Por otra parte, el mantenimiento de la organización del sistema consume energía para la realización constante de varios tipos de trabajo, mecánico, osmótico y químico, entre otros. Este último incluye la formación constante de nuevas moléculas, en las reacciones que constituyen el **Anabolismo**. Catabolismo y Anabolismo son las dos etapas del Metabolismo de todas las células (**Figura 1**).

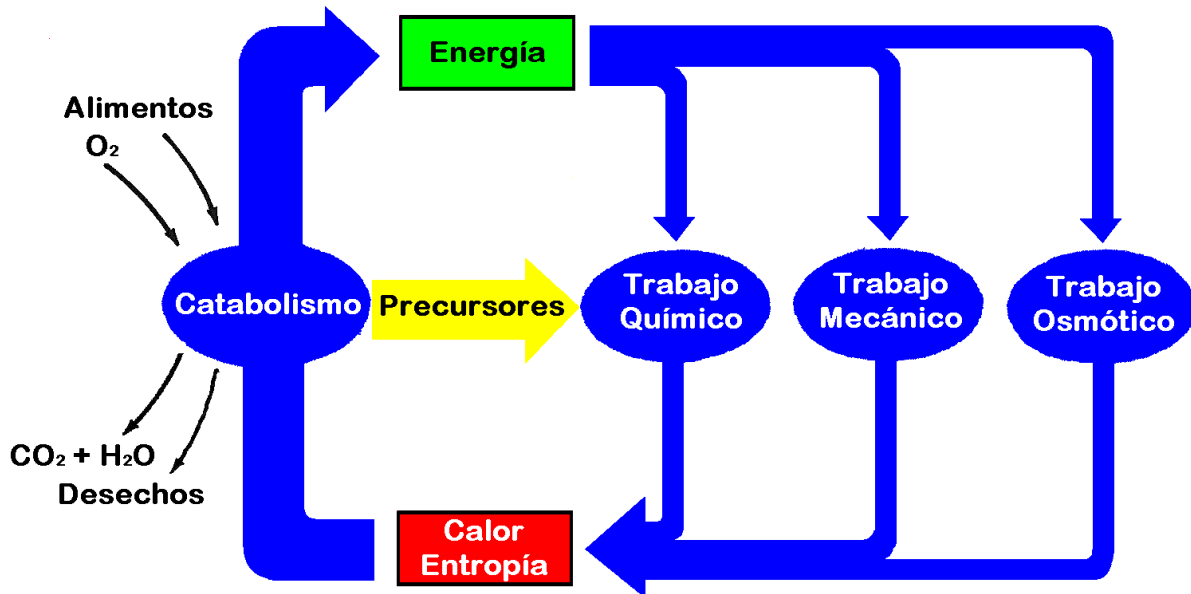


Figura 1. Ciclo Energético Celular

De lo anterior queda claro que si el catabolismo produce energía, y esta se consume en varios tipos de procesos, es necesario contar con uno o más mecanismos de acoplamiento que permitan transportar la energía de los procesos que la producen, a los que la consumen. El mecanismo de acoplamiento más usado por las células es mediante intermediarios de alta energía que se sinteti-

zan durante el catabolismo, almacenando parte de la energía liberada, y se degradan en el anabolismo, liberando dicha energía. En el metabolismo existen varios compuestos de alta energía de hidrólisis, pero el más importante en los procesos de transferencia de energía es el **Adenosintrifosfato, Trifosfato de Adenosina** o ATP (Figura 2).

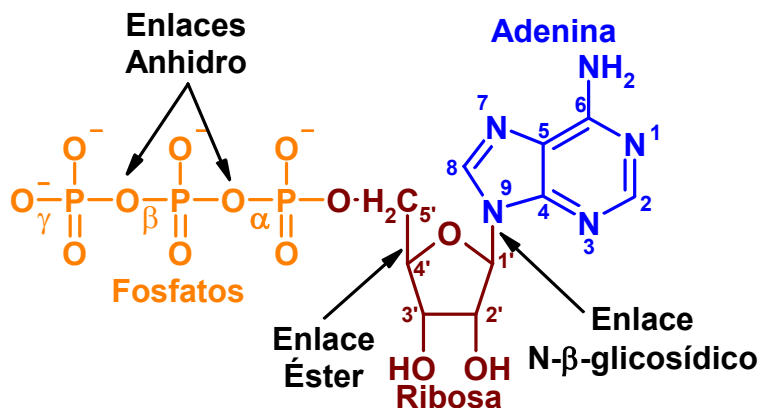


Figura 2. Estructura del ATP

Adenosintrifosfato

El ATP es uno de los compuestos llamados **nucleótidos**. Los nucleótidos reciben este nombre debido a que son las unidades estructurales de los ácidos nucleicos, pero también cumplen otras funciones. Se encuentran en la estructura de muchas coenzimas y también actúan como tales en el metabolismo de glúcidos, lípidos y aminoácidos. Además, hay nucleótidos y derivados con funciones reguladoras y neurotransmisoras. Los nucleótidos están formados por una base nitrogenada, un monosacárido y fosfato, en el ATP los componentes son Adenina, Ribosa y tres Fosfatos (Figura 2).

La estructura del ATP están formada por tres tipo de enlaces: (1) Un enlace glicosídico, entre el Nitrógeno 9 de la Adenina con el Carbono 1' de la Ribosa; la configuración del carbono anomérico de la Ribosa es de tipo beta, y como se une a un Nitrógeno, se acostumbra a denominar el enlace como **N-β-glicosídico**. La molécula formada únicamente por Adenina y Ribosa se llama **Adenosina** y es un **nucleósido**. (2) Un enlace éster, entre uno de los -OH ácidos del fosfato y el hidroxilo del Carbono 5' de la Ribosa, que se incluye entre los **ésteres fosfóricos**. (3) Dos enlaces anhidro, que se forman al unirse dos grupos -OH ácidos, de fosfatos diferentes, con la eliminación de un molécula de agua. Los enlaces anhidro, en ocasiones se designan como **enlaces de alta energía**, porque cuando se hidrolizan, se libera gran cantidad de energía libre. Aunque esta costumbre está muy extendida, porque se aplica fácilmente en muchos procesos, sin embargo, no se debe perder de vista que en realidad, la energía se encuentra almacenada en toda la molécula y no únicamente en el enlace anhidro.

El cambio de energía libre estándar de hidrólisis del ATP puede ser de - 25 a - 40 kJ mol⁻¹. El valor exacto depende del pH, la temperatura y los cationes metálicos presentes. Uno de los sistemas mejor estudiados es el complejo Mg-ATP, el cual, a pH = 7 y T = 310 K, tiene ΔG° = -30.5 kJ mol⁻¹, valor que se usa como referencia en los cálculos de balance energético del metabolismo.

En el **Esquema I** se resume la Termodinámica de las reacciones de hidrólisis del ATP y su con-géneres, en estas mismas condiciones.

$\text{ATP} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{ADP} + \text{P}_i$	$\Delta G^{\circ'} = -30.5 \text{ kJ mol}^{-1}$
$\text{ADP} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{AMP} + \text{P}_i$	$\Delta G^{\circ'} = -30.0 \text{ kJ mol}^{-1}$
$\text{AMP} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Adenosina} + \text{P}_i$	$\Delta G^{\circ'} = -14.0 \text{ kJ mol}^{-1}$
$\text{ATP} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{AMP} + \text{PP}_i$	$\Delta G^{\circ'} = -31.2 \text{ kJ mol}^{-1}$
$\text{PP}_i + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{P}_i$	$\Delta G^{\circ'} = -29.3 \text{ kJ mol}^{-1}$

Esquema I

Analizando los valores enlistados, está claro que únicamente el ATP, ADP y Pirofosfato tienen alta energía de hidrólisis de sus enlaces anhídrido de fosfato.

Energía libre de hidrólisis del ATP

Las reacciones de hidrólisis de los enlaces anhídrido, producen un aumento de estabilidad de los productos, en relación a los reactivos, mediante diferentes mecanismos que explican el valor grande del cambio de energía libre de hidrólisis. Algunas de estos mecanismos se explican a continuación.

1. Energía estérica. Los grupos fosfato del ATP son radicales de gran tamaño, que se mantienen unidos por los enlaces anhídrido, pero que por su tamaño, tiene gran impedimento estérico entre ellos, y también con los otros componentes de la molécula. Esto aumenta la energía estérica de la molécula (**Figura 3**) y disminuye la libertad conformacional.

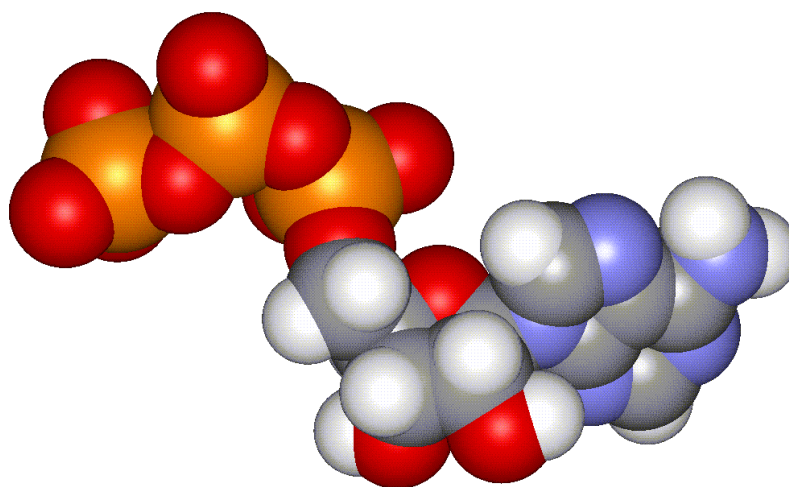
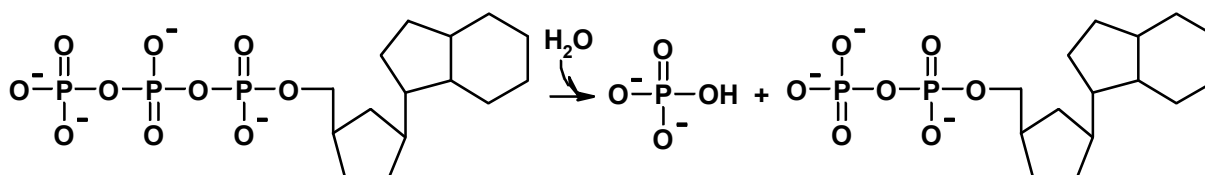


Figura 3. Estructura tridimensional del ATP

Cuando se hidrolizan un enlace anhídrido, alguno de los grupos grandes se separa, liberando parte de la energía estérica como contribución al cambio de energía libre de hidrólisis y aumentando la libertad conformacional y por lo tanto la entropía del sistema, lo que también aumenta la energía libre de hidrólisis.

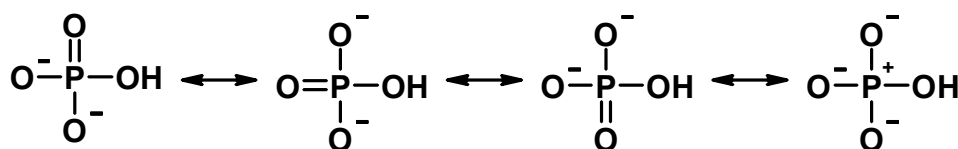
2. Repulsión de carga. Además de su gran tamaño, los grupos fosfato también tienen alta densidad de carga negativa por lo que se repelen, y esta repulsión provoca tensión en la molécula de ATP. Para disminuir la repulsión, el ATP generalmente se encuentra asociado con iones positivos como Ca^{2+} , Mg^{2+} o Mn^{2+} , que ayudan a disminuir la repulsión entre los fosfatos. Cuando se hidroliza un enlace anhidro, ambos productos conservan la carga negativa y por lo tanto se repelen (**Esquema II**) la separación de las cargas del mismo signo, también contribuyen a aumentar la energía libre de hidrólisis del ATP, disminuyendo la tensión y aumentando la entropía.



Esquema II

3. Estabilización por Ionización. La molécula de ATP tiene una carga neta de 4-, y cuando se hidroliza, el ADP y el fosfato inorgánico que se producen, tienen una carga total de 5- (**Esquema II**). La hidrólisis libera un grupo ácido que se puede ionizar. La energía liberada en la reacción de ionización contribuye al cambio de energía libre de hidrólisis total del ATP.

4. Estabilización por Resonancia. La hidrólisis de ATP aumenta la libertad de resonancia y la entropía. ADP y P_i poseen más estructuras de resonancia que el ATP. Por ejemplo, el P_i tiene varias estructuras de resonancia con energía semejante (**Esquema III**) algunas de las cuales no puede adquirir cuando se encuentra en el ATP.



Esquema III

Magnitud de la Energía Libre de Hidrólisis

Con todo y que el ATP tiene energía libre de hidrólisis grande, como se observa en la **Tabla 1**, no es el compuesto con la mayor energía libre de hidrólisis, más bien, está colocado en un punto medio entre aquellos con energías muy altas, que podrían ceder energía en un proceso, y los que tienen energías bajas, cuya síntesis requiere energía libre.

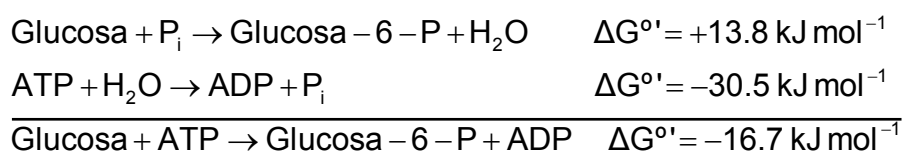
Tabla 1. Energía Libre Estándar de Hidrólisis de Algunos Compuestos con Fosfato a $\text{pH}=7$.

Compuestos	ΔG° (kJ mol^{-1})	Compuestos	ΔG° (kJ mol^{-1})
Fosfoenolpiruvato	- 61.9	Glucosa-1-fosfato	- 20.9
Acetifosfato	- 43.1	Glucosa-6-fosfato	- 13.8
Creatinfosfato	- 43.1	Glicerol-1-fosfato	- 9.2
ATP	- 30.5		

Esta posición permite al ATP aceptar la energía de los compuestos que la pueden ceder y donarla a los que la requieren, que es justamente el comportamiento que debe tener un compuesto para participar en las transferencias de energía.

Acoplamiento de Reacciones

La forma principal como el ATP transfiere la energía, es mediante el acoplamiento de su hidrólisis, fuertemente exergónica, con reacciones endergónicas. Los agentes responsables del acoplamiento son las enzimas. En muchas ocasiones, pero no siempre, el acoplamiento consiste en donar el fosfato del ATP a un sustrato, para aumentar el nivel de energía de este, como sucede en la fosforilación de monosacáridos, que les permite entrar al metabolismo. Como ejemplo, en el **Esquema IV** se presenta la Termodinámica del acoplamiento que conduce a la fosforilación de la Glucosa.



Esquema IV

La fosforilación directa de la Glucosa no es una reacción permitida porque tiene $\Delta G^{\circ'}$ positivo pero cuando la enzima le transfiere el fosfato liberado en la hidrólisis del ATP, la suma de los cambios de energía resulta negativa.

Reacciones de oxidorreducción

Durante el catabolismo, la energía es liberada en reacciones de oxidorreducción; reacciones en las que se transfieren electrones de un compuesto a otro. En todas las reacciones de oxidorreducción, un compuesto **pierde ó cede electrones y se oxida**, mientras que otro **gana o acepta electrones y se reduce**. El compuesto que **gana o acepta electrones es el Agente Oxidante** y el que **pierde o cede electrones es el Agente Reductor**. En forma semejante a como sucede en las reacciones ácido-base, en las que un ácido únicamente puede actuar como tal, si existe una base con la cual reaccionar; en las reacción de oxidorreducción para que un compuesto se oxide, otro debe reducirse. También, así como un ácido al ceder protones se convierte en su base conjugada, un agente oxidante que acepta electrones queda reducido, y un agente reductor al donar protones queda oxidado.

En las reacciones de oxidorreducción biológicas los electrones se pueden transferir de diferentes formas. Cuando se transfieren solos (e^-) generalmente lo hacen mediante la oxidorreducción reversible de iones metálicos como Hierro o Cobre. También se pueden transferir electrones junto con protones, en forma de átomos de Hidrógeno ($\text{H}^+ + e^-$) o iones hidruro ($\text{H}^- = \text{H}^+ + 2e^-$) mediante coenzimas de oxidorreducción. En cualquier forma que se transfiera, cada electrón transferido constituye un **Equivalente Reductor**.

En los organismos aerobios, como los humanos, el Oxígeno es el aceptor final de electrones en el metabolismo. Sin embargo, la oxidación de los alimentos no se efectúa por reacción directa con

O₂, sino con coenzimas de oxidorreducción, de las cuales las más importantes en el catabolismo son dos, el Dinucleótido de Nicotinamida y Adenina (**NAD⁺**, **Figura 4**) y el Dinucleótido de Flavina y Adenina (**FAD**, **Figura 5**). Además, en las reacciones de oxidorreducción del anabolismo, participa un análogo del **NAD⁺**, el Dinucleótido de Nicotinamida y Adenina Fosfato (**NADP⁺**, **Figura 4**). En los humanos, **NAD⁺** y **NADP⁺** se forman a partir de la Niacina (vitamina B₃) y el **FAD** a partir de Riboflavina (vitamina B₂). Tanto **NAD⁺** como **NADP⁺** aceptan dos equivalentes reductores en forma de un ión hidruro, para convertirse en sus formas reducidas **NADH** y **NADPH**, respectivamente; mientras que el **FAD** también acepta dos equivalentes reductores, pero en forma de dos átomos de Hidrógeno para formar el **FAD** reducido ó **FADH₂**.

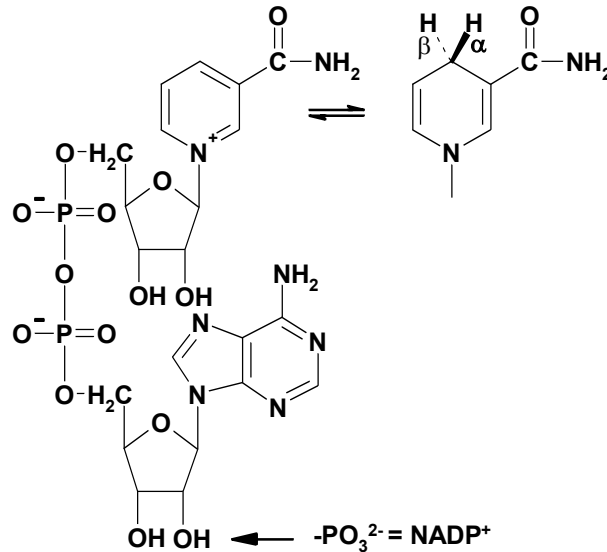


Figura 4. Estructura de **NAD⁺** y **NADP⁺**

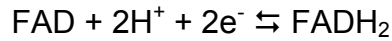
El sitio activo de **NAD⁺** y **NADP⁺**, es el Carbono 4 del anillo de nicotinamida. En la forma oxidada, el Nitrógeno del anillo de nicotinamida tiene baja densidad electrónica y carga positiva; esta situación es inestable debido a la electronegatividad del Nitrógeno, la cual provoca un corrimiento de electrones que disminuye la densidad electrónica en el Carbono 4, y lo hace capaz de aceptar el par de electrones del ión Hidruro. Esta reacción se representa en forma abreviada como se muestra en el **Esquema V**. El protón libre que se incluye en la reacción es únicamente como indicación de que la cantidad de carga es constante. El Hidrógeno que entra a formar parte de la coenzima reducida, puede hacerlo desde el frente del anillo, el lado **A**, o desde la parte de atrás, el lado **B** (ver **Figura 4**), las enzimas que utilizan **NAD⁺** ó **NADP⁺**, son específicas de la cara del anillo a la que añaden el Hidrógeno.



Esquema V

Por su parte el **FAD** tiene dos Nitrógenos en el anillo de Isoaloxazina de la Riboflavina, que mediante el corrimiento de electrones pueden aceptar un Hidrógeno completo cada uno, sin cambiar la carga de la molécula. La oxidorreducción reversible del **FAD**, se representa de manera simplificada, en la forma que se muestra en el **Esquema VI**.

Bionergética



Esquema VI

Los equivalentes reductores transportados como **NADH** y **FADH₂** son usados para la síntesis de ATP, mientras que el **NADPH** se utiliza como agente reductor en el anabolismo.

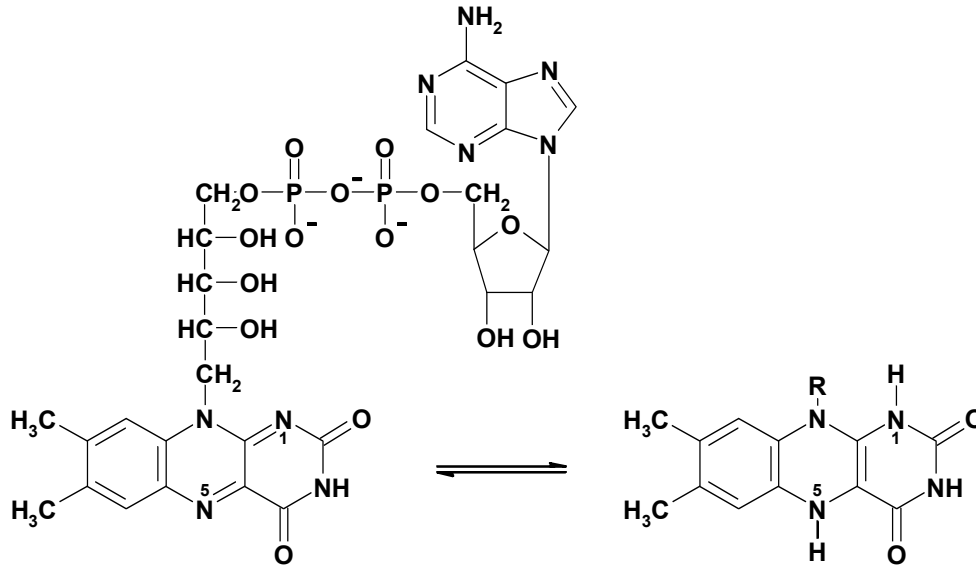


Figura 5. Estructura del FAD

Síntesis de ATP

La síntesis de ATP consiste en unir fosfato inorgánico a una molécula de ADP, o sea es la **fosforilación de la molécula de ADP**, por tal motivo en Bioenergética se acostumbra referirse a la síntesis de ATP simplemente como la “**fosforilación**”, en el entendido que se debe interpretar como la fosforilación del ADP. Existen dos formas de síntesis de ATP que se conocen como **Fosforilación a Nivel de Sustrato** y **Fosforilación Oxidativa**.

Fosforilación a Nivel de Sustrato

La Fosforilación a Nivel de Sustrato se descubrió durante las investigaciones en que estableció la secuencia de reacciones de la Glicólisis. En esta forma de fosforilación, la síntesis de ATP se acopla a la hidrólisis de un compuesto con energía libre de hidrólisis mayor que la del propio ATP. El acoplamiento consiste en la transferencia de fosfato desde el compuesto de alta energía de hidrólisis al fosfato β del ADP. Los agentes responsables del acoplamiento son enzimas de la familia de las transferasas (EC 2) que reciben el nombre genérico de **Cinasas**¹.

En nuestro metabolismo existen tres reacciones de fosforilación a nivel de sustrato de importancia, dos que se llevan a cabo en condiciones aerobias o anaerobias, en la vía de la **Glicólisis**, y la tercera que únicamente se realiza en condiciones aerobias, porque forma parte de la vía oxidativa del **Ciclo del Ácido Cítrico**.

Fosforilación a Nivel de Sustrato en la Glicólisis

Las reacciones de fosforilación a nivel de sustrato de la Glicólisis (**Figura 6**) utilizan los dos compuestos de alta energía que se forman en esta vía el 1,3-Bifosfoglicerato y el Fosfoenolpiruvato. En condiciones de anaerobiosis, estas reacciones constituyen la única fuente de energía de las células, porque el metabolismo oxidativo no se lleva a cabo.

La primera fosforilación depende de la enzima **Fosfoglicerato Cinasa** (EC 2.7.2.3) que utiliza la energía de hidrólisis del enlace anhidro mixto entre el carboxilato y el fosfato, para formar el enlace anhidro entre los fosfato β y γ del ATP. La reacción es favorecida por el medio hidrófobo que se crea cuando la enzima cambia de conformación al unir los sustratos. Aunque el cambio de energía libre de la reacción es considerable, en las condiciones intracelulares la reacción está próxima al equilibrio y por ello se considera reversible.

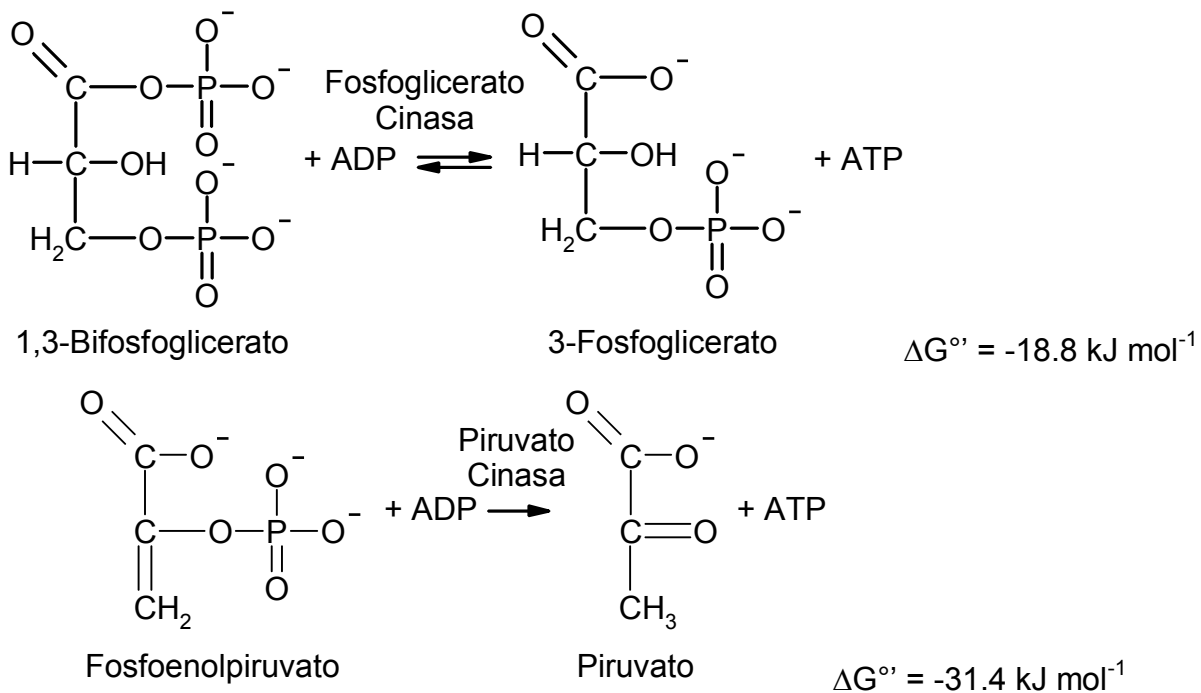
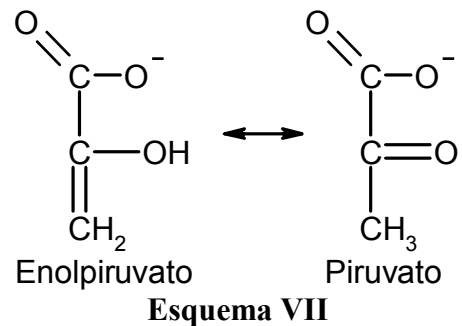


Figura 6. Reacciones de fosforilación a nivel de sustrato de la Glicólisis

La segunda reacción de fosforilación de la Glicólisis utiliza el compuesto, con mayor energía libre de hidrólisis de toda la vía, el Fosfoenolpiruvato (**PEP**) que al hidrolizarse, cambia de forma tautomérica enólica a cetónica (**Esquema VII**) más estable en condiciones de pH neutro de la célula. La reacción depende de la enzima **Piruvato Cinasa** (EC 2.7.1.40) y libera suficiente energía libre para la síntesis de dos moléculas de ATP, pero el **PEP** sólo tiene un fosfato para transferir y por ello sólo se fosforila un ADP. Esta es la última reacción de la Glicólisis y tiene un cambio de energía libre muy grande por lo que se considera irreversible.



Fosforilación a Nivel de Sustrato en el Ciclo del Ácido Cítrico

En el Ciclo del Ácido Cítrico, se forma un compuesto de alta energía de hidrólisis la **Succinil-CoA** que es empelado como fuente de energía para la síntesis de una molécula de GTP, que es energéticamente equivalente al ATP. La reacción (**Figura 7**) es catalizada por la enzima **Succinil-CoA Sintetasa** (EC 6.2.1.4) e implica la promoción de un fosfato inorgánico hasta el anhidro fosfórico del GTP. Esta promoción se lleva a cabo en una secuencia de transferencias del fosfato que se inicia con la formación de un anhídrido mixto entre el fosfato inorgánico y el carboxilo del Succinato, al momento de la hidrólisis del Tioéster. El fosfato es después transferido a un resto de Histidina de la enzima, que finalmente lo cede al GDP.

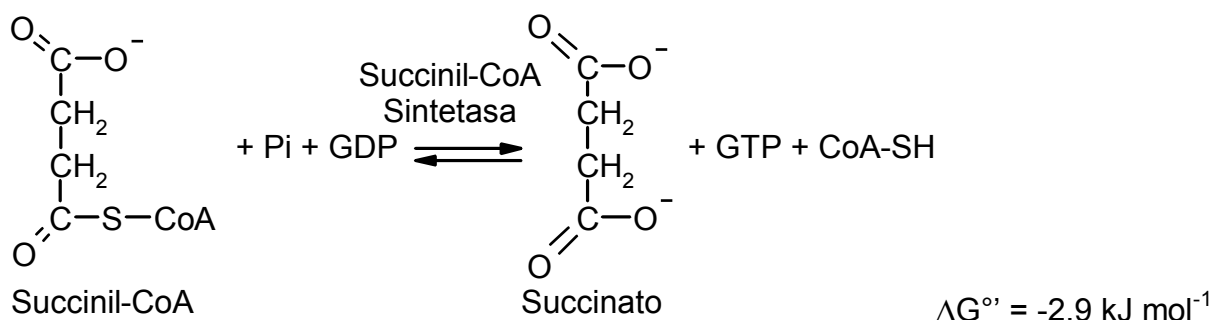


Figura 7. Fosforilación a nivel de sustrato en el Ciclo del Ácido Cítrico

La reacción tiene un cambio de energía pequeño y por lo tanto puede cambiar de dirección con facilidad, sin embargo, en condiciones normales, en el ciclo del ácido cítrico otras reacciones marcan la dirección de la vía, llevando la reacción de la Succinil-CoA Sintetasa en la dirección indicada. En otros organismos, la enzima equivalente a la humana, sintetiza ATP y anteriormente recibía el nombre de **Succinato Tiocinasa**, el cual no sigue las convenciones de la nomenclatura sistemática actual y se recomienda no emplearlo.

Otras Transferencias de Fosfato de Alta Energía

Las tres reacciones anteriores, constituyen las fosforilaciones a nivel de sustrato “clásicas”, pero en el organismo hay algunas otras reacciones de síntesis de ATP a nivel de sustrato que también son de interés.

La Creatina, es un aminoácido no proteínico que sirve como almacén temporal de energía en las células musculares. Cuando la cantidad de ATP es elevada, la enzima mitocondrial **Creatina Cinasa** (EC 2.7.3.2) antes llamada **Creatinfosfato Cinasa (CPK)** cataliza la reacción de transferencia de fosfato del ATP para formar el Creatinfosfato (**Figura 8**) que difunde desde la mitocondria al citoplasma de la célula donde al iniciarse la contracción muscular, es utilizado para la fosforilación a nivel de sustrato.

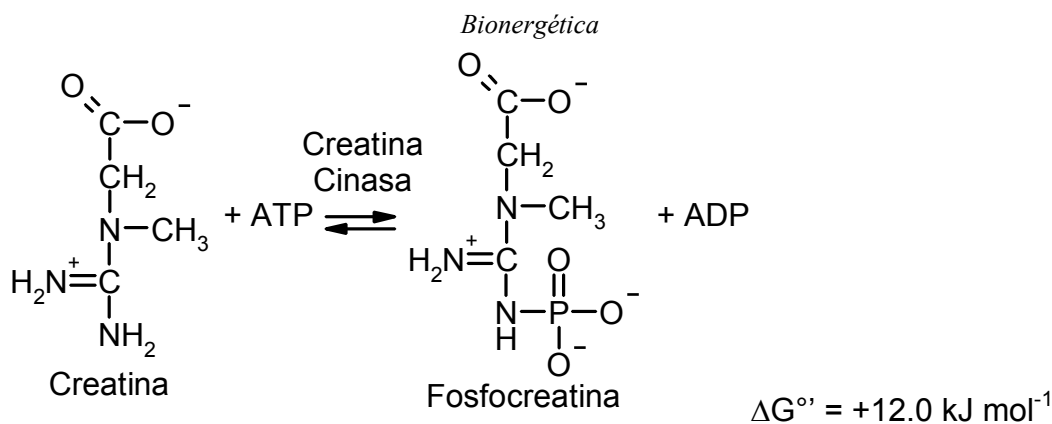


Figura 8. *Reacción de la Creatina Cinasa*

En condiciones estándar la reacción es endergónica pero en las mitocondrias del tejido en reposo, la concentración elevada de ATP invierte el signo del cambio de energía de hidrólisis y lleva la reacción a la derecha. En cambio, en el citoplasma durante la contracción muscular, disminuye la concentración de ATP, aumenta el ADP y la reacción se desplaza hacia la síntesis de ATP, que sirve como fuente de energía para la contracción muscular. La Creatina Cinasa tiene varias isoenzimas que se emplean en diagnóstico clínico.

Otra reacción que en algunas ocasiones, se puede considerar como fosforilación a nivel de sustrato no clásica es catalizada por la enzima **Adenilato Cinasa** (EC 2.7.4.3) o **Miocinasa**. En el metabolismo normal esta enzima cataliza la regeneración del AMP a ADP (**Esquema VIII**) para que pueda entrar a la vía principal de fosforilación.



Sin embargo, debido a que el cambio de energía libre de hidrólisis es casi cero, la reacción puede cambiar fácilmente de sentido. Cuando se presentan condiciones de gasto de energía sostenido, que rebasan la capacidad de síntesis de ATP, la acumulación de ADP puede llevar la reacción hacia la izquierda y servir como fuente de ATP. Cuando las condiciones regresan a la normalidad, El AMP acumulado debe regenerarse hasta ADP, para que este pueda entrar a las vías principales de síntesis de ATP.

Fosforilación Oxidativa

Se denomina así a la síntesis de ATP que está acoplada a la respiración. La fosforilación oxidativa aporta la mayor cantidad de la energía requerida por las células. En las células Eucarióticas, respiración y fosforilación oxidativa se llevan a cabo en la Mitocondria, asociadas a la membrana interna. En los Procariotes, se efectúan en la membrana citoplásmica.

En su momento, el acoplamiento entre el consumo de Oxígeno en la mitocondria completa, y la conversión del ADP y P_i en ATP, se reconoció como concepto nuevo, sumamente importante en Bioquímica. Hoy en día sabemos que la energía liberada en la respiración se almacena en forma de un **Gradiente de Protones**, con un componente de concentración y otro de potencial eléctrico, a través de la membrana mitocondrial interna. La energía almacenada en el gradiente se usa para

la síntesis de ATP. Este concepto fue propuesto en 1961, en forma de la llamada **Teoría Quimiosmótica** por el bioquímico británico *Peter Mitchell* (1920-1992), quien recibió el premio Nobel de Química en 1978 por su descubrimiento.

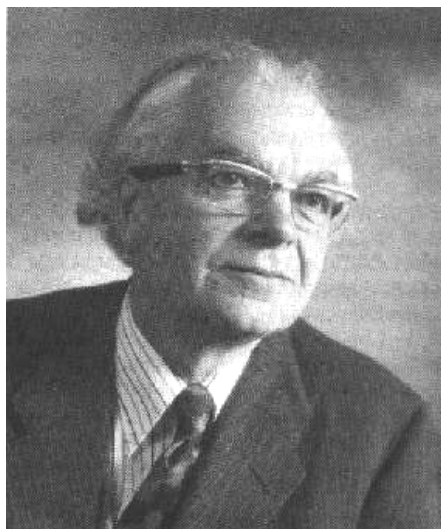


Figura 9. *Peter Mitchell*

Componentes de la Cadena Respiratoria

El sistema de enzimas mitocondriales y moléculas transportadoras de oxidorreducción, que llevan los equivalentes reductores de los sustratos hasta el Oxígeno, se conocen en forma colectiva como **Cadena Respiratoria** o **Sistema de Transporte de Electrones** (Tabla 2).

Tabla 2. *Componentes de la Cadena Respiratoria*

Componente	Localización	Grupo Prostético	Función
NADH/NAD	Matriz		Acarreador soluble
Complejo 1. NADH: CoQ Reductasa ó NADH Deshidrogenasa.	Atraviesa la Membrana Interna	FMN y Fe no Hemo	Bombea protones (4H ⁺ /2e ⁻). Primer sitio de Acoplamiento
Complejo 2. Succinato Deshidrogenasa ó Succinato: CoQ Reductasa	Atraviesa la Membrana Interna	FAD y Fe no Hemo	
Coenzima Q. Ubiquinol/Ubiquinona	En la Membrana Interna		Acarreador de equivalentes reductores, soluble en lípidos
Complejo 3. CoQ: Citocromo C reductasa.	Atraviesa la Membrana Interna	Hemo b, Hemo c ₁ y Fe no Hemo	Bombea protones (4H ⁺ /2e ⁻). Segundo sitio de Acoplamiento
Citocromo C	Espacio Intermembranoso	Hemo c	Acarreador de Equivalentes soluble
Complejo 4. Citocromo C oxidasa.	Atraviesa la Membrana Interna	Hemo a, Hemo a ₃ y Cobre	Bombea protones (2H ⁺ /2e ⁻). Tercer sitio de Acoplamiento

Este sistema captura la energía libre que queda disponible durante la oxidación de los substratos para que más adelante se pueda utilizar en la síntesis de ATP. El fraccionamiento de las mitocondrias con detergentes y sales, descompone la cadena respiratoria en cuatro complejos de peso molecular elevado, formados por varias subunidades proteicas, que contienen las principales enzimas respiratorias y se designan con números del 1 al 4. Los complejos se encuentran incluidos en la membrana mitocondrial interna, presentando una cara hacia la matriz mitocondrial y otra al espacio intermembranoso. En la membrana mitocondrial se encuentran otras enzimas como la Transhidrogenasa Dependiente de Energía (ELTH), que cumplen funciones auxiliares.

El orden en que participan los componentes principales de la cadena respiratoria, corresponde aproximadamente al de sus potenciales de oxidorreducciónⁱⁱ (**Tabla 3**).

Tabla 3. Potenciales de oxidorreducción de los componentes de la Cadena Respiratoria

Componente	ϵ° V
$\text{NAD}^+ + 2 \text{H}^+ + 2 \text{e}^- \rightarrow \text{NADH} + \text{H}^+$	- 0.32
$\text{FMN} + 2 \text{H}^+ + 2 \text{e}^- \rightarrow \text{FMNH}_2$	- 0.30
$\text{FAD} + 2 \text{H}^+ + 2 \text{e}^- \rightarrow \text{FADH}_2$	- 0.04
$\text{CoQ} + 2 \text{H}^+ + 2 \text{e}^- \rightarrow \text{CoQH}_2$	0.045
$\text{Cyt c (Fe}^{3+}) + \text{e}^- \rightarrow \text{Cyt c (Fe}^{2+})$	0.25
$\text{Cyt a (Fe}^{3+}) + \text{e}^- \rightarrow \text{Cyt a (Fe}^{2+})$	0.55
$\text{O}_2 + 4 \text{H}^+ + 4 \text{e}^- \leftrightarrow 2 \text{H}_2\text{O}$	0.82

Los complejos se comunican a través de dos moléculas libres, la CoQ (**Figura 10**) y el citocromo C, que llevan los equivalentes reductores de un complejo al siguiente. Con excepción del segundo, todos los complejos bombean protones de la matriz mitocondrial al espacio intermembranoso, al tiempo que los equivalentes reductores pasan de un complejo al siguiente, por lo que se conocen como **Sitios de Acoplamiento**.

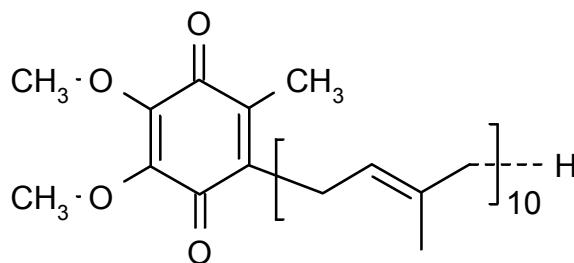


Figura 10. Estructura de la Coenzima Q

El bombeo de protones genera un gradiente de potencial químico ($\Delta\mu$) a través de la membrana mitocondrial interna, este gradiente tiene un componente de concentración de protones (ΔpH), mayor en el exterior que en la matriz, y otro de carga ($\Delta\psi$), más positiva en el exterior que en el interior. Que hacen que el cambio de energía libre estándar para el retorno de los protones a la matriz sea un proceso exergónico.

$$\Delta\mu = \Delta\text{pH} + \Delta\Psi = -5.86 \text{ kJ mol}^{-1} - 13.39 \text{ kJ mol}^{-1} = -19.25 \text{ kJ mol}^{-1}$$

Esquema IX

Movidos por la energía del gradiente, los protones regresan a la matriz mitocondrial a través de la enzima **ATPasa dependiente de Protones**, también conocida como **ATP sintasa** o simplemente **ATPasa**, que utiliza la energía para sintetizar ATP a partir de ADP y P_i , eliminando una molécula de agua. La cantidad de ATP sintetizado a partir de cada coenzima reducida, esta en relación directa con el número de protones bombeados, cuando los electrones donados por la coenzima pasan por la cadena respiratoria hasta el Oxígeno. Esta dependencia se mide usando la relación entre la cantidad de fosfato fijado como ATP y el Oxígeno consumido (P:O) por coenzima.

Cada par de electrones que pasa por el Complejo 1 de la cadena respiratoria bombea 4 protones y 4 cargas positivas hacia el espacio intermembranoso. La estequiometría del bombeo de protones de los complejos 3 y 4 es difícil porque el Citocromo C, que acepta electrones del complejo 3 y los dona al complejo 4, se encuentra del lado externo de la membrana mitocondrial, mientras que la reducción del Oxígeno se lleva a cabo en la matriz. Además de las cargas positivas de los protones, es necesario tomar en cuenta las cargas negativas de los electrones que pasan por la cadena. Además, la reducción del Oxígeno consume dos protones más, provenientes del agua, que son indistinguibles de los bombeados por el complejo 4. Estos protones del medio, no se contabilizan porque equivalen a los protones que se liberan al inicio de la cadena durante la oxidación de las coenzimas, cuando los equivalentes reductores pasan de las coenzimas a los citocromos. El efecto total de estos movimientos es que el complejo 3 **bombea 4 protones pero sólo 2 cargas positivas**, mientras que el complejo 4 **bombea sólo 2 protones pero 4 cargas positivas**, por cada par de electrones que pasa por la cadena respiratoria. Entonces, la **oxidación del NADH** produce la **salida de 10 protones** y 10 cargas positivas hacia el espacio intermembranoso. Mientras que el **FADH₂** del Complejo 2, **bombean únicamente 6 protones** y 6 cargas positivas, porque este complejo no bombea protones y los equivalentes sólo pasan por los complejos 3 y 4.

Hay otras enzimas que también donan electrones directamente a la CoQ. La **Acil-CoA deshidrogenasa** (EC 1.3.9.3) es una Flavoproteína soluble que se encuentra en la matriz mitocondrial y participa en la oxidación de los ácidos grasos. Transfiere sus equivalentes reductores directamente a la CoQ a través de una **Flavoproteína Transportadora de Electrones** (ETF) de bajo peso molecular, sin que pasen por ninguno de los complejos de la cadena. La **Glicerolfosfato Deshidrogenasa** (EC 1.1.1.8) es otra Flavoproteína que también dona equivalentes reductores directamente a la CoQ. Se encuentra en la membrana mitocondrial interna, pero su sitio activo se encuentra en el exterior, de manera que reacciona con su sustrato en el citoplasma, no en la matriz. Ninguna de estas enzimas bombea protones y la relación P:O de sus sustratos es de sólo 1.5 y se redondea a 2.0.

Regulación de la actividad de Cadena Respiratoria

La actividad de la cadena respiratoria depende en general de la presencia de sus sustratos: ADP, Fosfato, Coenzimas Reducidas y Oxígeno. Cuando todos ellos están presentes la Cadena funciona a su máxima capacidad y cuando falta alguno, se detiene. En un momento dado, el nivel de actividad es resultado del efecto acumulado de todos ellos.

La cantidad de coenzimas reducidas depende de la velocidad del metabolismo celular; cuando hay suficientes coenzimas reducidas la cadena trabaja rápidamente, cuando la cantidad de coenzimas reducidas disminuye también disminuye la velocidad. El nivel de oxigenación está en función de la capacidad de irrigación del organismo, si la célula cuenta con suficiente Oxígeno, la cadena lo utiliza, cuando no hay se detiene. Por su parte, la cantidad de ADP y fosfato están determinados por el gasto de energía de la célula, si la célula está en reposo y disminuye la cantidad de ADP y fosfato, la cadena disminuye su velocidad, pero cuando la célula está en actividad, el gasto de ATP genera ADP que estimula la actividad de la cadena.

Síntesis de ATP

La enzima que sintetiza ATP se conoce como **ATP sintasa**, **ATPasa dependiente de protones**, **ATPasa mitocondrial** o simplemente **ATPasa**. (EC 3.6.1.34). Actualmente, existe la tendencia a designarla como el **complejo 5**, como si fuera parte de la cadena respiratoria, pero dado que su función no es el transporte de equivalentes reductores, esta costumbre no es recomendable. La enzima está formada al menos por doce tipos de cadenas polipeptídicas, organizadas en dos complejos principales: **F_o**, que es un canal de protones que atraviesa la membrana mitocondrial interna, y **F₁**, el complejo catalítico. Estos complejos están unidos a través de un conjunto de péptidos que reciben el nombre de **Tallo** en el cual se encuentra el sitio de unión de la Oligomicina. El complejo F1 es visible en las imágenes de microscopía electrónica (**Figura 11**, a la izquierda) como esferas de 8.5 nm de diámetro, en la membrana mitocondrial interna del lado de la matriz, conocidas como **Partículas Elementales ó partículas de Fernández Morán**ⁱⁱⁱ.

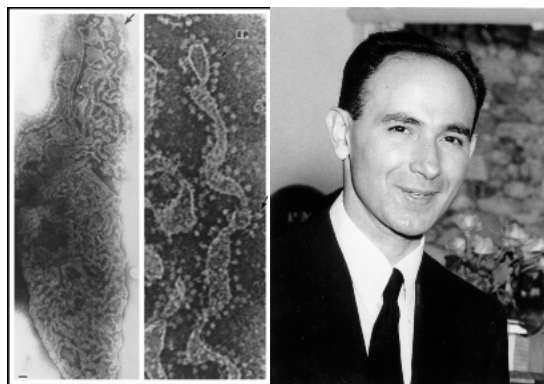


Figura 11. Izquierda fotografías de imágenes de Microscopio electrónico de la membrana mitocondrial interna, mostrando las partículas elementales. Derecha, Humberto Fernández Morán.

El complejo catalítico F1 tiene tres sitios de unión de nucleótidos en los cuales se sintetiza el ATP. Se ha propuesto que el paso de protones hace girar la unidad F1, provocando cambios de conformación en las subunidades y la síntesis de ATP. La síntesis se lleva a cabo en tres etapas, que se presentan en el esquema de la **Figura 12**.

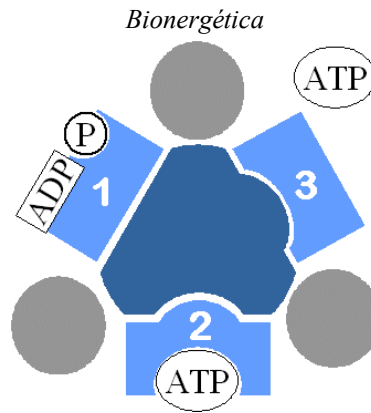


Figura 12. Esquema del mecanismo de tres etapas para la síntesis de ATP por ATPasa

En el primer paso, se unen ADP y Pi; a continuación, el paso de un protón, promueve el cambio de conformación, creando un ambiente hidrófobo en el sitio activo. El paso del segundo protón, permite la síntesis del enlace anhidro, sintetizando el ATP unido con alta afinidad al sitio activo. El paso de un tercer protón, cambia la conformación del sitio activo para que el ATP pueda liberarse y el sitio activo vuelve a la conformación que puede unir ADP y Pi, cerrando el ciclo. Actualmente se considera, que los tres sitios activos de F₁, pasan por estos tres estados en forma alterna durante una rotación completa de la subunidad F₁.

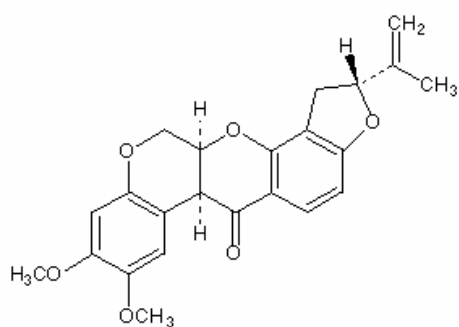
Se necesitan el retorno de **diez protones** y **diez cargas** positivas para lograr una rotación completa de la **ATPasa**, y durante esta se **sintetizan tres moléculas de ATP**. Además, se requiere un protón y una carga positiva, para que un fosfato y un ADP entren a la mitocondria intercambiándose por un ATP. De modo que son necesarios 4 protones y 4 cargas positivas por cada molécula de ATP que se libera al citoplasma. Por lo tanto, cada molécula de NADH que se oxida en la cadena respiratoria tiene un cociente P:O de 2.5, mientras que el P:O de FADH₂ es 1.5. A pesar de estos datos experimentales, para fines de balance energético, en los textos aún se acostumbra redondear estos valores a 3 y 2 respectivamente, y así lo hacemos en nuestro curso.

Substancias que alteran la Fosforilación Oxidativa

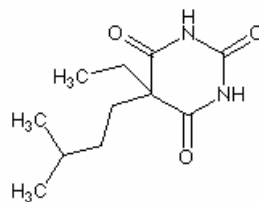
Existen cinco tipos de sustancias que alteran la fosforilación oxidativa, afectando alguno de los componentes que participan en el proceso.

Inhibidores de Cadena Respiratoria. Son moléculas que bloquean el transporte de electrones y detienen la respiración evitando el consumo de Oxígeno, aún después de la adición de un **agente desacoplante**. Todos ellos son específicos de su sitio de acción por lo que se usaron para determinar la secuencia de transportadores en la cadena respiratoria, los componentes que están antes del bloqueo, del lado de los substratos, quedan más reducidos, mientras que los que están después del bloqueo, del lado del Oxígeno, quedan más oxidados. Los cambios se pueden seguir mediante espectroscopia. Algunos de los inhibidores de cadena respiratoria mejor conocidos se presentan en la **Figura 13**.

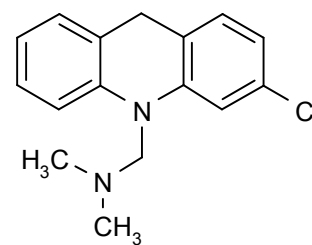
Inhibidores del Complejo 1



Rotenona

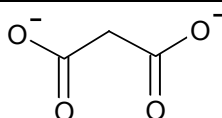


Amital



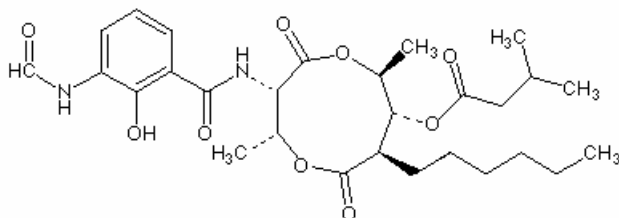
Clorpromacina

Inhibidores del Complejo 2

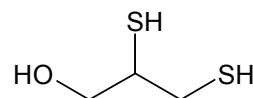


Malonato

Inhibidores del Complejo 3



Antimicina



Dimercaprol

Inhibidores del Complejo 4

CN⁻
Cianuro

CO
Monóxido de Carbono

SH₂
Sulfuro de Hidrógeno

Figura 13. Ejemplos de inhibidores de la Cadena Respiratoria

Inhibidores de la ATPasa. Estas sustancias detienen la síntesis de ATP y el consumo de Pi, y eventualmente la cadena respiratoria cuando la energía del gradiente de protones es demasiado grande. En presencia de agentes desacoplantes, los inhibidores de ATPasa no detienen la respiración. El inhibidor de ATPasa más utilizado es el antibiótico Oligomicina (Figura 14) que se une al tallo que une las subunidades F₀ y F₁ y evita la rotación de F₁, acoplada al paso de protones.

Agentes Desacoplantes. Los agentes desacoplantes rompen el acoplamiento entre la respiración y la síntesis de ATP, introduciendo los protones a la mitocondria por rutas distintas a la ATPasa, sin afectar ninguno de los dos procesos. En este caso la respiración continúa con mayor veloci-

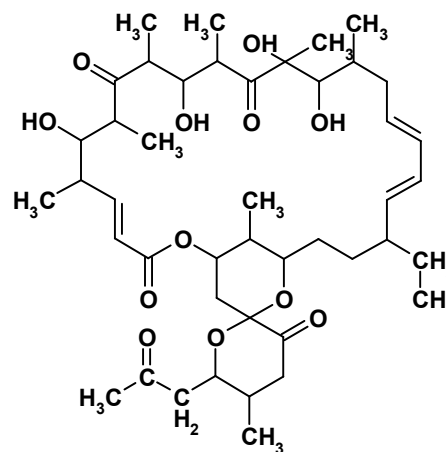


Figura 14. Oligomicina. Inhibidor de la síntesis de ATP

dad, sin que se sintetice de ATP. Algunos agentes desacoplantes se muestran en la **Figura 15**. De interés especial es el efecto desacoplante de la Tiroxina que es utilizado por algunos animales, para aumentar su temperatura al término de su periodo de hibernación.

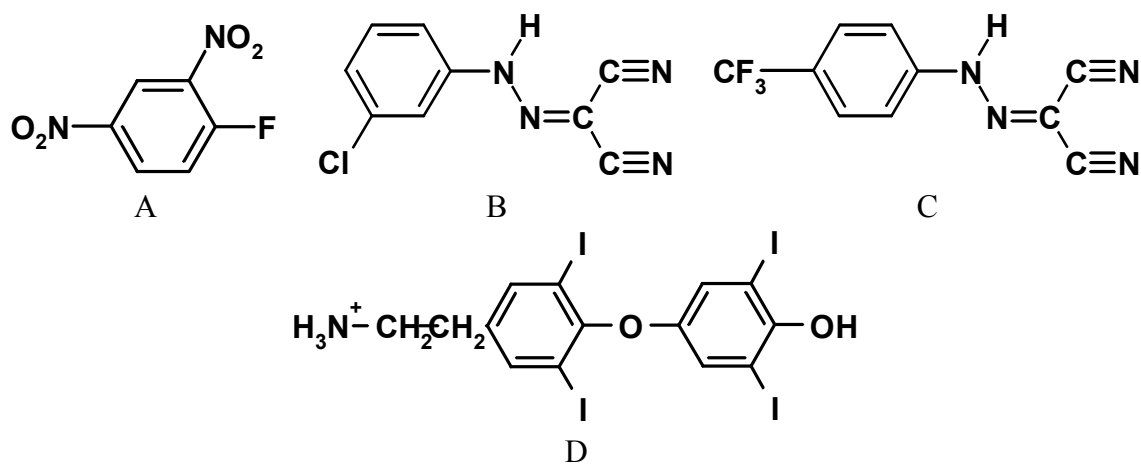
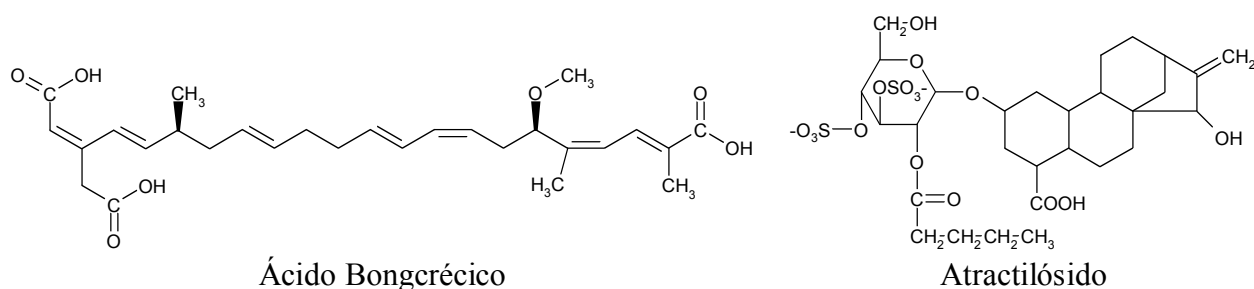


Figura 15. Agentes desacoplantes. (A) 2,4-dinitrofluorobenceno. (B) meta-cloro carbonilciano-fenilhidrazona (CCCP). (C) para-trifluorometoxi carbonilcianofenilhidrazona (FCCP). (D) Tiroxina.

Inhibidores de la Translocación de Nucleótidos. El ATP se sintetiza en la matriz mitocondrial y para que se pueda emplear en el metabolismo celular, debe salir de la mitocondria, intercambiándose con ADP y fosfato, esta translocación depende de una enzima que es inhibida por algunos venenos de origen vegetal, los más conocidos son el ácido Bongocrécico y el Atractilósido (**Figura 16**). Este tipo de sustancias no afecta la respiración pero detienen la síntesis de ATP porque se acumula el producto en la matriz mitocondrial.

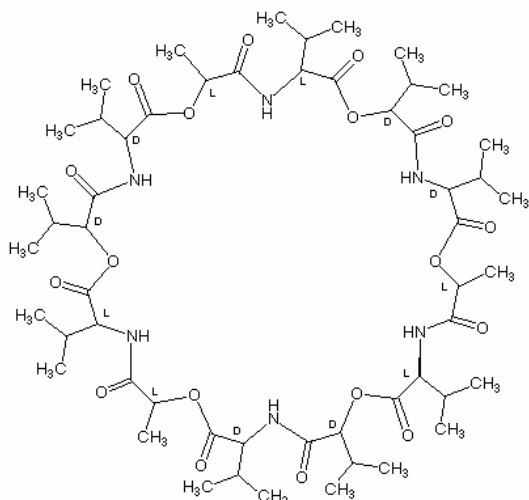


Ácido Bongocrécico

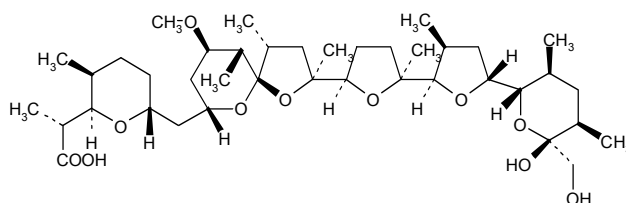
Atractilósido

Figura 16. Inhibidores de la Translocación de Nucleótidos

Ionóforos. Estos compuestos no afectan la cadena respiratoria ni la síntesis de ATP. Su mecanismo de acción consiste en transportar a través de la membrana, iones que normalmente no la atraviesan. La mayoría son antibióticos tóxicos como la **Valinomicina** y la **Nigericina** (**Figura 17**) y específicos del ión que transportan. La Valinomicina introduce cationes potasio (K⁺) a la matriz mitocondria, con lo cual se anula el componente eléctrico del gradiente de protones, y por lo tanto disminuye la eficiencia del acoplamiento. Por su parte, la Nigericina transporta iones Ca²⁺ y también afecta el componente eléctrico del potencial de protones.



Valinomicina



Nigericina

Figura 17. Estructura de algunos inonóforos representativos

NOTAS

ⁱ Muchos autores, influenciados por el nombre en inglés de estas enzimas, las llaman en español Kinasas o Quinasas, esta costumbre no es correcta porque el nombre inglés kinase, viene de la raíz griega *kinetos* ó movimiento, cuyo equivalente en español es *cinetos*, por eso estudiamos *cinética* química y en Fisiología la *cinestesia*, los cuerpos tienen energía *cinética* y vemos películas en el *cinematógrafo* o *cine*. Y el hecho de kinases sea el nombre el permitido por la IUPAC, en inglés, no quiere decir que no tenga un equivalente permitido en buen Español, igual que todas las otras categorías de enzimas.

ⁱⁱ El **potencial de oxidorreducción** (ϵ) es una medida de la afinidad de un compuesto por los electrones, en relación al Hidrógeno. Los compuestos con afinidad mayor que el Hidrógeno, son más oxidantes que él y tienen potencial de oxidorreducción positivo y los que tienen menos afinidad por los electrones que el Hidrógeno son más reductores y tienen ϵ con signo negativo. En una reacción de oxidorreducción, el compuesto con ϵ más negativo o menos positivo, es el reductor, donador de electrones, y el que tiene ϵ menos negativo o más positivo, es el oxidante o aceptor de electrones.

ⁱⁱⁱ Denominadas así en honor al Dr. Humberto Fernández-Morán Villalobos, biofísico de origen venezolano quien las describió por primera vez en 1964. El Dr. Fernández-Morán también contribuyó en forma destacada al desarrollo de la microscopía electrónica, en especial en las técnicas de criomicroscopía electrónica.