

TEMA 11.

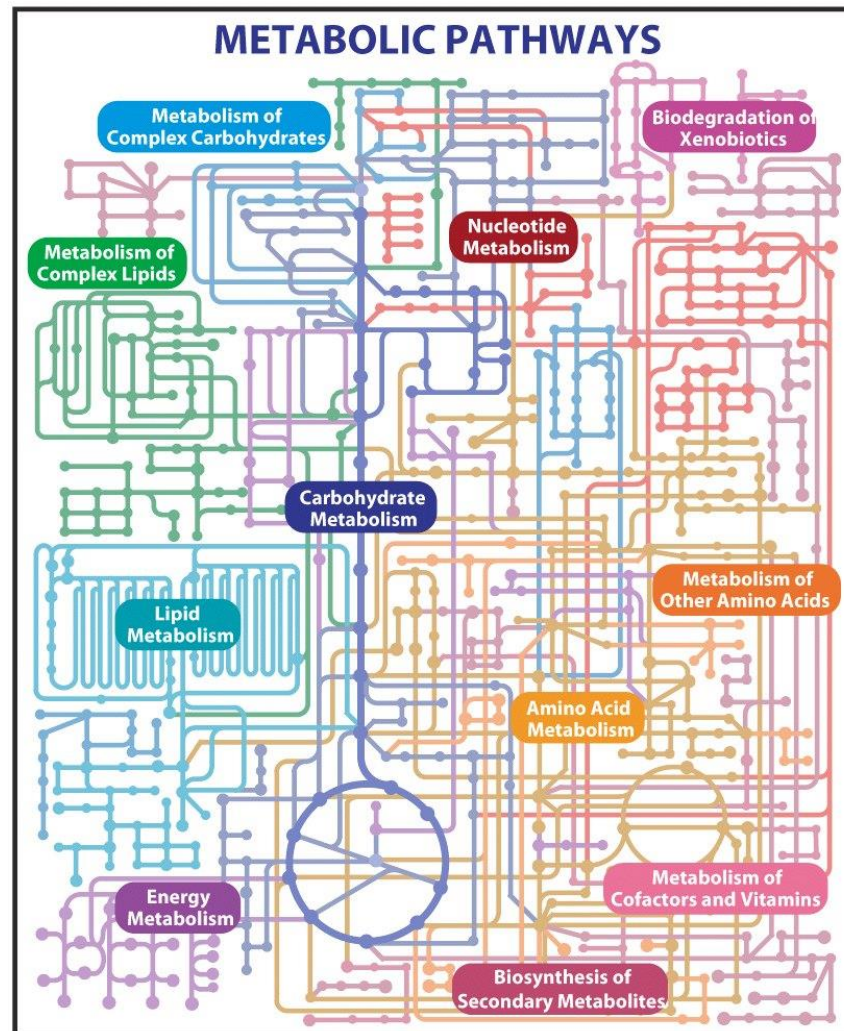
INTRODUCCIÓ AL

METABOLISME

1. Conceptes bàsics de metabolisme.
 - 1.1. Metabolisme: concepte y funcions.
 - 1.2. Catabolisme i anabolisme.
2. Principis termodinàmics aplicats als éssers vius.
3. L'ATP com a transmissor de l'energia química: potencial de transferència del grup fosfat.
4. Potencial reductor.

1. CONCEPTES BÀSICS DE METABOLISME

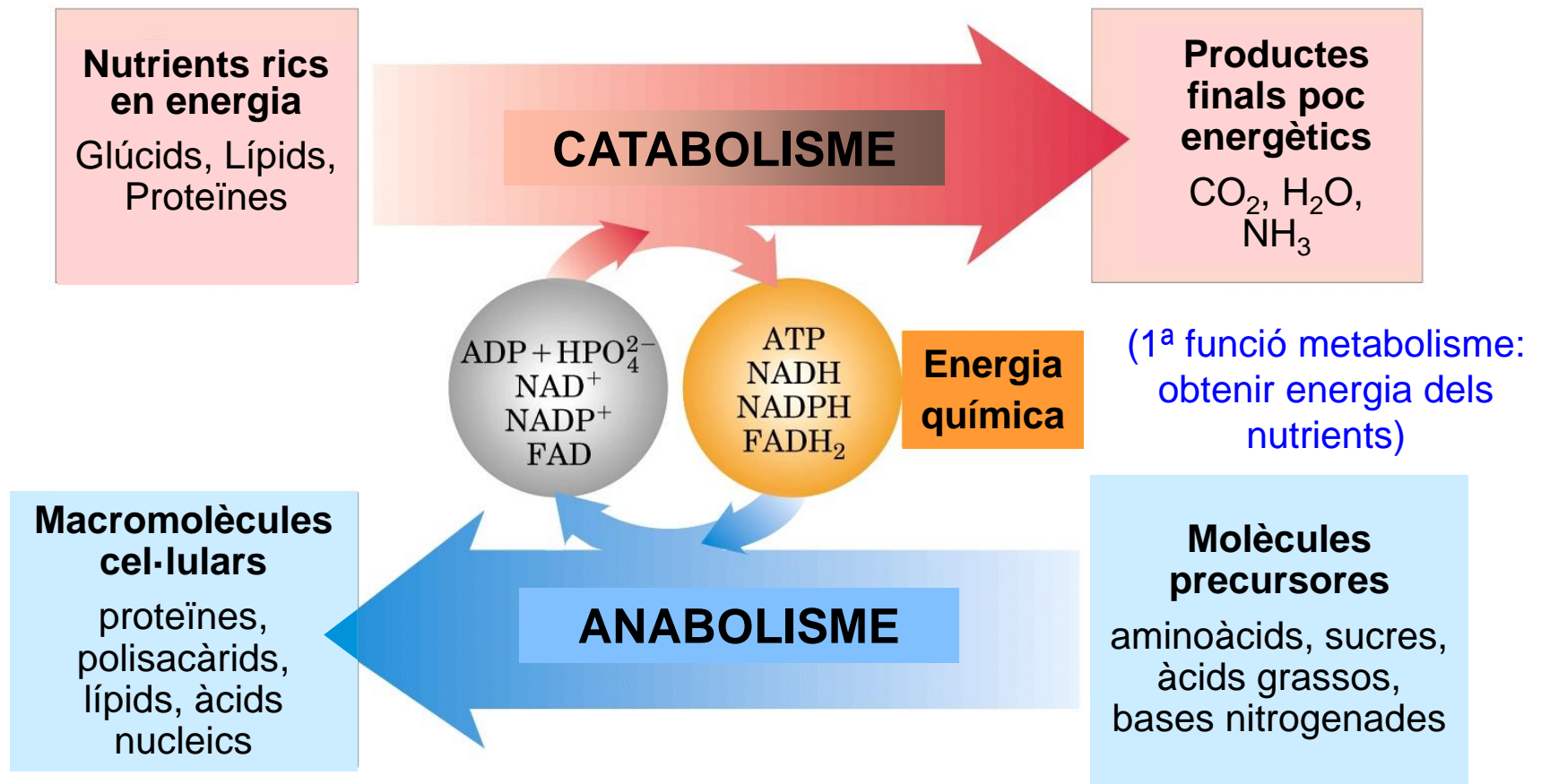
Metabolisme: conjunt de les reaccions químiques, catalitzades enzimàticament, que tenen lloc en els éssers vius. Organitzades en forma de vies metabòliques.



El metabolisme compleix 4 **funcions** principals:

- 1) Obtenir energia química a partir de la captura d'energia solar o degradant nutrients rics en energia obtinguts de l'ambient;
- 2) Convertir els nutrients en molècules característiques de la mateixa cèl·lula, inclosos els precursors de les macromolècules;
- 3) Polimeritzar precursors monomèrics a proteïnes, àcids nucleics, lípids, polisacàrids i altres components cel·lulars;
- 4) Sintetitzar i degradar biomolècules requerides en funcions cel·lulars especialitzades.

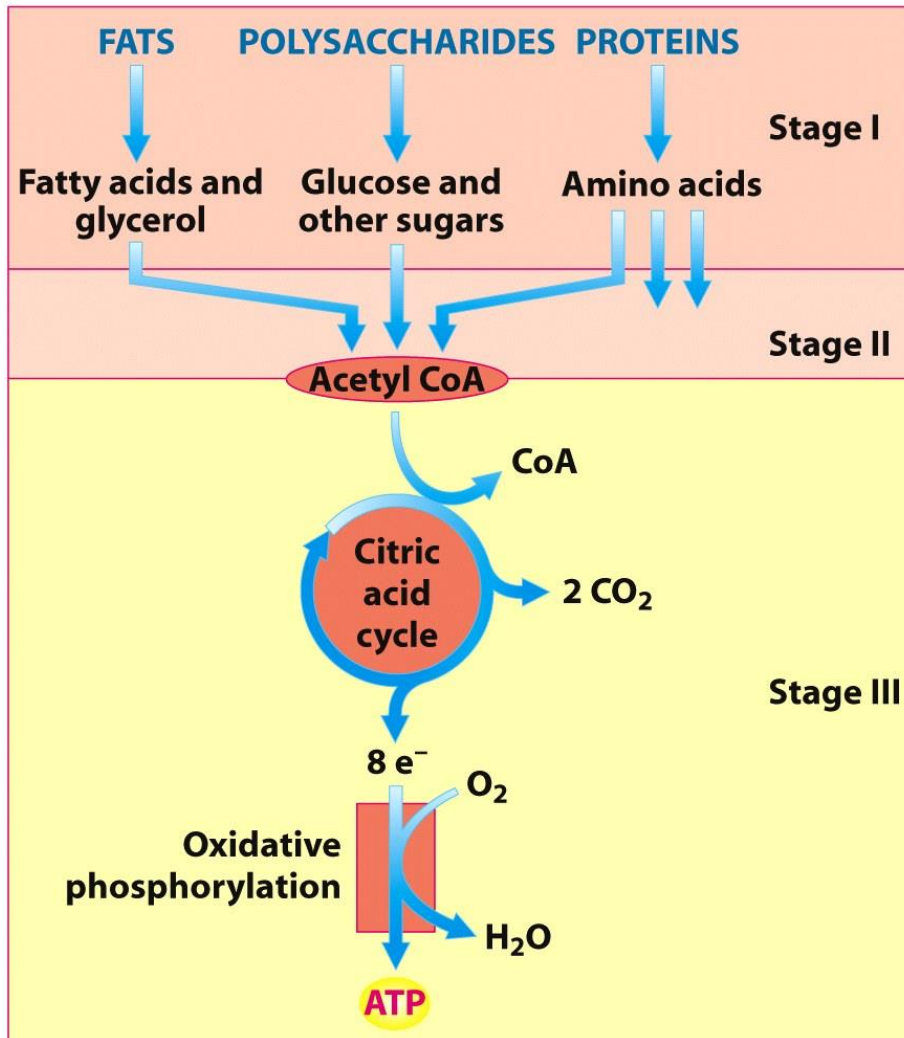
Les vies que componen el metabolisme es poden classificar en dues categories: aquelles que participen en la degradació de molècules orgàniques complexes (**catabolisme**) i les que intervenen en la biosíntesis de molècules (**anabolisme**).



CATABOLISME: molècules orgàniques complexes (nutrients), riques en energia (alta entalpia) i baixes en entropia (glúcids, greixos i proteïnes), es degraden exergònicament en productes més petits i senzills, poc energètics (baixa entalpia) i de major entropia (ej. CO₂, H₂O, NH₃).

Les vies catabòliques, per tant, **alliberen energia lliure**, part de la qual es conserva en la formació d'ATP i potencial reductor (NADH, NADPH, FADH₂) (**energia química**).

L'ENERGIA DELS ALIMENTS S'EXTRAU EN 3 ETAPES

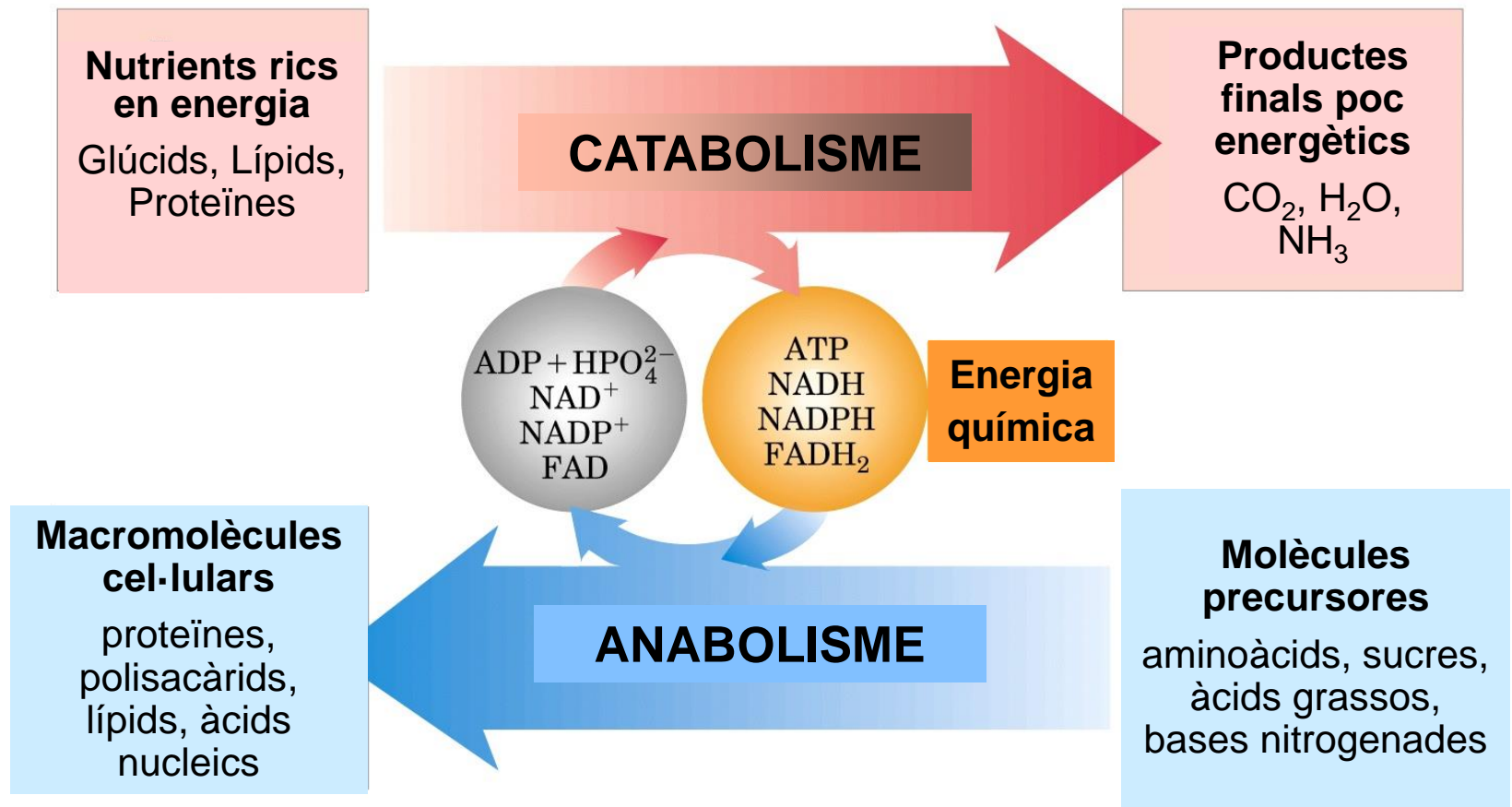


1. **Digestió:** les grans molècules dels aliments (greixos, polisacàrids, proteïnes) es fragmenten fins a unitats més xicotetes (àcids grassos i glicerol, glucosa i altres sucres, aminoàcids). Els productes d'aquesta degradació són absorbits en l'intestí i distribuïts a totes les cèl·lules. En esta etapa no s'hi genera ATP.

2. Les molècules procedents de l'etapa anterior es degraden (oxiden) parcialment fins a esdevenir molècules més simples que exerceixen un paper central en el metabolisme (fonamentalment acetil-CoA). En aquesta etapa s'hi genera una mica d'ATP, però la quantitat és xicoteta.

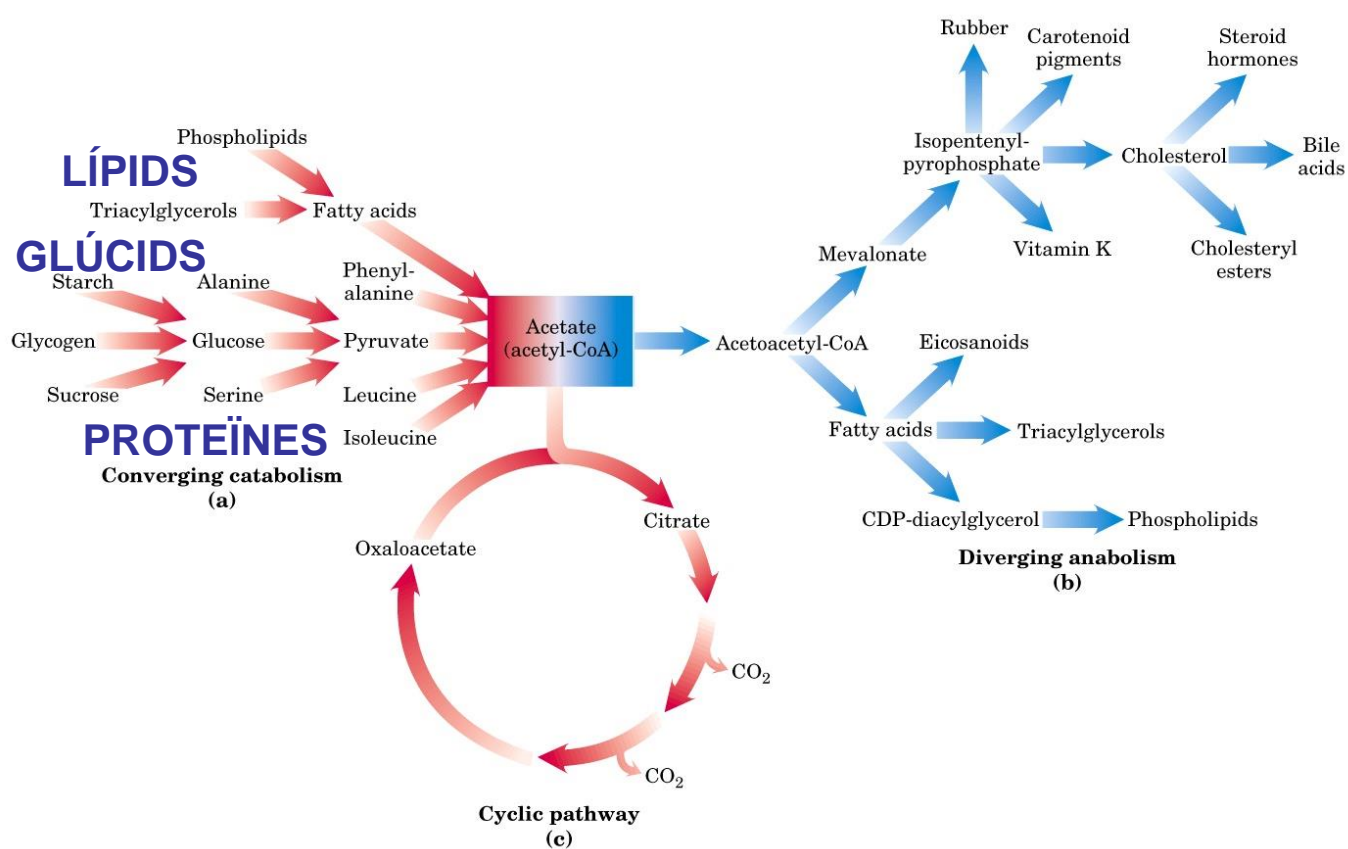
3. Es produeix energia (ATP) a partir de l'oxidació completa dels àtoms de carboni de l'acetil-CoA fins a CO₂ en el cycle de Krebs i la transferència d'electrons a l'oxigen.

Figure 15.12
Biochemistry, Seventh Edition
© 2012 W. H. Freeman and Company



ANABOLISME: molècules precursors petites i senzilles (aminoàcids, sucres, àcids grassos, bases nitrogenades) s'integren en molècules molt majors i complexes (macromolècules), com són les proteïnes, lípids, polisacàrids i àcids nucleics.

Les vies anabòliques requereixen aportació d'energia lliure, que obtenen a partir de la hidròlisi de l'ATP i el poder reductor del NADH, NADPH o FADH₂.



- Les vies catabòliques son generalment convergentes: un gran nombre de substàncies diferents (glúcids, lípids i proteïnes) es transformen en uns pocs intermediaris comuns (ex. acetil CoA).
- Les vies anabòliques son generalment divergents: un nombre reduït d'intermediaris serveixen de material de partida per a la biosíntesi d'una gran varietat de productes.
- Vies cícliques (ex. cicle de Krebs, cicle de la urea). Vies anfibòliques (anabòliques i catabòliques) (ex. cicle de Krebs, via pentoses fosfat).

2. PRINCIPIS TERMODINÀMICS APLICATS ALS ÉSSERS VIUS

Totes les reaccions químiques que formen part del metabolisme posseeixen una constant d'equilibri i una variació d'energia lliure.

VARIACIÓ D'ENERGIA LLIURE I CONSTANT D'EQUILIBRI

La tendència d'una reacció química a arribar al seu final pot expressar-se en forma d'una **constant d'equilibri** (K_{eq}):



a, b, c, d = n° de molècules de A, B, C, D, respectivament

$$K_{eq} = \frac{[C]_{eq}^c [D]_{eq}^d}{[A]_{eq}^a [B]_{eq}^b}$$

$[C]_{eq}$, $[D]_{eq}$, $[A]_{eq}$ i $[B]_{eq}$ són les concentracions de C, D, A i B, respectivament, *quan el sistema ha arribat a l'equilibri* ($V_{directa} = V_{inversa}$)

La variació d'energia lliure estàndard d'una reacció (ΔG°) és una forma (alternativa a la constant d'equilibri) d'expressar la direcció d'una reacció.

$$\Delta G^{\circ'} = - R T \ln K'_{eq}$$

$$R = 8,315 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$$

ΔG° és constant i
característica de cada reacció

Condicions estàndard (ΔG°):

$$T = 298^\circ\text{K} (25^\circ\text{C})$$

$$P = 1 \text{ atm}$$

$$[X] = 1 \text{ M} \text{ ó } \text{pH} = 0$$

Condicions estàndard bioquímiques ($\Delta G^{\circ'}$):

$$[\text{H}^+] = 10^{-7} \text{ M} \text{ ó } \text{pH} = 7$$

$$[\text{H}_2\text{O}] = 55,5 \text{ M} = \text{cte.}$$

Relació entre les constants d'equilibri de les reaccions químiques i les seues variacions d'energia lliure estàndard

	K'_{eq}	$\Delta G'^{\circ}$ (kJ/mol)	
	10^{-6}	34.2	
	10^{-5}	28.5	
	10^{-4}	22.8	
[S] >> [P]	10^{-3}	17.1	
	10^{-2}	11.4	
	10^{-1}	5.7	
[S] = [P]	1	0.0	
	10^1	-5.7	
	10^2	-11.4	
[S] << [P]	10^3	-17.1	

$$\Delta G'^{\circ} = - R T \ln K'_{eq}$$

Totes les reaccions químiques tendeixen a anar **en el sentit que dóna lloc a la disminució d'energia lliure** del sistema
($G_{productes} < G_{reactius}$)

$K'_{eq} = 1$		$\Delta G'^{\circ} = 0$	Reacció en <u>equilibri</u> ($G_{productes} = G_{reactius}$)
$K'_{eq} > 1$		$\Delta G'^{\circ} < 0$	Reacció <u>exergònica</u> ($G_{productes} < G_{reactius}$)
$K'_{eq} < 1$		$\Delta G'^{\circ} > 0$	Reacció <u>endergònica</u> ($G_{productes} > G_{reactius}$)

VARIACIÓ D'ENERGIA LLIURE REAL DE LES REACCIONS QUÍMIQUES

Depèn de la variació d'energia lliure estàndard i de les concentracions reals (inicials) de reactius i productes ($[X] \neq 1 \text{ M}$).

$$\Delta G' = \Delta G^{\circ'} + RT \ln \frac{[C]_i^c [D]_i^d}{[A]_i^a [B]_i^b}$$

Cnt. Depèn de $[X]_i$

- ▣ Si $\Delta G' < 0$, la reacció és EXERGÒNICA;
- ▣ Si $\Delta G' > 0$, la reacció és ENDERGÒNICA;
- ▣ Si $\Delta G' = 0$, la reacció està en equilibri.

Reaccions endergòniques en condicions estàndard ($\Delta G^{\circ'} > 0$) poden ser exergòniques en condicions reals ($\Delta G' < 0$) i viceversa.

Reaccions reversibles e irreversibles en condicions estàndard o en condicions reals

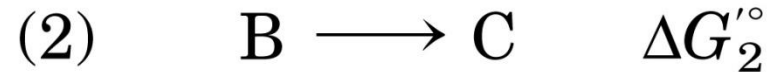
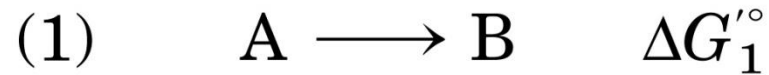
$$\text{Si } [A][B] \gg [C][D] \longrightarrow \frac{[C][D]}{[A][B]} < 1 \longrightarrow \ln \frac{[C][D]}{[A][B]} < 0$$

$$\text{Si } [C][D] \gg [A][B] \longrightarrow \frac{[C][D]}{[A][B]} > 1 \longrightarrow \ln \frac{[C][D]}{[A][B]} > 0$$

$$\Delta G' = \Delta G^{\circ'} + RT \ln \frac{[C]_i^c [D]_i^d}{[A]_i^a [B]_i^b}$$

-	-	-	Exergònica
+	+	+	Endergònica
?	+	-	?
?	-	+	?

ADDITIVITAT DE LAS VARIACIONES D'ENERGÍA LLIURE



Exemple:

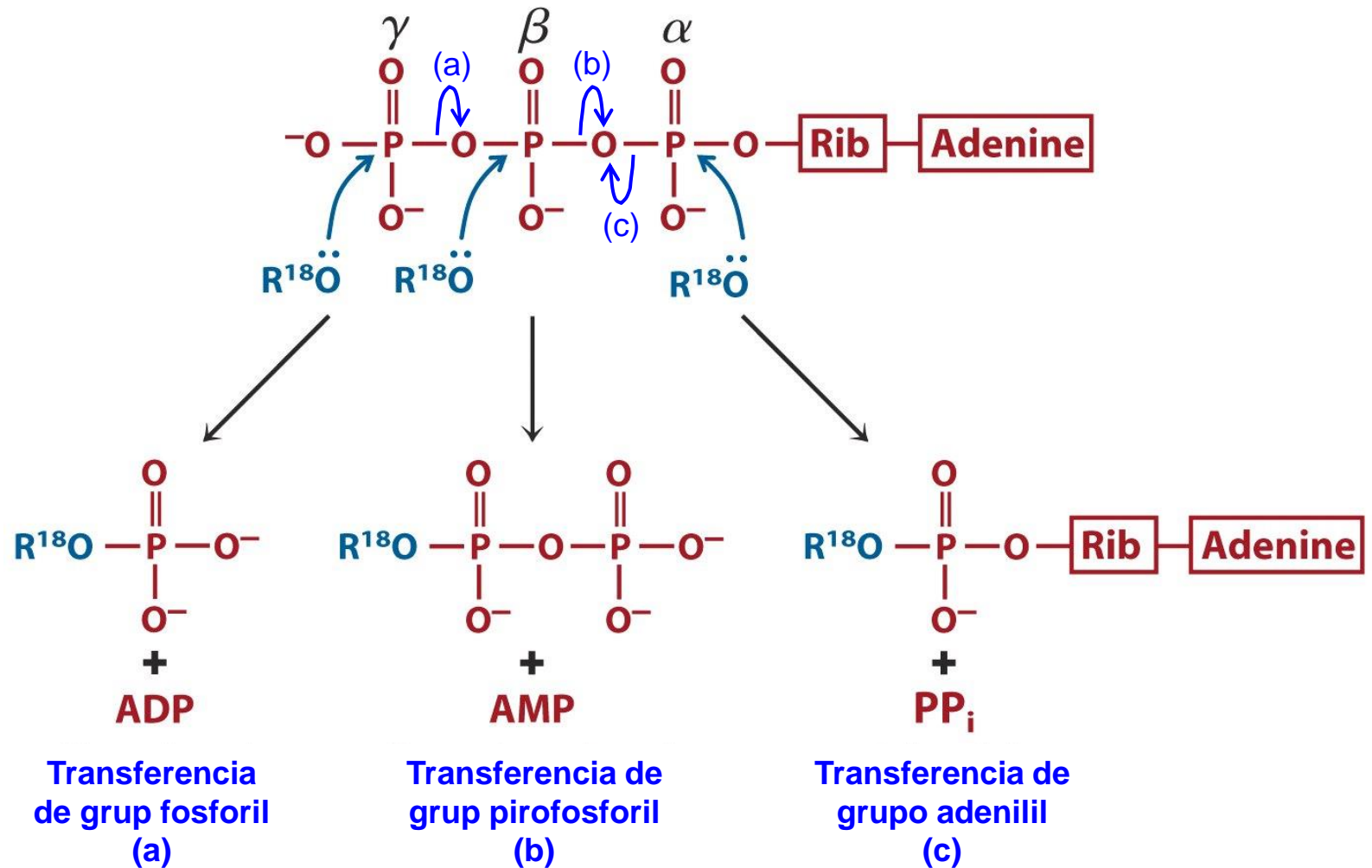


Es poden acoblar reaccions endergòniques i exergòniques amb intermediaris comuns: una reacció exergònica pot impulsar termodinàmicament una reacció endergònica.

3. L'ATP COM A TRANSMISSOR DE L'ENERGIA QUÍMICA: POTENCIAL DE TRANSFERÈNCIA DEL GRUP FOSFAT

- ✚ L'ATP juga un paper central en la conjunció entre el catabolisme i l'anabolisme. Es sintetitza a partir de l'energia lliure alliberada durant la degradació dels nutrients (catabolisme) i s'utilitza per realitzar treball químic (processos biosintètics - anabolisme), treball osmòtic (ex. transport a través de membranes) o treball mecànic (ex. contracció muscular).
- ✚ La ccessió de l'energia a partir de l'ATP implica la hidròlisi de l'ATP fins a ADP y P_i, o fins AMP i PP_i.
- ✚ La hidròlisi de l'ATP cursa amb una variació d'energia lliure gran i negativa (és molt exergònica) ($\Delta G^{\circ} = - 30,5 \text{ kJ/mol}$). No obstant això, l'ATP és cinèticament estable enfront de la hidròlisi no enzimàtica a causa que l'energia d'activació de la reacció és relativament alta: només ocorre mitjançant catàlisi enzimàtica.

Posicions en la molècula de l'ATP susceptibles d'atac nucleofílic

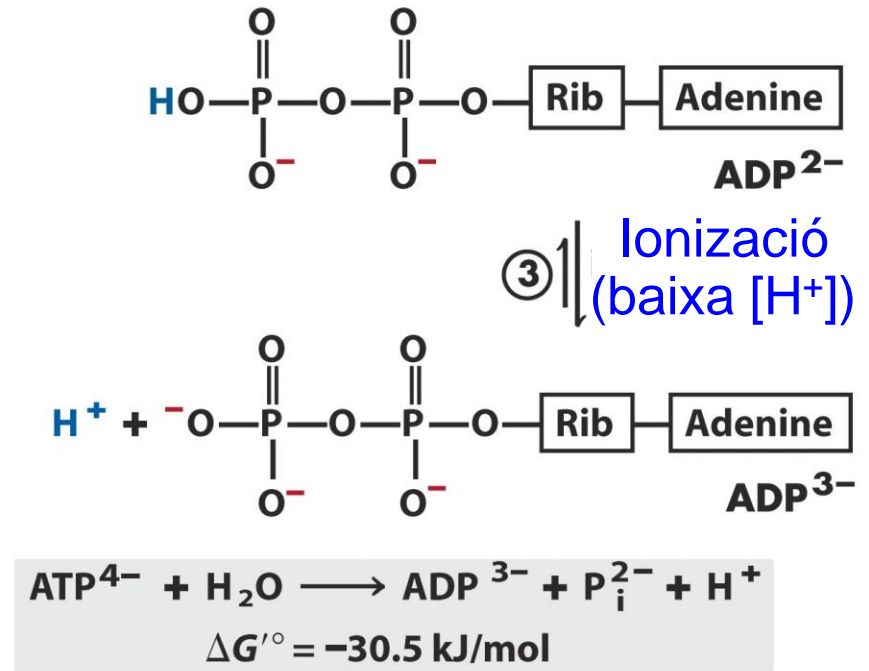
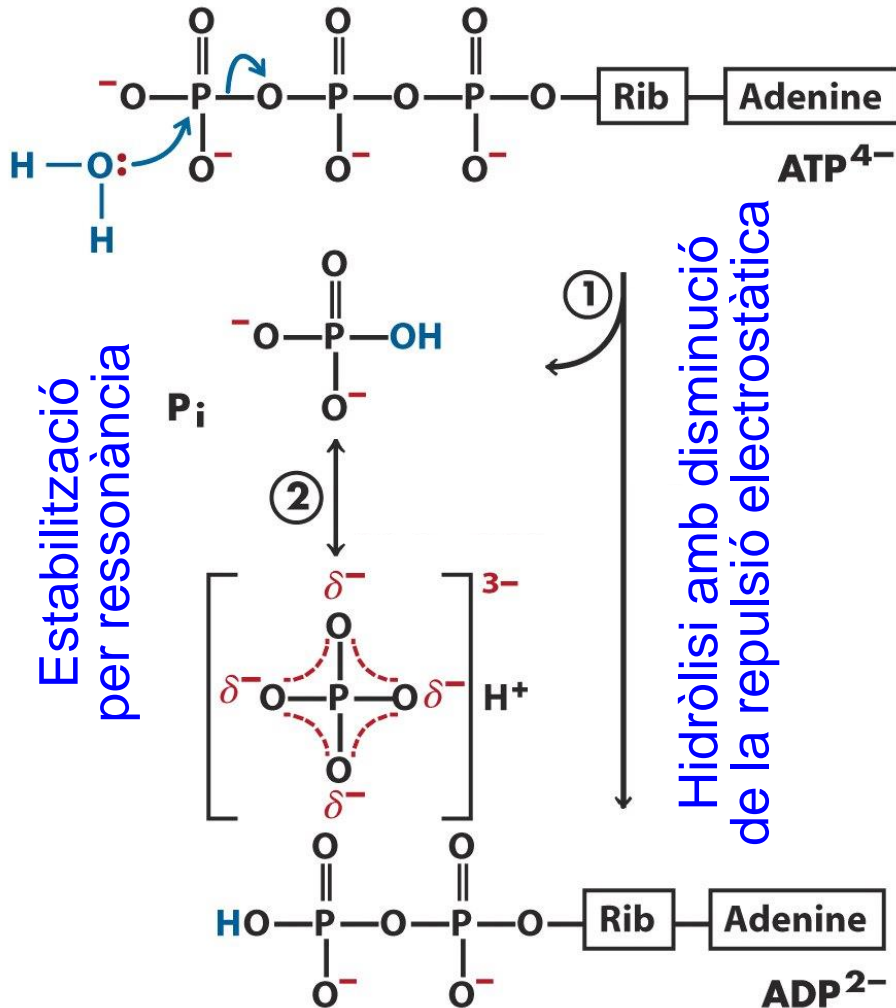


Ex. Hidròlisi de l'ATP
fins ADP y P_i

Ex. Hidròlisi de l'ATP
fins AMP y PP_i

Ex. Acil gras-CoA sintetasa
Acid gras + ATP \longrightarrow
Acil gras-AMP + PP_i

Per què és tan exergònica la hidròlisi de l'ATP?



L'enllaç hidrolitzat no té una energia d'enllaç major que la resta: la hidròlisi de l'ATP és exergònica perquè els productes (ADP i Pi) són molt més estables que els reactius (ATP)

En condicions bioquímiques (considerant les concentracions reals d'ATP, ADP i P_i), la variació d'energia lliure d'hidròlisi de l'ATP és més negativa que en condicions estàndard: -45 a -60 kJ/mol.

TABLE 13-5

Adenine Nucleotide, Inorganic Phosphate, and Phosphocreatine Concentrations in Some Cells

	Concentration (mM)*				
	ATP	ADP [†]	AMP	P _i	PCr
Rat hepatocyte	3.38	1.32	0.29	4.8	0
Rat myocyte	8.05	0.93	0.04	8.05	28
Rat neuron	2.59	0.73	0.06	2.72	4.7
Human erythrocyte	2.25	0.25	0.02	1.65	0
<i>E. coli</i> cell	7.90	1.04	0.82	7.9	0

*For erythrocytes the concentrations are those of the cytosol (human erythrocytes lack a nucleus and mitochondria). In the other types of cells the data are for the entire cell contents, although the cytosol and the mitochondria have very different concentrations of ADP. PCr is phosphocreatine, discussed on p. 526.

[†]This value reflects total concentration; the true value for free ADP may be much lower (p. 519).

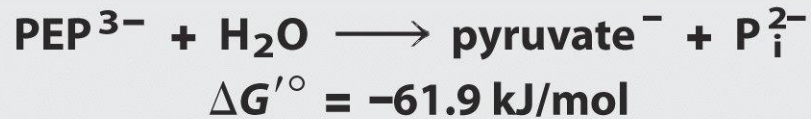
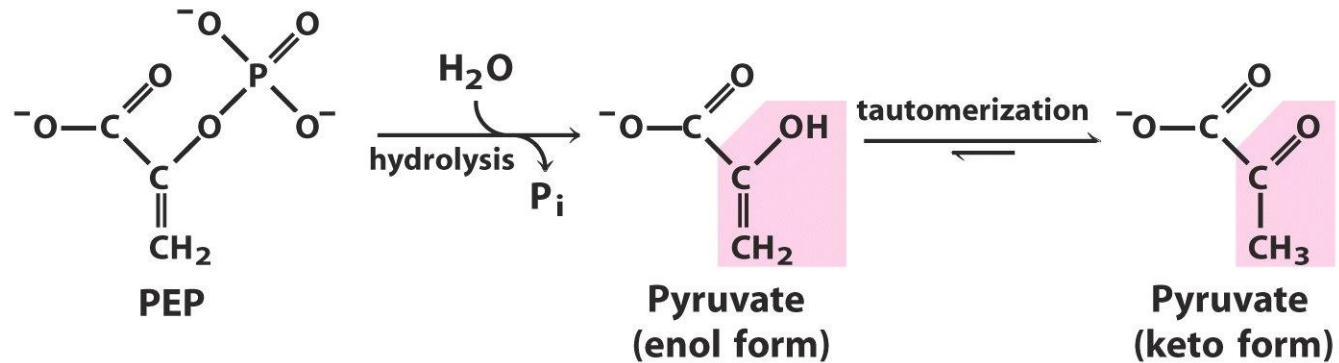
Table 13-5
Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

La variació d'energia lliure en la hidròlisi d'un compost fosforilat (ex. ATP) es denomina potencial de fosforilació o potencial de transferència del grup fosfat (ΔG_p): a més negativa l' ΔG d'hidròlisi, major és el potencial de fosforilació.

Altres compostos fosforilats i tioesters també tenen variacions d'energia lliure d'hidròlisi grans i negatives: els productes d'hidròlisi tenen un contingut global d'energia lliure menor que els reactius (són més estables).

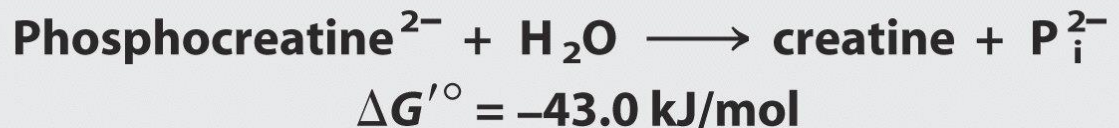
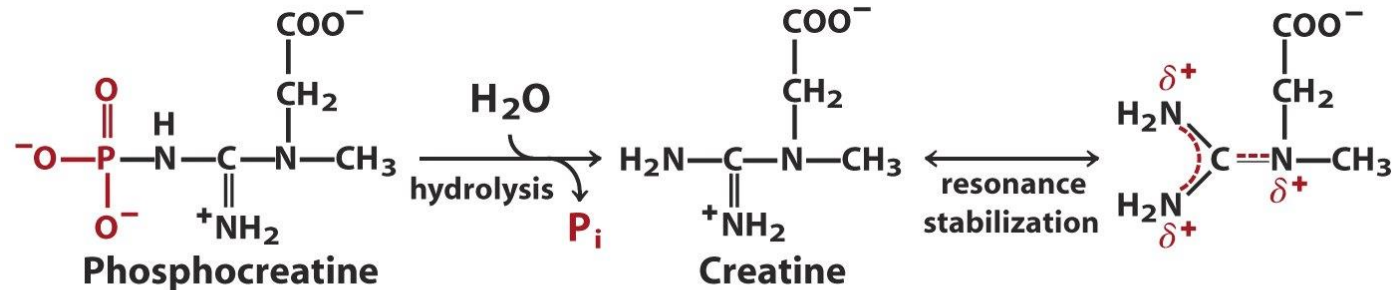
Fosfoenol-
piruvat (PEP)

(Intermediari
glicòlisi)



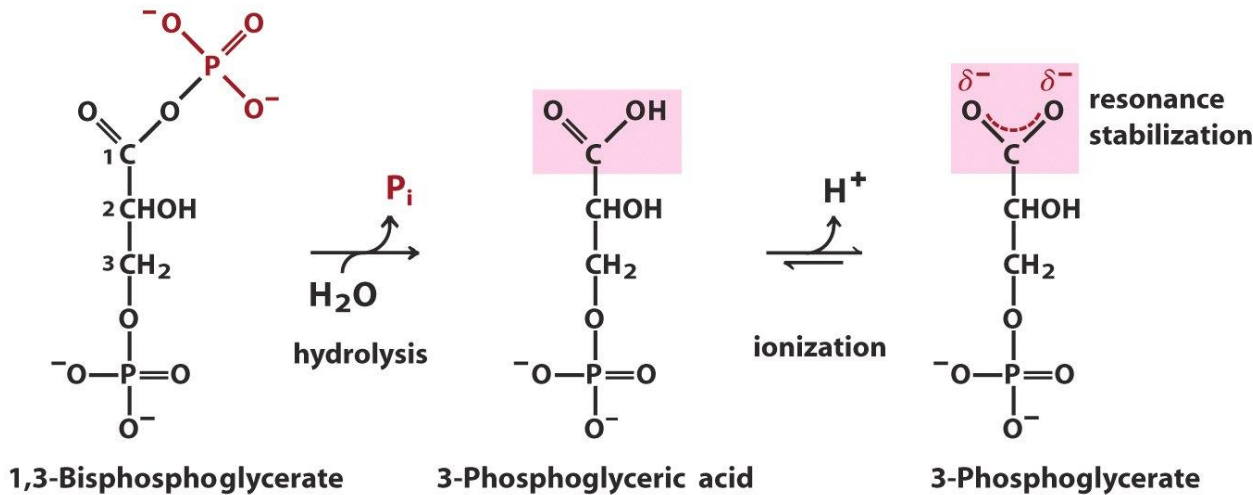
Creatina-
fosfat

(Reserva energètica
múscul)



1,3-bisfosfoglicerat (1.3-BPG)

(Intermediari glicòlisi)



En resum, en les reaccions d'hidròlisi amb variacions d'energia lliure estàndard grans i negatives els productes són més estables que els reactius a causa d'una o diverses de les raons següents :

- 1) la tensió d'enllaç en els reactius a causa de la repulsió electrostàtica queda alliberada per la separació de càrrega, com succeeix en l'ATP;
- 2) els productes estan estabilitzats per ionització, com en el cas de l'ATP, acil fosfats i tioèsters;
- 3) els productes estan estabilitzats per isomerització (tautomerització), com succeeix amb el PEP;
- 4) els productes estan estabilitzats per ressonància, com la creatina alliberada a partir de la fosfocreatina, l'ió carboxilat alliberat dels acil fosfats i tioèsters i el fosfat alliberat d'enllaços anhídrid o èster.

Acetil-CoA

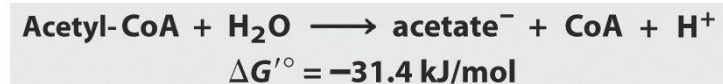
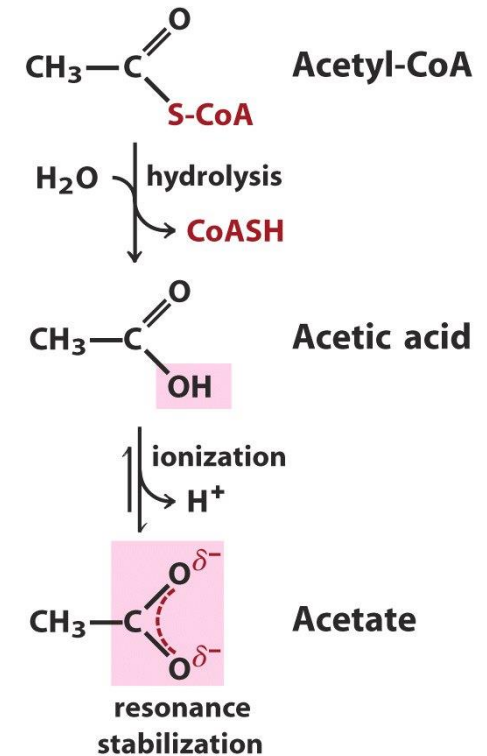


TABLE 13-6**Standard Free Energies of Hydrolysis of Some Phosphorylated Compounds and Acetyl-CoA (a Thioester)**

	$\Delta G'^{\circ}$	
	(kJ/mol)	(kcal/mol)
Phosphoenolpyruvate	-61.9	-14.8
1,3-Bisphosphoglycerate (\rightarrow 3-phosphoglycerate + P_i)	-49.3	-11.8
Phosphocreatine	-43.0	-10.3
ADP (\rightarrow AMP + P_i)	-32.8	-7.8
ATP (\rightarrow ADP + P_i)	-30.5	-7.3
ATP (\rightarrow AMP + PP_i)	-45.6	-10.9
AMP (\rightarrow adenosine + P_i)	-14.2	-3.4
PP_i (\rightarrow 2 P_i)	-19.2	-4.0
Glucose 3-phosphate	-20.9	-5.0
Fructose 6-phosphate	-15.9	-3.8
Glucose 6-phosphate	-13.8	-3.3
Glycerol 3-phosphate	-9.2	-2.2
Acetyl-CoA	-31.4	-7.5

Source: Data mostly from Jencks, W.P. (1976) in *Handbook of Biochemistry and Molecular Biology*, 3rd edn (Fasman, G.D., ed.), *Physical and Chemical Data*, Vol. 1, pp. 296-304, CRC Press, Boca Raton, FL. The value for the free energy of hydrolysis of PP_i is from Frey, P.A. & Arabshahi, A. (1995) Standard free-energy change for the hydrolysis of the α - β -phosphoanhydride bridge in ATP. *Biochemistry* 34, 11,307-11,310.

Table 13-6

Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition

© 2013 W. H. Freeman and Company

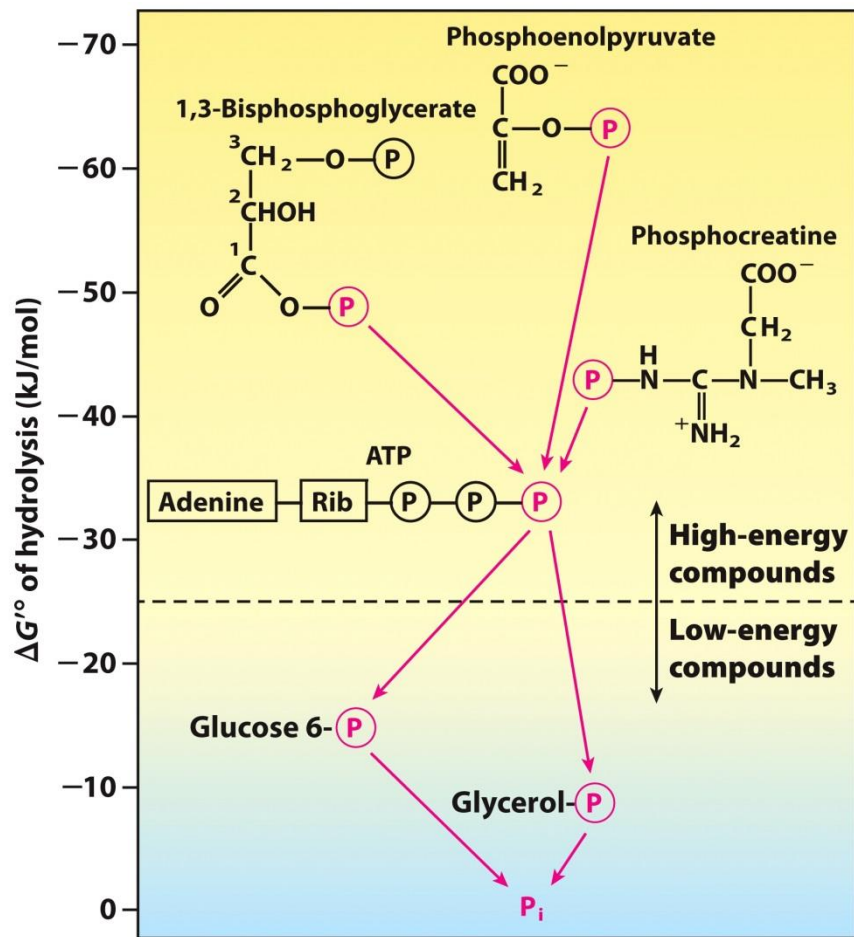



Figure 13-19
 Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
 © 2013 W. H. Freeman and Company

Compostos d'alta energia = compostos d'alt potencial de transferència del grup fosfat (X)

Composts de baixa energia = composts de baix potencial de transferència del grup fosfat (Y)

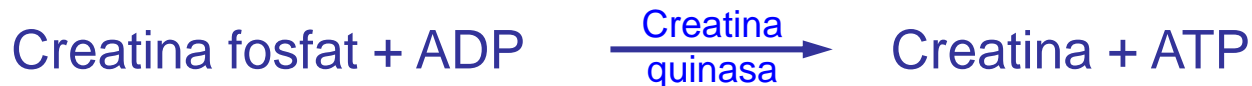
ATP: nexe energètic entre donadors de fosfat d'alta energia (alt potencial de fosforilació) i acceptors de fosfat de baixa energia (baix potencial de fosforilació).



La hidròlisi de l'ATP és molt exergònica, per la qual cosa la seua síntesi serà molt endergònica  la síntesi d'ATP requereix aportació d'energia lliure.

Síntesi d'ATP

- a) Fosforilació oxidativa: síntesi d'ATP acoblada a l'oxidació d'un substrat i la transferència d'electrons a l'oxigen (molt exergònica);
- b) Fosforilació a nivell de substrat: síntesi d'ATP acoblada a la hidròlisi d'un altre compost fosforilat amb potencial de fosforilació més gran que l'ATP (que transfereix el seu grup fosfat a l'ADP).



Els enzims que catalitzen la transferència de grups fosfat es denominen quinases

(a) Fosforilació d'un substrat (glucosa) per l'ATP G' (kJ·mol⁻¹)

Endergonic half-reaction 1	$P_i + \text{glucose}$	$\rightleftharpoons \text{glucose-6-P} + \text{H}_2\text{O}$	+13.8
Exergonic half-reaction 2	$\text{ATP} + \text{H}_2\text{O}$	$\rightleftharpoons \text{ADP} + P_i$	-30.5
Overall coupled reaction	$\text{ATP} + \text{glucose}$	$\rightleftharpoons \text{ADP} + \text{glucose-6-P}$	-16.7

(b) Fosforilació a nivell de substrat G' (kJ·mol⁻¹)

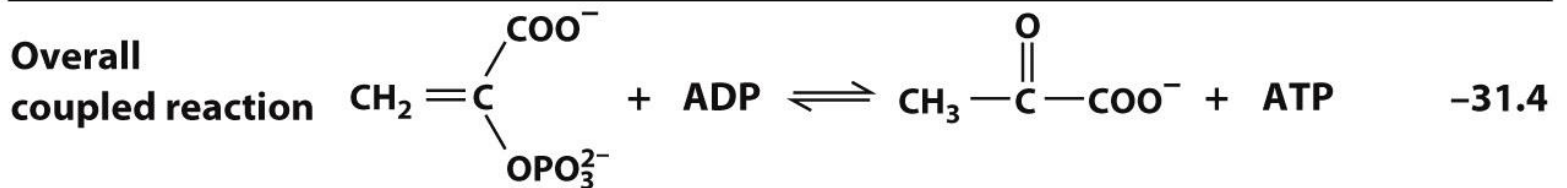
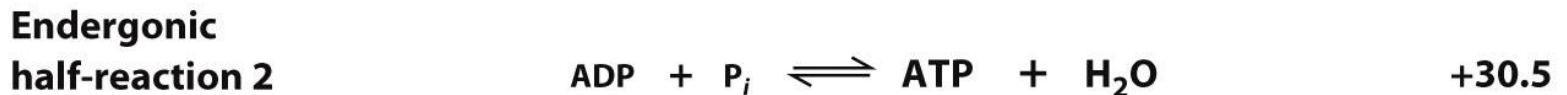
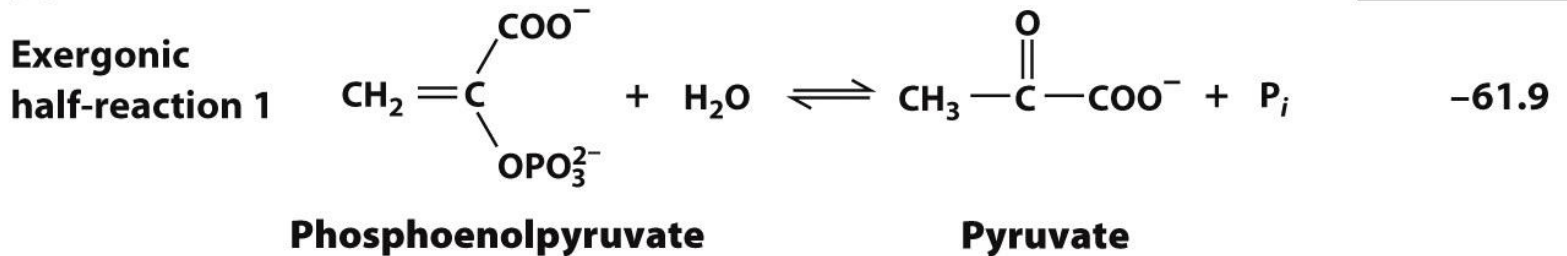


Figure 16-23

- En algunes reaccions en les quals intervé l'ATP, s'alliberen dos dels seus grups fosfat i s'hi produeix AMP i PP_i . En aquests casos, la regeneració de l'ATP requereix l'acció de 2 enzims addicionals:



- En condicions d'elevat consum d'ATP (ex. contracció muscular), la reacció de la adenilat quinasa produeix AMP a partir de ADP. La **càrrega energètica cel·lular** reflecteix les concentracions d'ATP, ADP i AMP, expressada en forma de relació [ATP]/[ADP] o [ATP]/[AMP].
- Es poden transferir grups fosfat entre l'ATP i altres nucleòtids, gràcies a la **nucleòsid difosfat quinasa** (present en totes les cèl·lules).



L'ATP és un transmissor d'energia química, però NO pot emmagatzemar-se en grans quantitats. Per açò, les vies catabòliques s'inhibeixen en condicions d'alta càrrega energètica i viceversa.

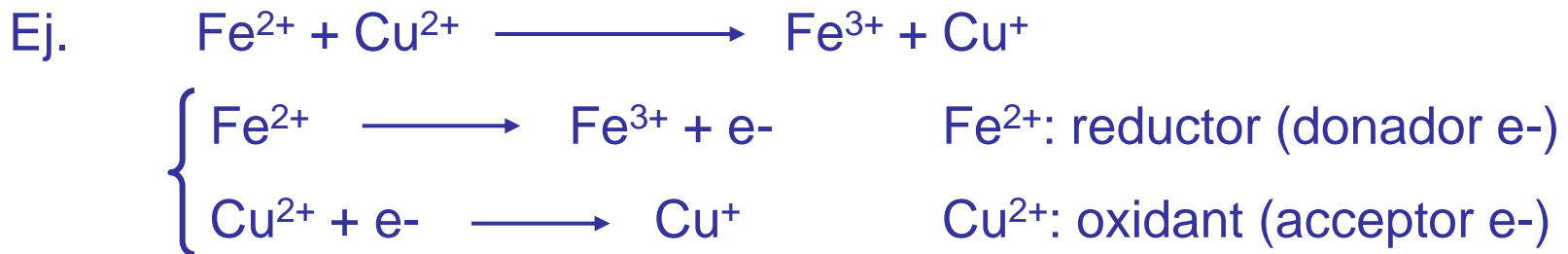
L'energia no s'emmagatzema en forma d'ATP sinó en forma de triacilglicerols (llarg termini), glucogen (curt termini) o creatina fosfat (reservori energètic limitat però de disponibilitat quasi immediata).

3. POTENCIAL REDUCTOR

Les reaccions redox són de gran importància en bioquímica ja que l'oxidació dels nutrients constitueix la major font d'energia lliure dels éssers vius.

Reaccions redox (oxidació-reducció): una molècula s'oxida (perd electrons) i una altra es redueix (guanya electrons). La primera d'elles és el reductor (donador d'electrons); la segona és l'oxidant (acceptor d'electrons).

Les reaccions d'oxidació-reducció es poden descriure en forma de dues semireaccions:



Estats d'oxidació del carboni

$\text{—CH}_2\text{—CH}_3$	Alcano	Methane	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}:\text{C}:\text{H} \\ \\ \text{H} \end{array}$	8	Acetaldehyde (aldehyde)	$\begin{array}{c} \text{H} & & \text{H} \\ & & \\ \text{H}:\text{C}:\text{C} & & \text{O} \\ & & // \\ \text{H} & & \text{O} \end{array}$	3
$\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{OH}$	Alcohol	Ethane (alkane)	$\begin{array}{c} \text{H} & \text{H} \\ & \\ \text{H}:\text{C}:\text{C}:\text{H} \\ & \\ \text{H} & \text{H} \end{array}$	7	Acetone (ketone)	$\begin{array}{c} & \text{O} & \\ & // & \\ \text{H}:\text{C}:\text{C}:\text{C}:\text{H} \\ & & \\ \text{H} & & \text{H} \end{array}$	2
$\text{—CH}_2\text{—C} \begin{array}{l} \text{=O} \\ \text{H} \end{array}$	Aldehído	Ethene (alkene)	$\begin{array}{c} \text{H} & & \text{H} \\ & \backslash & / \\ & \text{C}::\text{C} \\ & / & \backslash \\ \text{H} & & \text{H} \end{array}$	6	Formic acid (carboxylic acid)	$\begin{array}{c} & \text{O} \\ & // \\ \text{H}:\text{C} & & \text{O} \\ & \backslash & / \\ & \text{O} & \text{H} \end{array}$	2
$\text{—CH}_2\text{—C} \begin{array}{l} \text{=O} \\ \text{OH} \end{array}$	Acido carboxílico	Ethanol (alcohol)	$\begin{array}{c} \text{H} & \text{H} \\ & \\ \text{H}:\text{C}:\text{C}:\text{O}:\text{H} \\ & \\ \text{H} & \text{H} \end{array}$	5	Carbon monoxide	$:\text{C}::\text{O}:$	2
$\text{O}=\text{C}=\text{O}$	Dióxido de carbono	Acetylene (alkyne)	$\text{H}:\text{C}::\text{C}:\text{H}$	5	Acetic acid (carboxylic acid)	$\begin{array}{c} \text{H} & & \text{O} \\ & & // \\ \text{H}:\text{C}:\text{C} & & \text{O} \\ & & \backslash \\ \text{H} & & \text{O} & \text{H} \end{array}$	1
		Formaldehyde	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}:\text{C}::\text{O} \\ \\ \text{H} \end{array}$	4	Carbon dioxide	$:\text{O}::\text{C}::\text{O}:$	0

En els compostos més reduïts, els àtoms de carboni són rics en electrons i hidrogen, mentre que en els més oxidats estan units a més oxigen i menys hidrogen. Com que el carboni i l'oxigen comparteixen els electrons de manera desigual (l'oxigen és més electronegatiu), l'oxidació té l'efecte d'eliminar electrons de l'àtom de carboni. En les oxidacions biològiques intervé amb freqüència la deshidrogenació.

Formes de transferència d'electrons en els éssers vius

1. e^-



2. $2e^- + 2\text{H}^+$ (àtoms d'hidrogen)



3. H^- (ió hidrur)



4. Oxigen



Equivalent de reducció: equivalent electrònic simple que participa en una reacció d'oxidació-reducció.

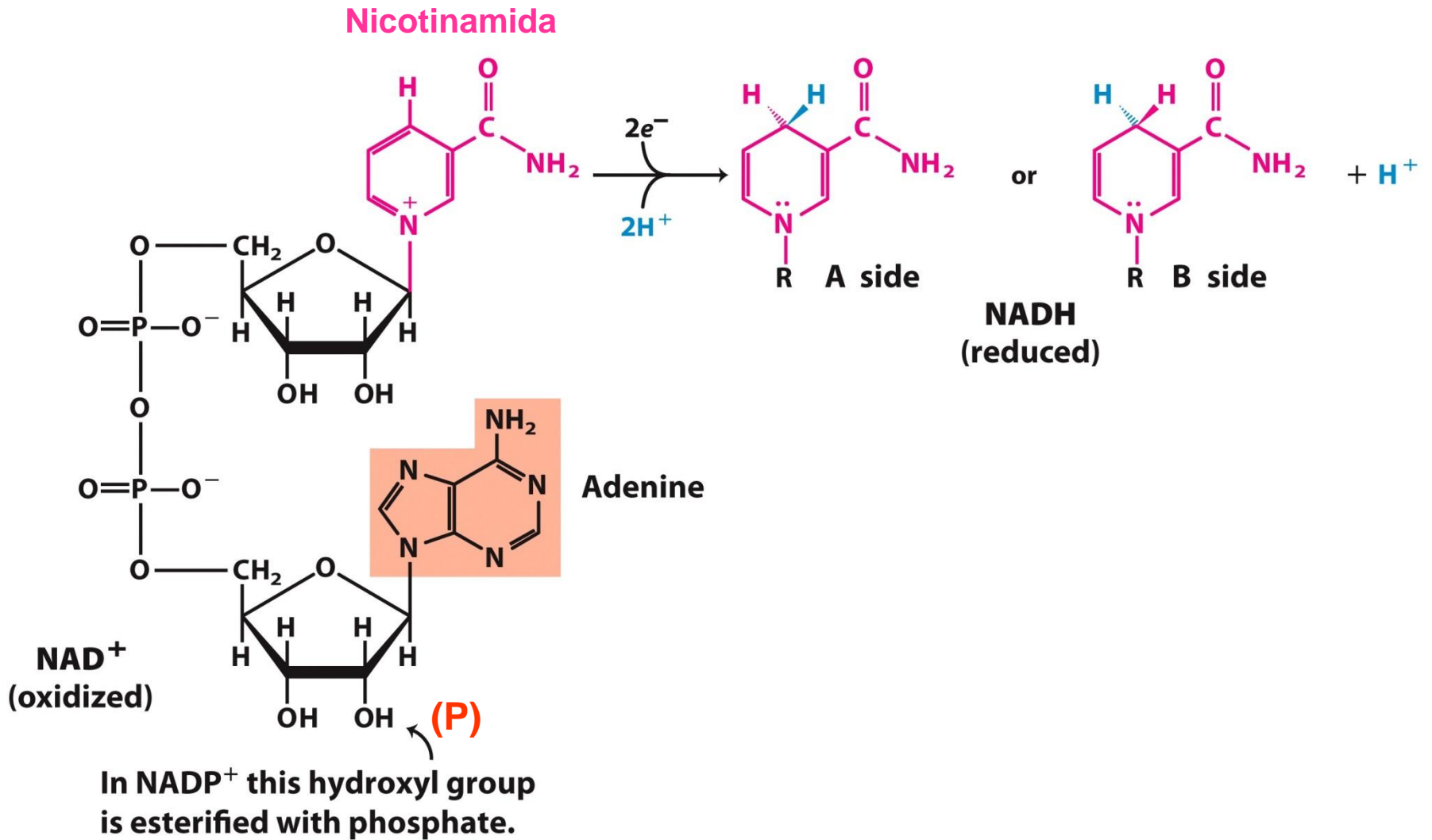


Figure 13-24a
Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
 © 2013 W. H. Freeman and Company

NAD(P): Nicotinamida:Adenina Dinucleótid (Fosfat, P)

El NAD funciona generalment en reaccions de vies catabòliques destinades a la generació d'energia. En aquestes reaccions rep un ió hidrur del substrat que s'oxida i es redueix fins a NADH, que transfereix els electrons a la cadena respiratòria per a obtenir energia.

Exemple: glucòlisi, piruvat deshidrogenasa, cicle de Krebs, beta-oxidació dels àcids grassos.



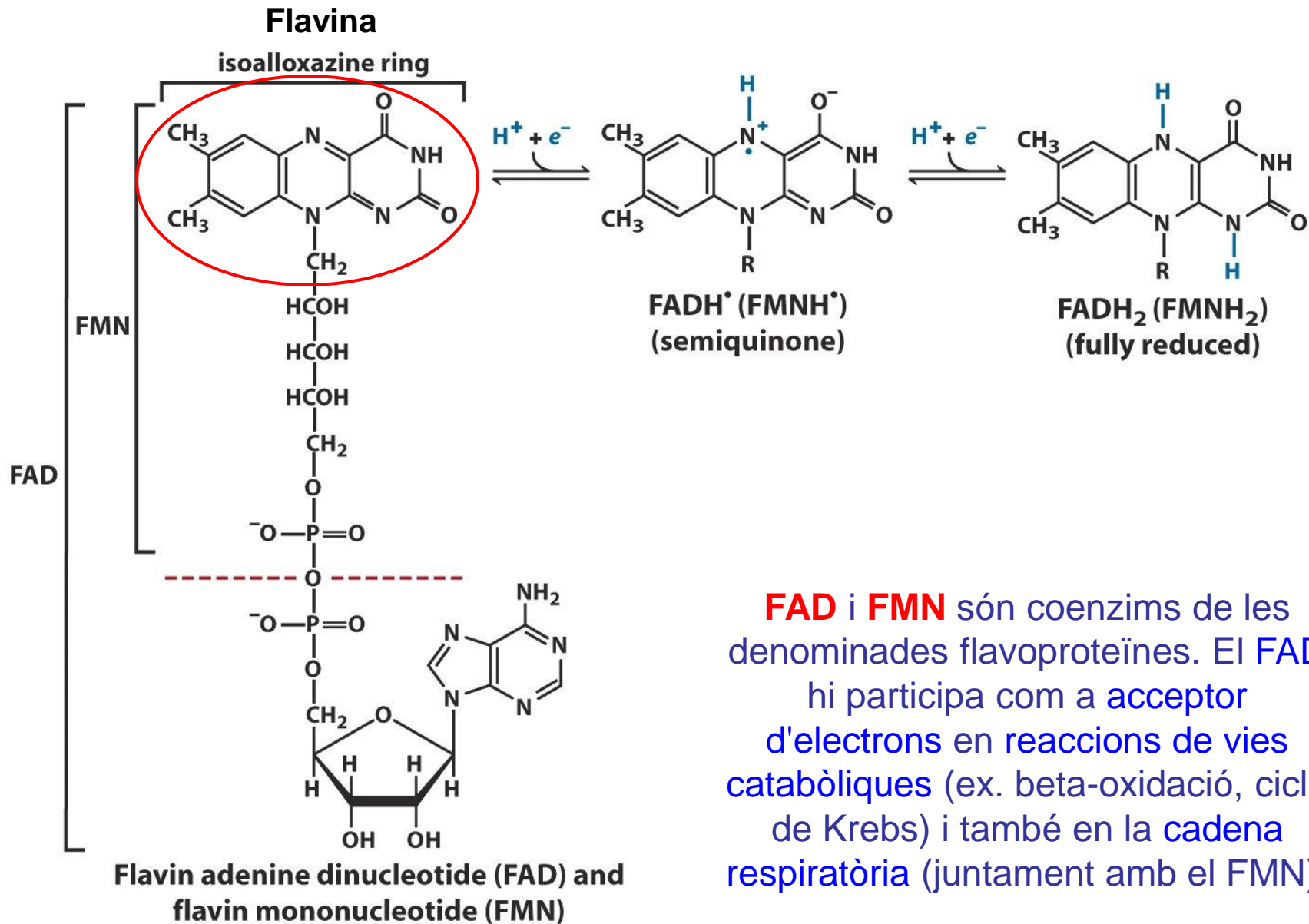
El NADPH és el coenzim habitual en reaccions de vies de biosíntesi (anabolisme), en les quals cedeix electrons a un substrat que es redueix.



Exemple: síntesi d'àcids grassos, síntesi de colesterol.

EXCEPCIÓ: la gluconeogènesi (vía anabòlica) utilitza NADH.

El grup fosfat addicional del NADPH és un senyal d'identificació que permet als enzims diferenciar els electrons que s'utilitzaran en l'anabolisme d'aquells que s'utilitzaran en el catabolisme.



FAD i **FMN** són coenzims de les denominades flavoproteïnes. El **FAD** hi participa com a **acceptor d'electrons** en reaccions de vies **catabòliques** (ex. beta-oxidació, cicle de Krebs) i també en la **cadena respiratòria** (juntament amb el FMN).

Mesura de l'afinitat cap als electrons: potencial de reducció estàndard

Table 18.1 Standard reduction potentials of some reactions

Oxidant	Aceptor	Reductant	Donador	<i>n</i>	<i>E'</i> ₀ (V)
Succinate + CO ₂		α-Ketoglutarate		2	-0.67
Acetate		Acetaldehyde		2	-0.60
Ferredoxin (oxidized)		Ferredoxin (reduced)		1	-0.43
2 H ⁺		H ₂		2	-0.42
→ NAD ⁺		NADH + H ⁺		2	-0.32
NADP ⁺		NADPH + H ⁺		2	-0.32
Lipoate (oxidized)		Lipoate (reduced)		2	-0.29
Glutathione (oxidized)		Glutathione (reduced)		2	-0.23
→ FAD		FADH ₂		2	-0.22
Acetaldehyde		Ethanol		2	-0.20
Pyruvate		Lactate		2	-0.19
Fumarate		Succinate		2	+0.03
Cytochrome <i>b</i> (+3)		Cytochrome <i>b</i> (+2)		1	+0.07
Dehydroascorbate		Ascorbate		2	+0.08
Ubiquinone (oxidized)		Ubiquinone (reduced)		2	+0.10
Cytochrome <i>c</i> (+3)		Cytochrome <i>c</i> (+2)		1	+0.22
Fe (+3)		Fe (+2)		1	+0.77
→ 1/2 O ₂ + 2 H ⁺		H ₂ O		2	+0.82

Note: *E'*₀ is the standard oxidation–reduction potential (pH 7, 25°C) and *n* is the number of electrons transferred. *E'*₀ refers to the partial reaction written as Oxidant + e⁻ → reductant

Table 18.1
Biochemistry, Seventh Edition
© 2012 W. H. Freeman and Company

El potencial de reducció estàndard (*E'*₀) mesura l'afinitat relativa pels electrons de l'acceptor electrònic de cada parell redox. Quan el potencial de reducció (*E'*₀) es major, també ho es l'afinitat pels electrons.

VARIACIÓ D'ENERGIA LLIURE EN REACCIONS REDOX

Quan en una dissolució es troben conjuntament dos parells redox conjugats, s'hi produeix la transferència electrònica des del donador d'electrons d'un parell cap a l'acceptor d'electrons de l'altre parell.



Per conveni, $\Delta E = E(\text{acceptor}) - E(\text{donador})$ (En este cas, $E_1 - E_2$)

Els electrons fluiran espontàniament cap a l'acceptor electrònic del parell redox amb major potencial de reducció, molt més com major sigui la diferència entre els potencials de reducció de tots dos parells.

La variació d'energia lliure en una reacció d'oxidació-reducció està relacionada amb la diferència de potencial entre les espècies participants.

$$\Delta G^{\circ'} = -n F \Delta E^{\circ}; \quad \Delta G' = -n F \Delta E$$

n = nombre de e- transferits

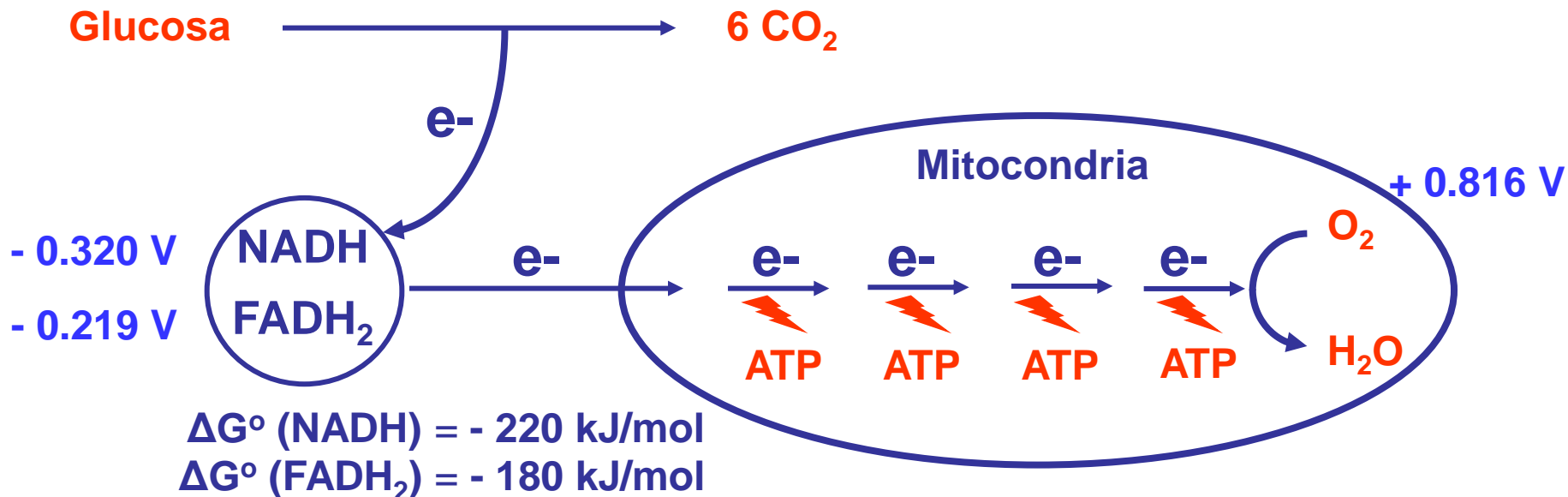
F (cte. de Faraday) = 96480 J/V mol

Com més gran sigui la diferència de potencial ($\Delta E > 0$) en una reacció d'oxidació-reducció major serà l'alliberament d'energia lliure de la reacció (reacció més exergònica).

Durant el **catabolisme**, es produeix l'**oxidació** (perduda d'electrons) progressiva de les molècules de **nutrients**, inicialment molt reduïdes (riques en electrons). TOTS els àtoms de carboni dels nutrients s'oxiden fins a CO_2 (màxim estat d'oxidació).

L'oxidació dels nutrients (y la transferència dels electrons cap el O_2) allibera una gran quantitat d'energia lliure, que s'utilitza per a la síntesi d'ATP (fosforilació oxidativa), i constitueix la MAJOR FONT D'ENERGIA LLIURE DELS ÉSSERS VIUS.

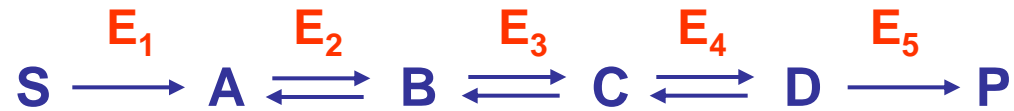
Ex. oxidació completa de la glucosa fins a CO_2 i H_2O



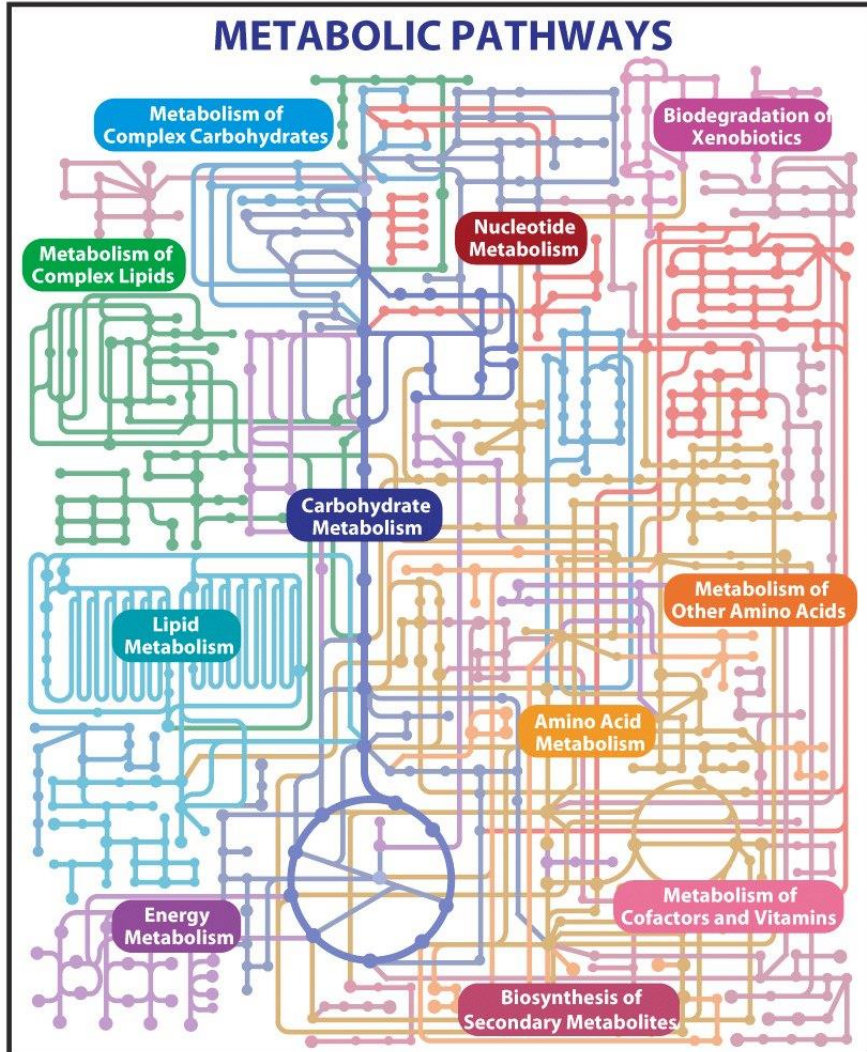
TEMA 12.

ORGANITZACIÓ I CONTROL DE LES VIES METABÒLIQUES

VIES METABÒLIQUES



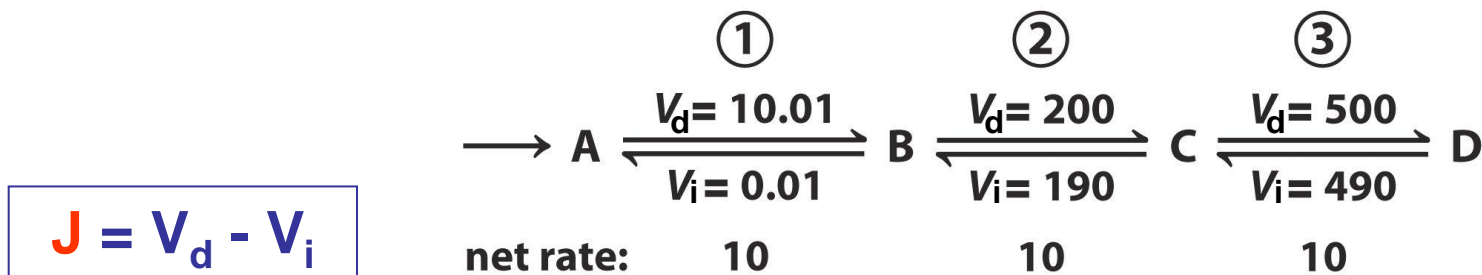
METABOLIC PATHWAYS



Via metabòlica: sèrie de reaccions enzimàtiques consecutives que transformen un substrat inicial (S) en un producte final (P). Les molècules que participen en una via metabòlica, incloent substrats, productes i intermediaris, es denominen metabòlits.

Flux metabòlic (J) – velocitat global d'una via metabòlica.

El flux dels metabòlits en cada etapa (reacció) d'una via metabòlica és la velocitat de la reacció directa (V_d) (cap a endavant) menys la velocitat de la reacció inversa (V_i) (en sentit contrari).



En l'equilibri, per definició, no hi ha flux ($J = 0$), tot i que V_d i V_i poden ser bastant grans. En l'altre extrem, en les reaccions que estan prou lluny de l'equilibri, $V_d \gg V_i$ i el flux és essencialment igual a la velocitat de la reacció directa ($J = V_d$).

(Ex. les reaccions 2 i 3 estan molt properes a l'equilibri; la reacció 1 està molt lluny de l'equilibri -és molt exergònica ($\Delta G \ll 0$) en la direcció indicada, molt endergònica en sentit contrari-, és pràcticament irreversible).

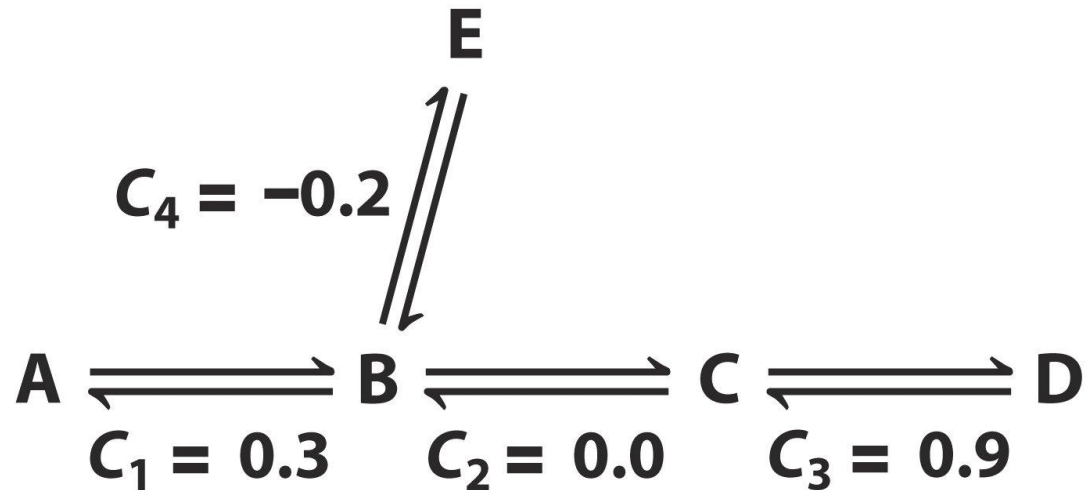
Coeficient de control de flux (C^J)

Mesura la sensibilitat del flux metabòlic en un canvi en la concentració de l'enzim ($[E]$). Permet quantificar la contribució de cada enzim en una ruta metabòlica en el flux a través d'aquesta.

- Si $C^J=0$ (valor mínim), l'enzim no té cap influència sobre el flux: el flux de la ruta no és sensible al valor de $[E]$.
- Si $C^J=1$ (valor màxim), l'enzim determina completament el flux: el flux de la ruta augmenta de forma proporcional amb la concentració de l'enzim $[E]$.

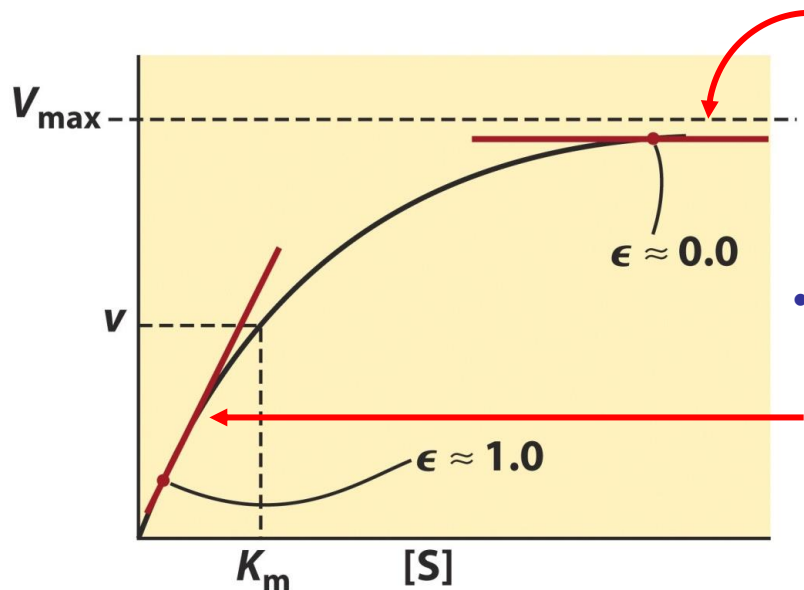
C^J no és una constant, i no és una propietat intrínseca d'un enzim; és una funció de tot el sistema d'enzims i el seu valor depèn de les concentracions de substrats i efectors.

El flux a través d'una via metabòlica pot estar controlat per més d'un enzim. En aquest cas, el coeficient de control de flux per a cadascun dels enzims participants és la fracció del control total sobre la via exercit per aquest enzim. Per tant, la suma de tots els coeficients de control de flux involucrats en el control d'una via ha de ser igual a 1 (teorema additiu del control metabòlic).



Coeficient d'elasticitat (ϵ)

- Mesura la sensibilitat del flux metabòlic en un canvi en la concentració de substrat ($[S]$).
- Depèn de les característiques cinètiques de l'enzim (K_M i V_{max}).
- Oscil·la des d'1 (para $[S] \ll K_M$) fins a prop de 0 (a mesura que la velocitat s'aproxima a V_{max}).



- Si $[S] \gg K_M$, la velocitat de la reacció s'aproxima a la velocitat màxima, per la qual cosa és pràcticament independent de la concentració de substrat. $\epsilon \approx 0$.

Ej. Hexoquinases I-III (1^a reacció glucòlisi en teixits extrahepàtics).

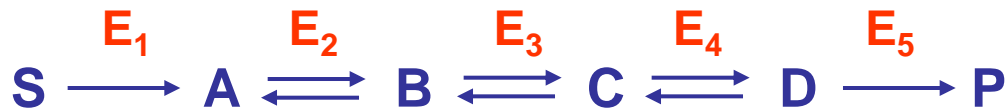
- Si $[S] \ll K_M$, la velocitat de la reacció augmenta de forma proporcional amb la concentració de substrat. $\epsilon \approx 1$

Ej. Glucoquinasa (1^a reacció glucòlisi en el fetge); citrat sintasa (1^a reacció cicle de Krebs), GLUT2 (transportador glucosa en el fetge) ($\uparrow K_M$).

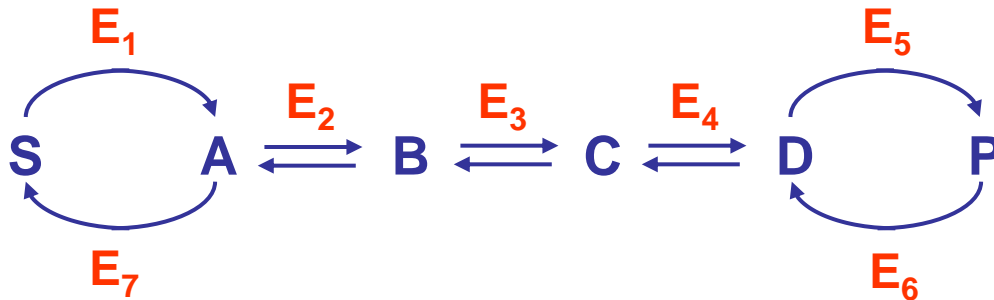
CARACTERÍSTIQUES DE LES VIES METABÒLIQUES

1. Les vies metabòliques són irreversibles i es troben en estat estacionari dinàmic.

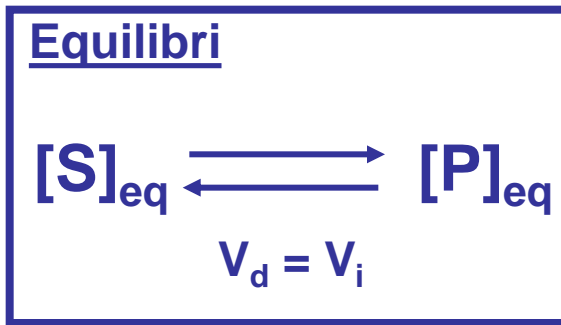
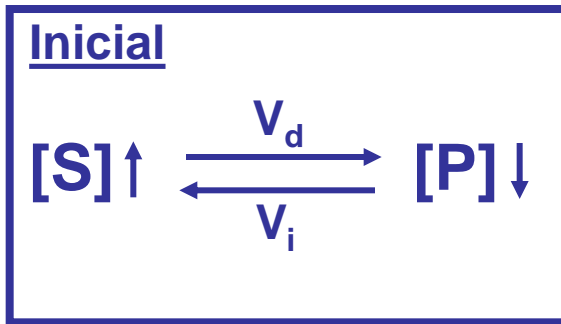
Són, en el seu conjunt, altament exergòniques: la variació d'energia lliure (ΔG) global (sumatori de les ΔG de les reaccions individuals) és gran i negativa. Això proporciona direccionalitat a la via i implica que el substrat inicial de la via es transforma completament en el producte final.



La irreversibilitat de les vies metabòliques suposa que les rutes de interconversió de dos metabòlits han de ser necessàriament diferents, almenys en alguna de les seues reaccions. Això permet, a més, una regulació independent d'ambdues rutes.

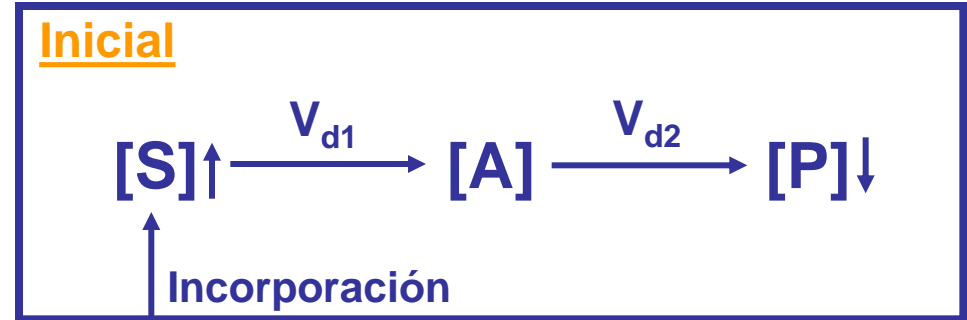


EQUILIBRI

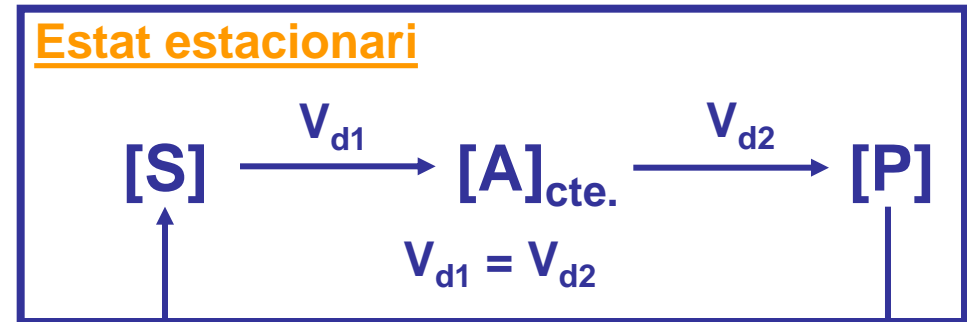


Els éssers vius són sistemes oberts (intercanvien matèria i energia amb l'entorn) i, per tant, NO poden estar en equilibri.

ESTAT ESTACIONARI



S



Incorporació

Eliminació

S

P

Malgrat que el flux d'una via metabòlica pot variar enormement, la concentració dels metabòlits intermediaris roman essencialment constant, tot i que el resultat net és la transformació completa de S en P.

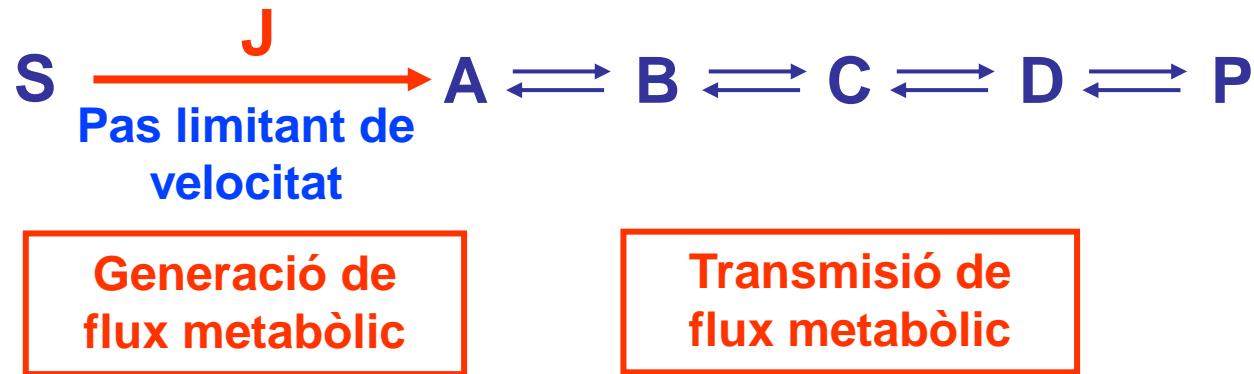
2. Tota ruta metabòlica té una etapa “decisiva”.

Encara que les vies metabòliques són irreversibles, la majoria de les reaccions que la componen funcionen prop de l'equilibri. No obstant això, en una localització estratègica de la via (generalment al principi), existeix una reacció irreversible (exergònica), que determina (decideix) que el producte generat continue al llarg de la via i la fa irreversible en el seu conjunt, i determinant la seua direccionalitat.

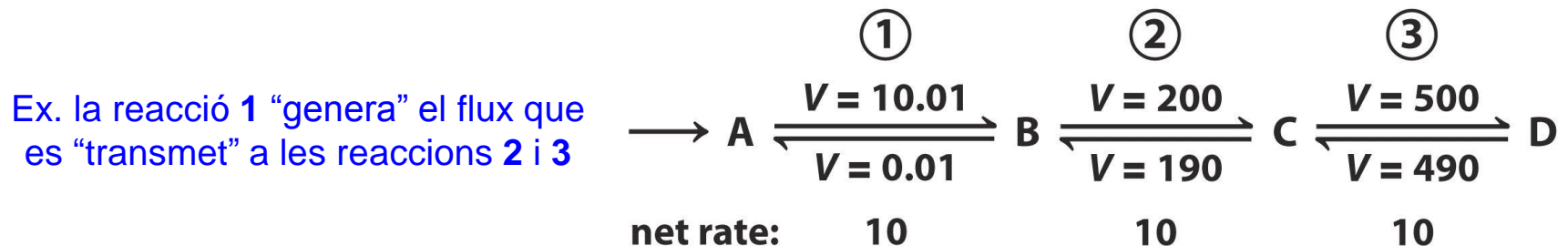


Aquesta reacció sol ser determinant de la velocitat (pas limitant de velocitat) i, per tant, genera el flux metabòlic (J) de la via: reacció generadora de flux (la reacció irreversible més lenta de la via).

Les reaccions que funcionen prop de l'equilibri “transmeten”, de forma molt eficient, el flux metabòlic generat en la reacció més lenta.



Si J augmenta, [A] augmenta i s'hi produeix un increment en la velocitat de transformació d'A en B (V_d), que es “transmet” a la reacció següent, i així successivament.



3. Totes les vies metabòliques estan regulades.

La regulació ocorre generalment a nivell de la reacció més lenta, la que constitueix el pas limitant de velocitat i, per tant, la reacció generadora de flux (generalment l'etapa “decisiva”).

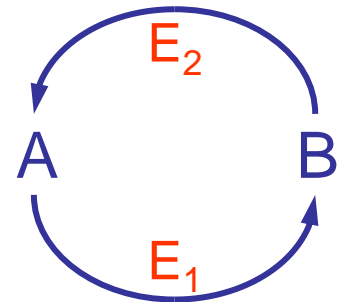
El flux a través d'aquesta reacció, i per tant a través de la via metabòlica, es modula mitjançant canvis en l'activitat o la quantitat d'enzim.

A. Canvis en la activitat enzimàtica:

- Regulació al·lostèrica
- Modificació covalent reversible

B. Canvis en la quantitat d'enzim:

- Síntesi proteica (control genètic)
- Degradació (sistemes proteolítics)



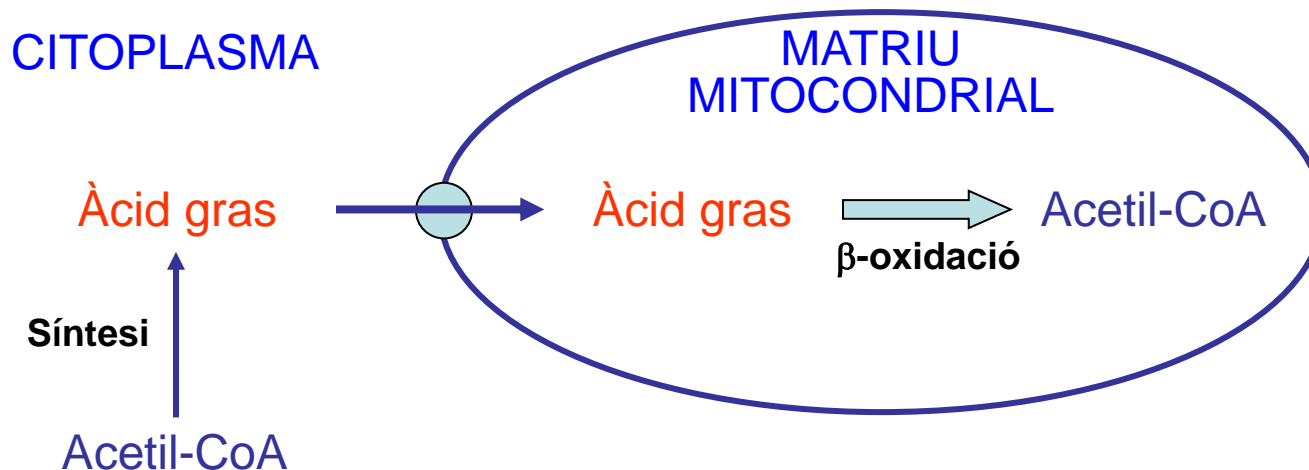
Cicles de substrat

4. En cèl·lules eucariòtiques, les vies metabòliques posseeixen una localització intracel·lular específica.

- **Citoplasma:** glucòlisi, via de les pentoses fosfate, síntesis d'àcids grassos, moltes reaccions de la gluconeogènesi sintesi i degradació de glucógen.
- **Matriu mitocondrial:** cicle de Krebs, cadena de transport electrònic i fosforilació oxidativa, β -oxidació àcids grassos, oxidació aminoàcids.
- **Altres orgànuls.**

Això proporciona una **nova possibilitat de regulació**: el control de l'aportació de metabòlits al compartiment cel·lular en el qual es localitza la via metabòlica.

Ex. β -oxidació i síntesi dels àcids grassos (matriu mitocondrial i citoplasma, respectivament).



PANORÀMICA GENERAL DE LES VIES METABÒLIQUES

Vies catabòliques

- Vies degradatives.
- Impliquen generalment l'oxidació dels nutrients (amb producció de CO_2), el transport d'electrons a l'oxigen (intervingut per coenzims) i la producció d'ATP.

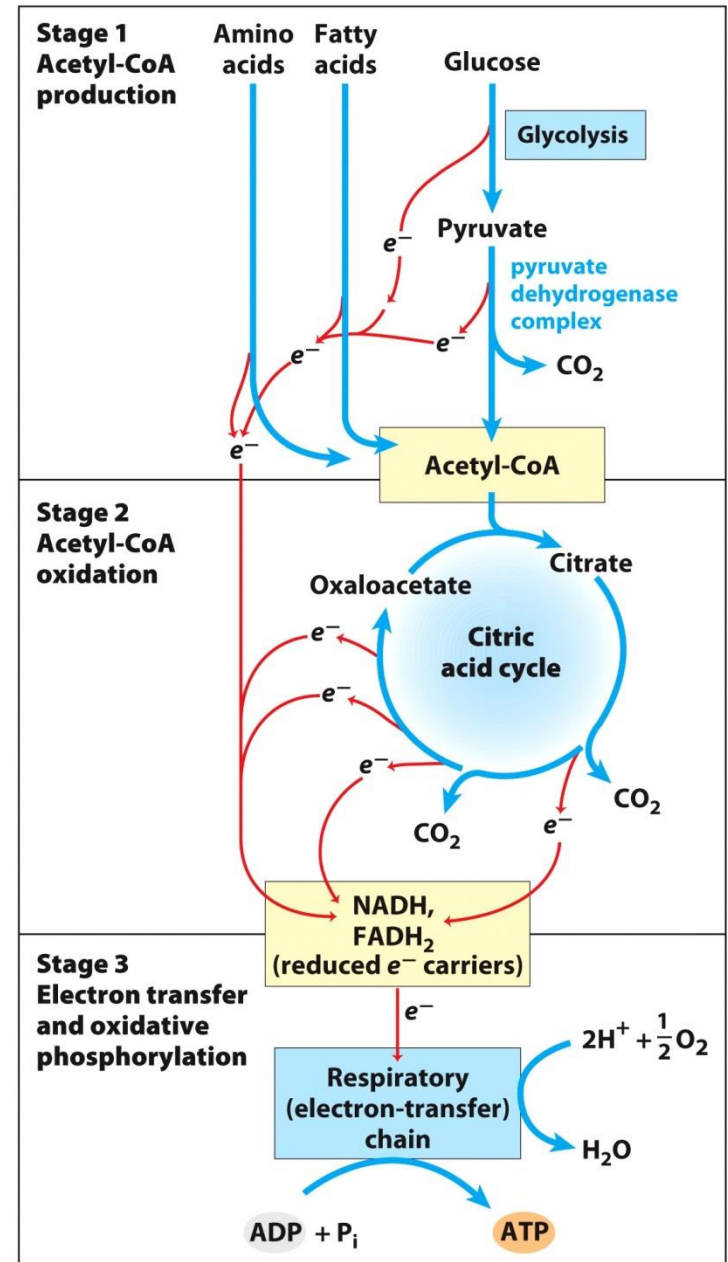


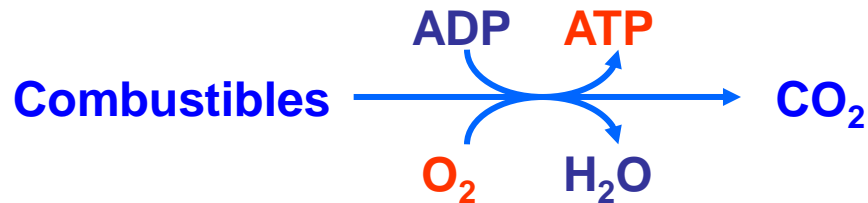
Figure 16-1

Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition

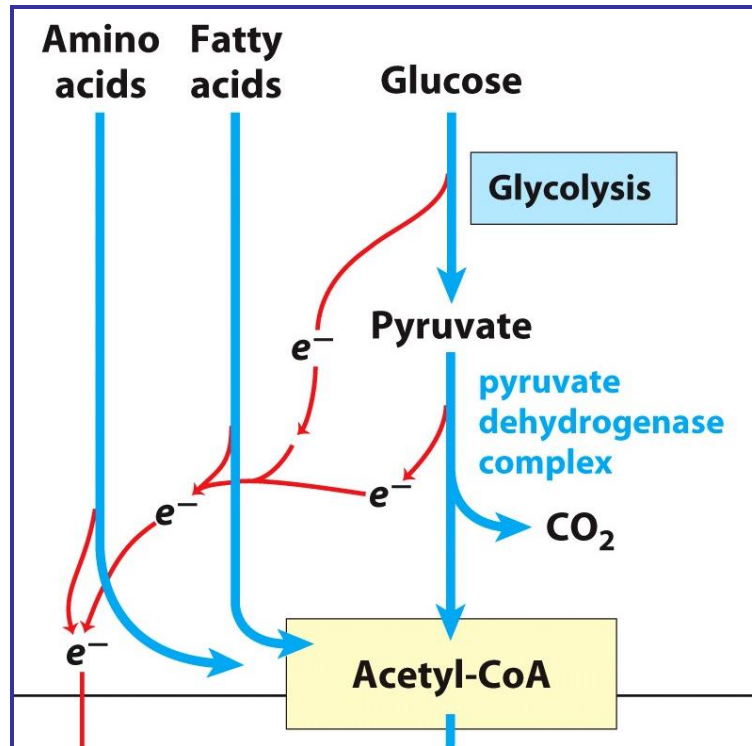
© 2013 W. H. Freeman and Company

RESPIRACIÓ CEL·LULAR

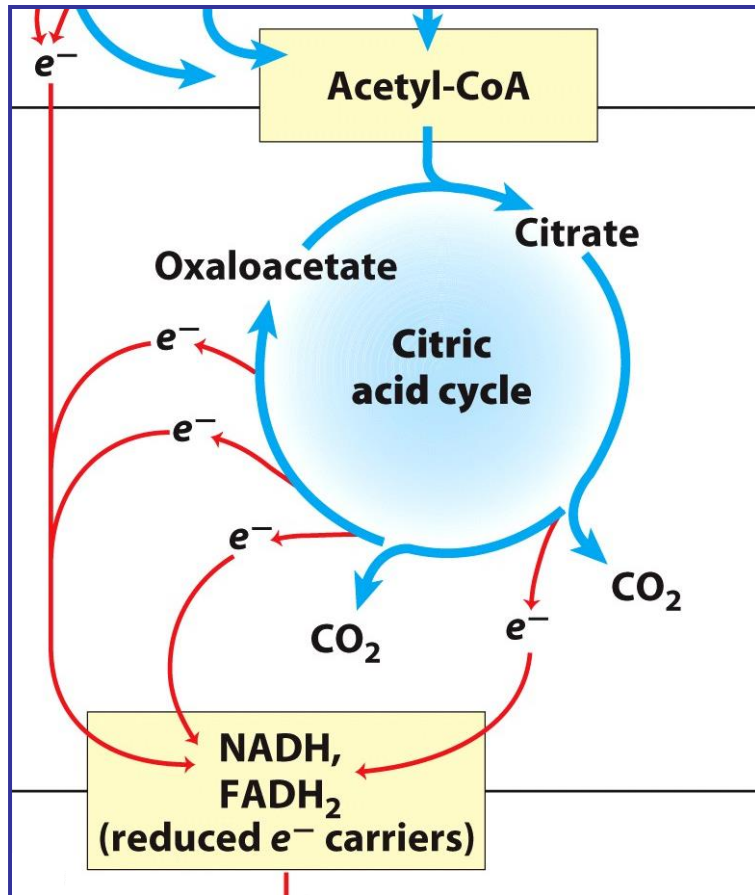
Procés de generació d'energia (ATP) acoblat a l'oxidació de combustibles (nutrients) per l'oxigen.



Fase 1: producció d'acetyl-CoA

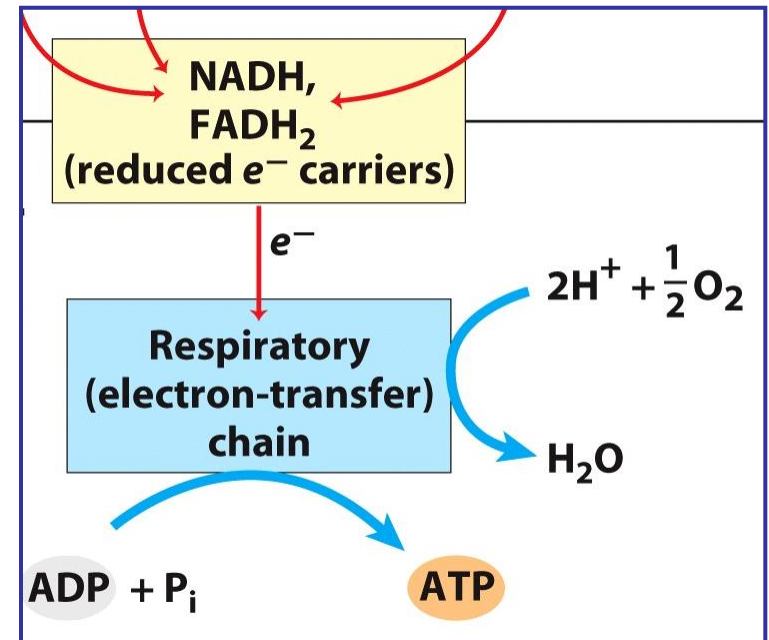


Fase 2: oxidació de l'acetil-CoA



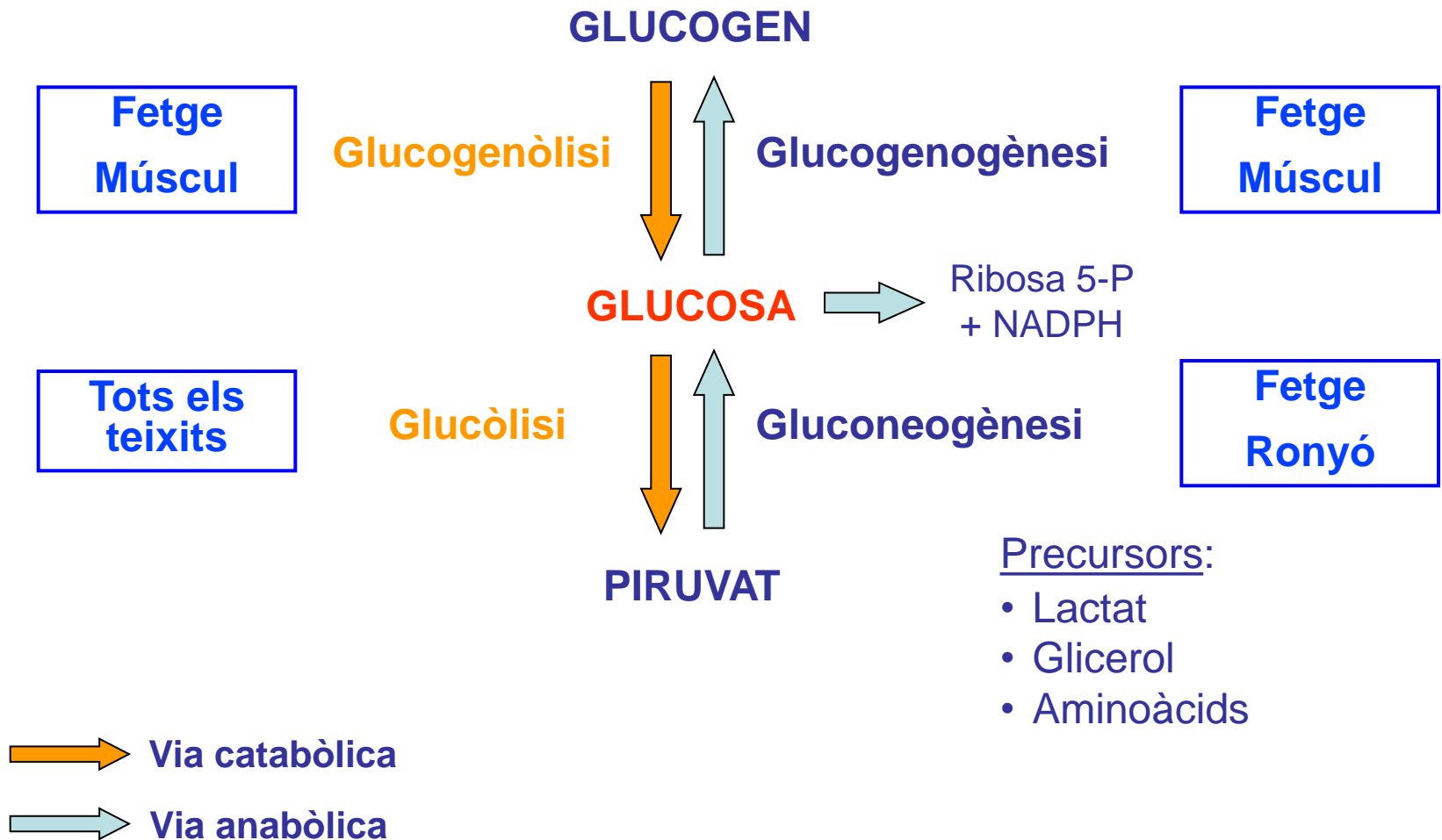
MITOCONDRI

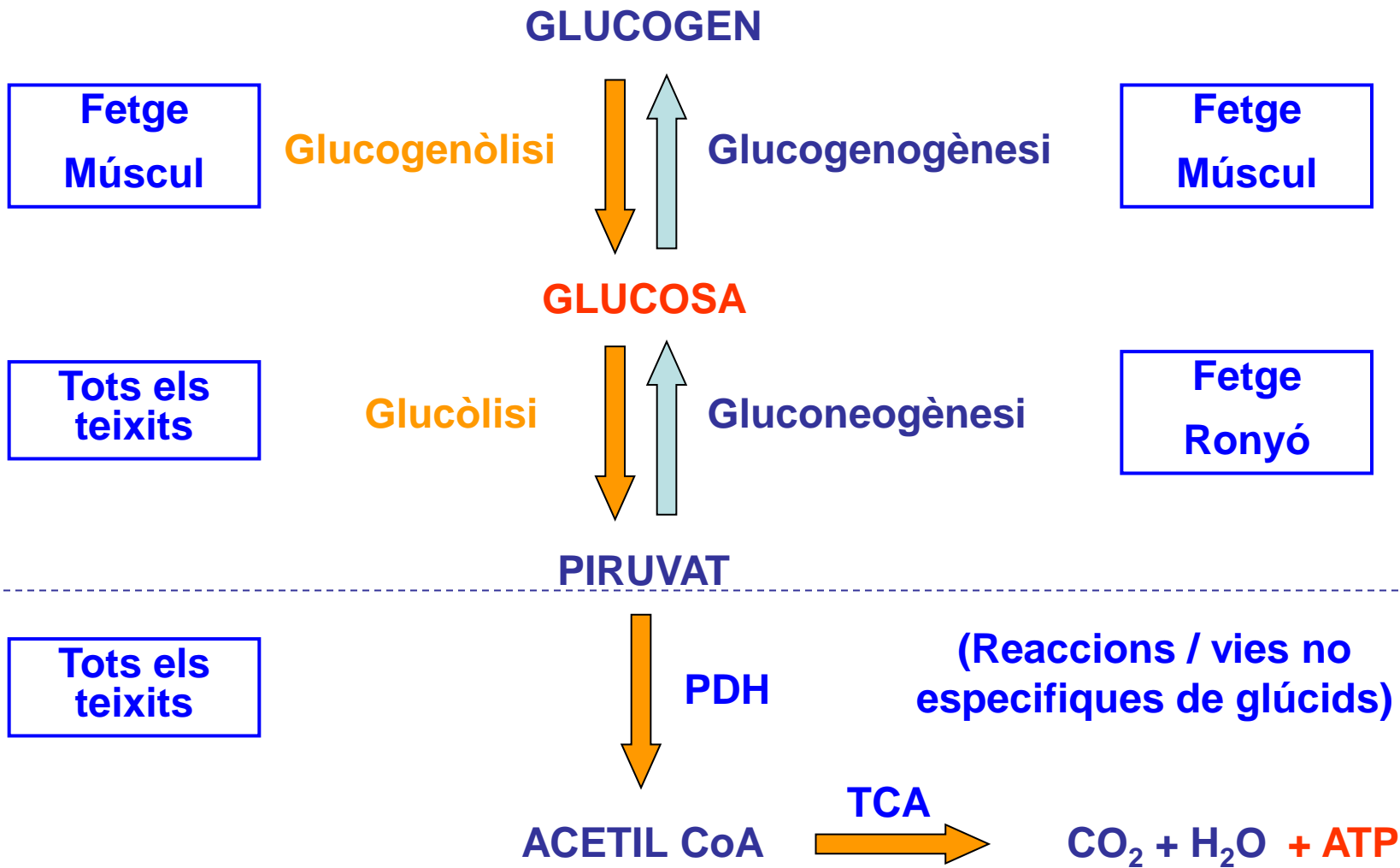
Fase 3: transferència electrònica i fosforilació oxidativa



MITOCONDRI

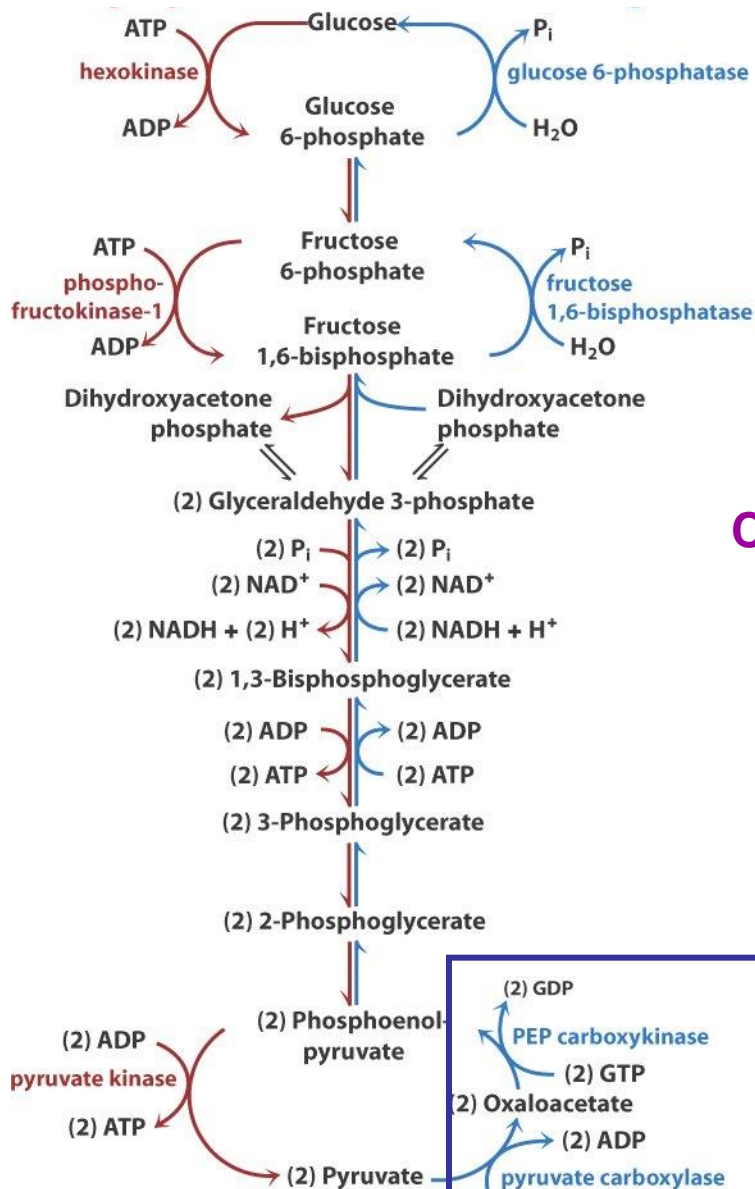
PRINCIPALS VIES METABÒLIQUES DELS GLÚCIDS





Glucòlisi

Gluconeogènesi



CITOSOL

CITOSOL

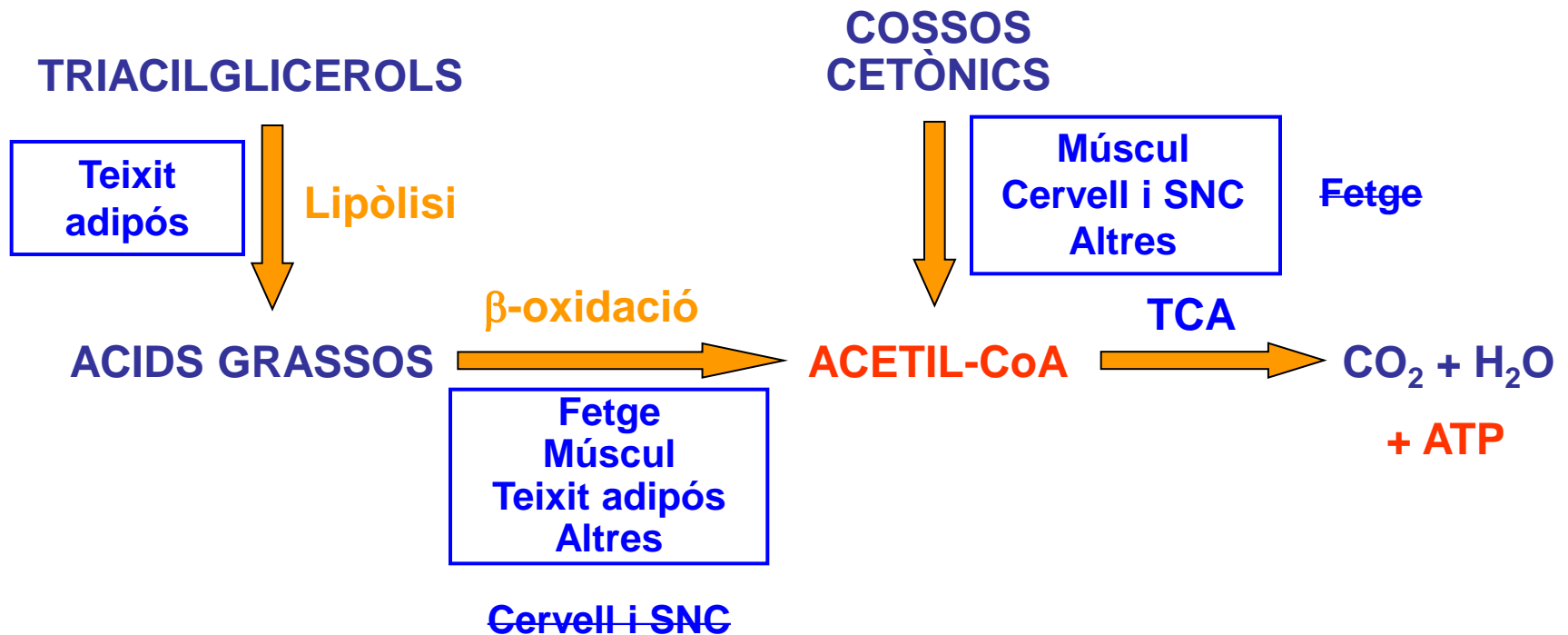
MITOCONDRI

Glucosa
↑
↓
Glucogen

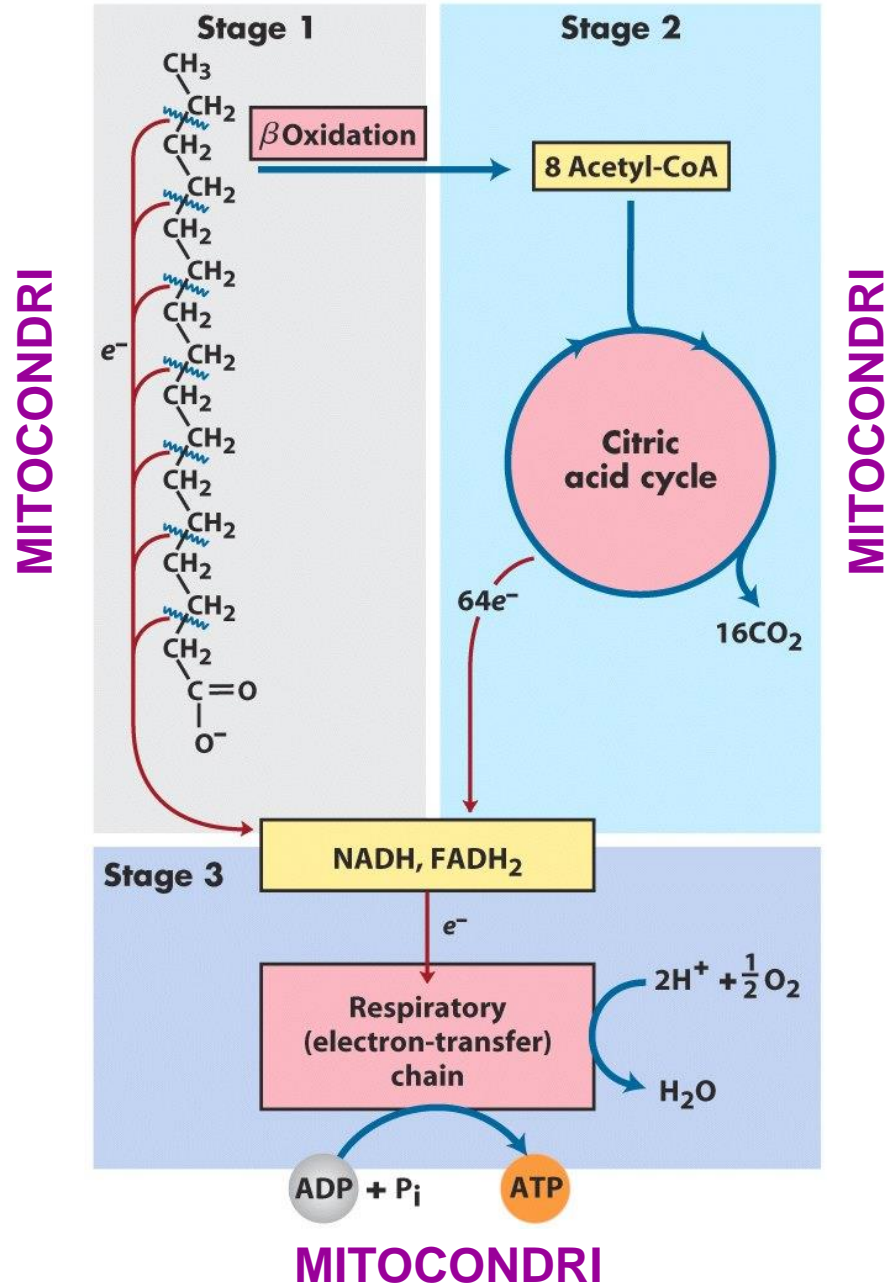
Piruvat
↓
Acetil CoA

PRINCIPALS VIES METABÒLIQUES DELS LÍPIDS

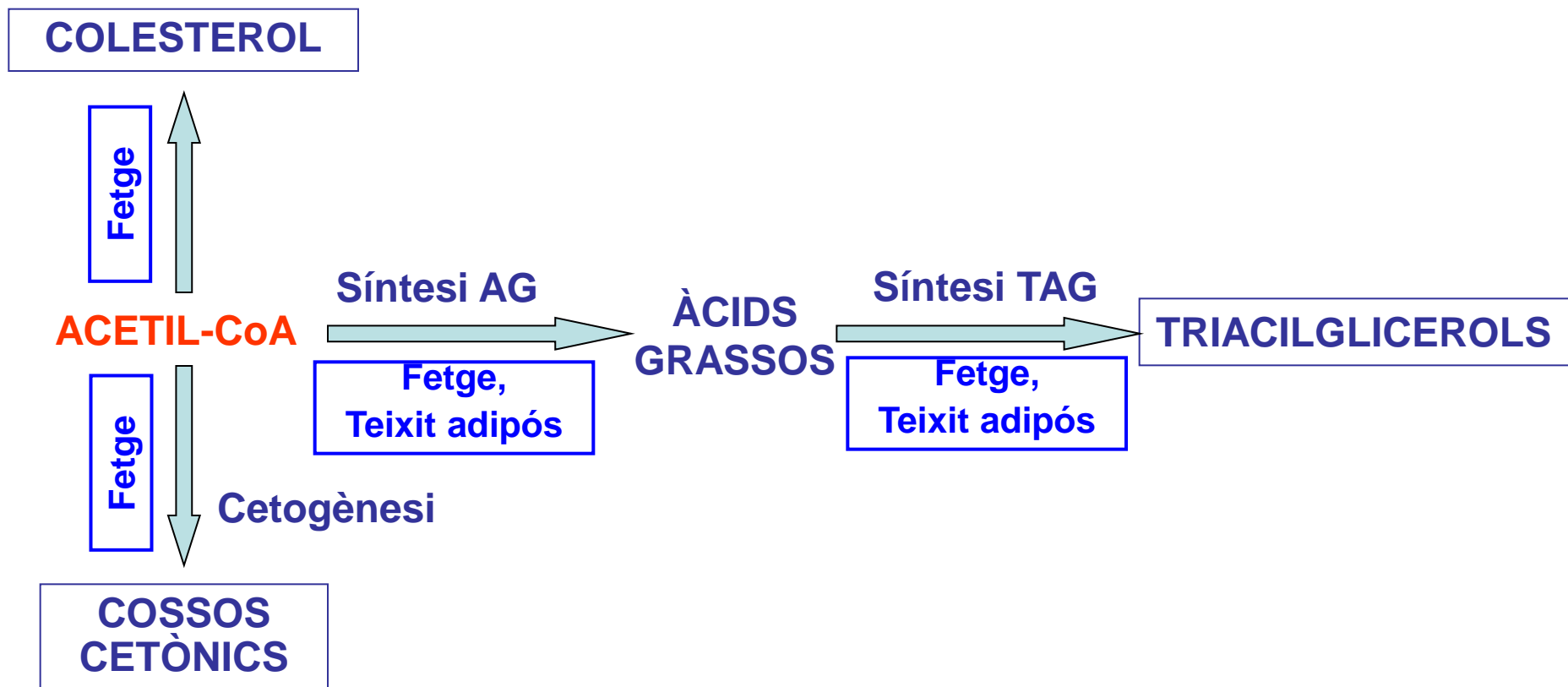
Vies catabòliques

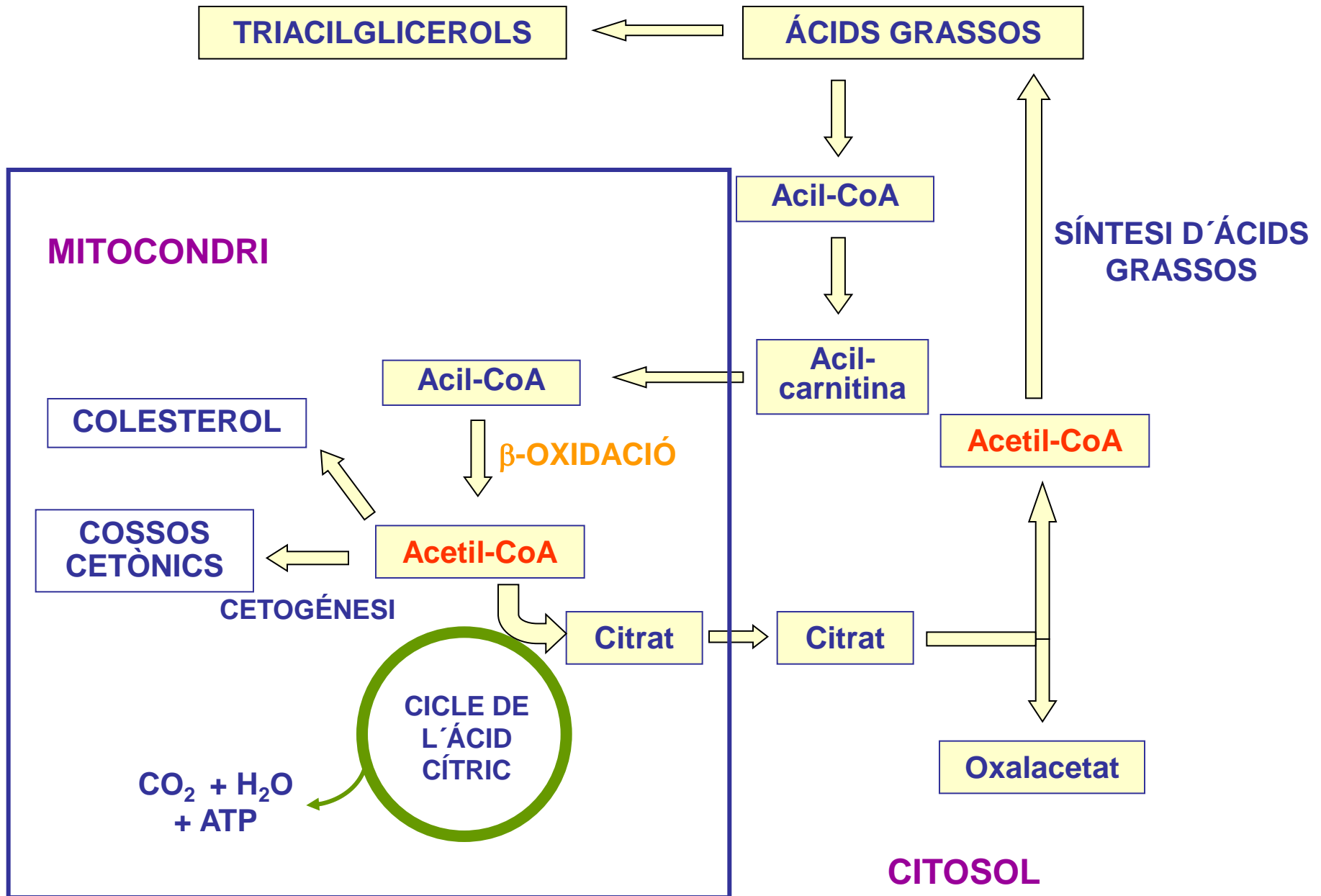


Etapas en l'oxidació dels àcids grassos

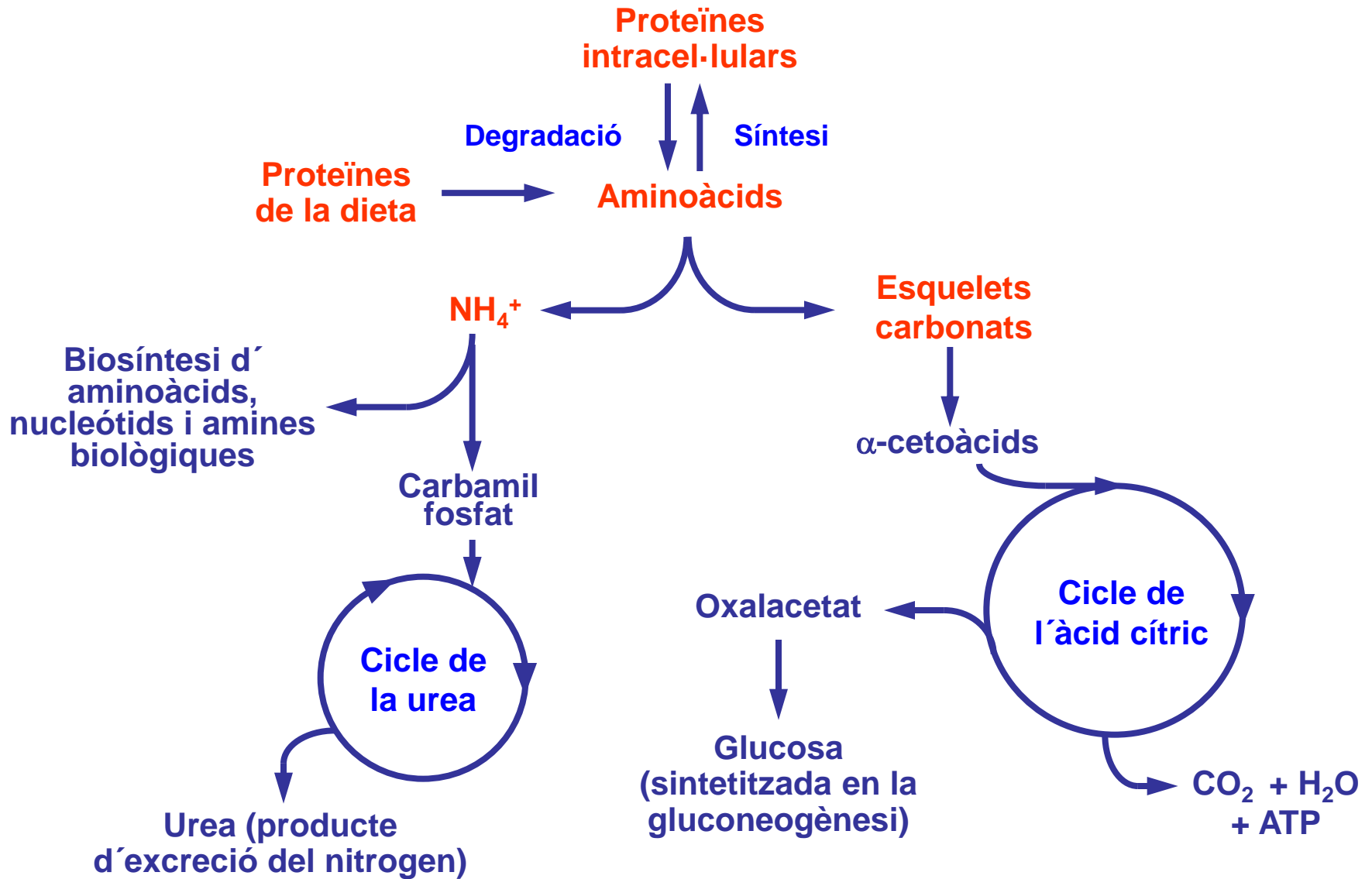


Vies anabòliques

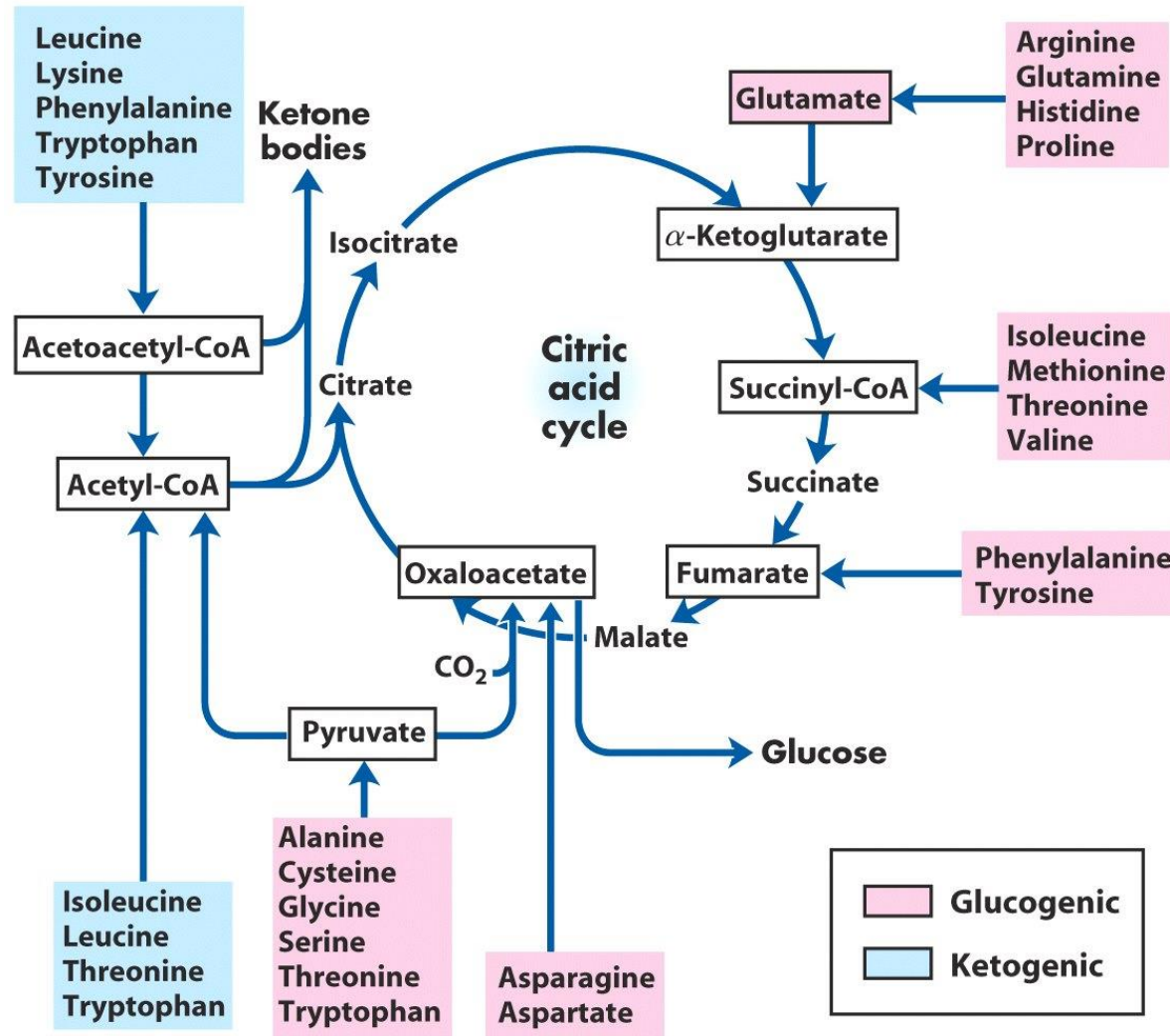




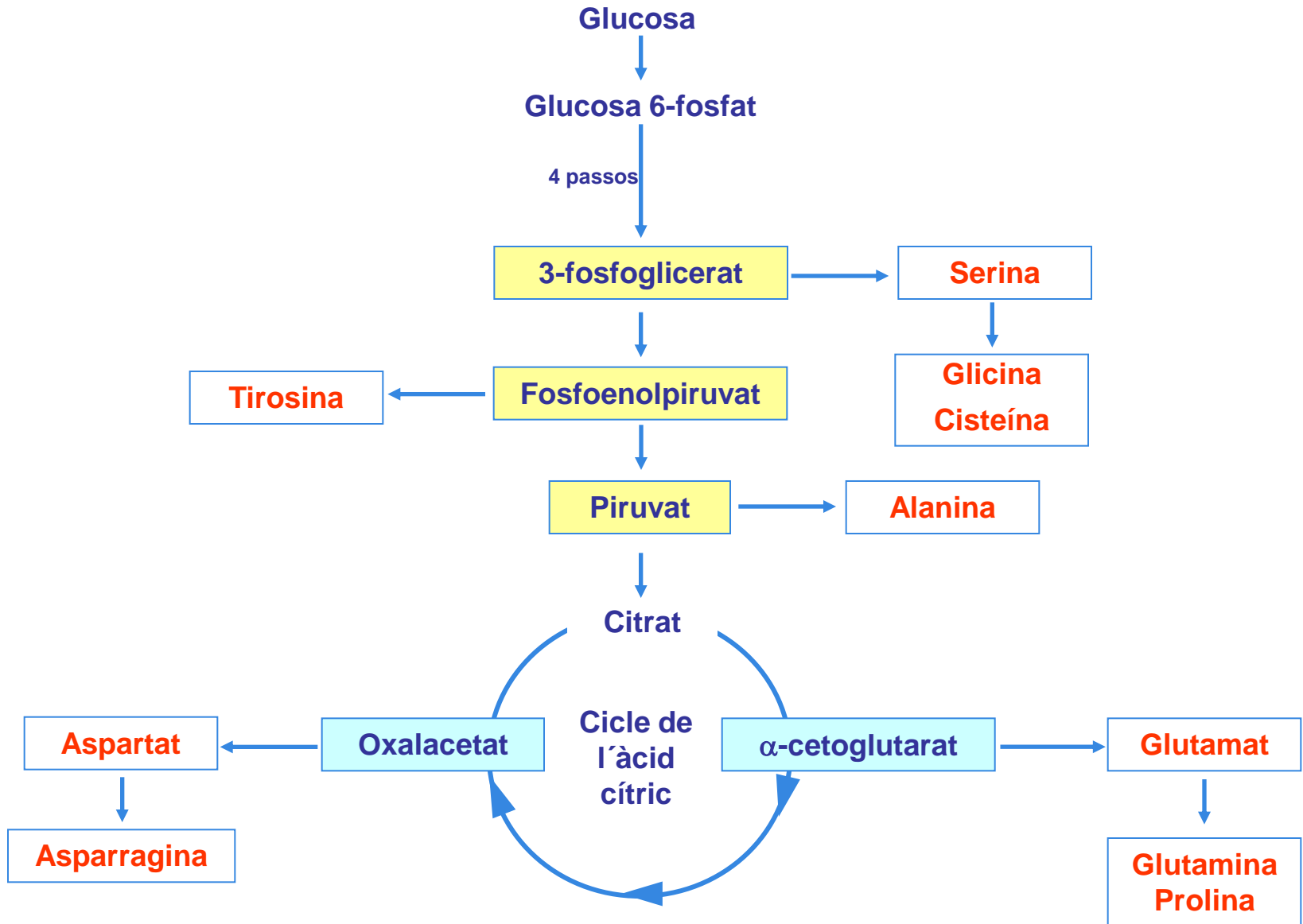
PRINCIPALS VIES METABÒLIQUES DE LES PROTEÏNES



Destinacions dels esquelets carbonats dels aminoàcids: aminoàcids glucoquèns (precursors de la síntesi de glucosa) i cetogènics (productors de cossos cetònics)



Precursors per a la síntesi dels aminoàcids no essencials



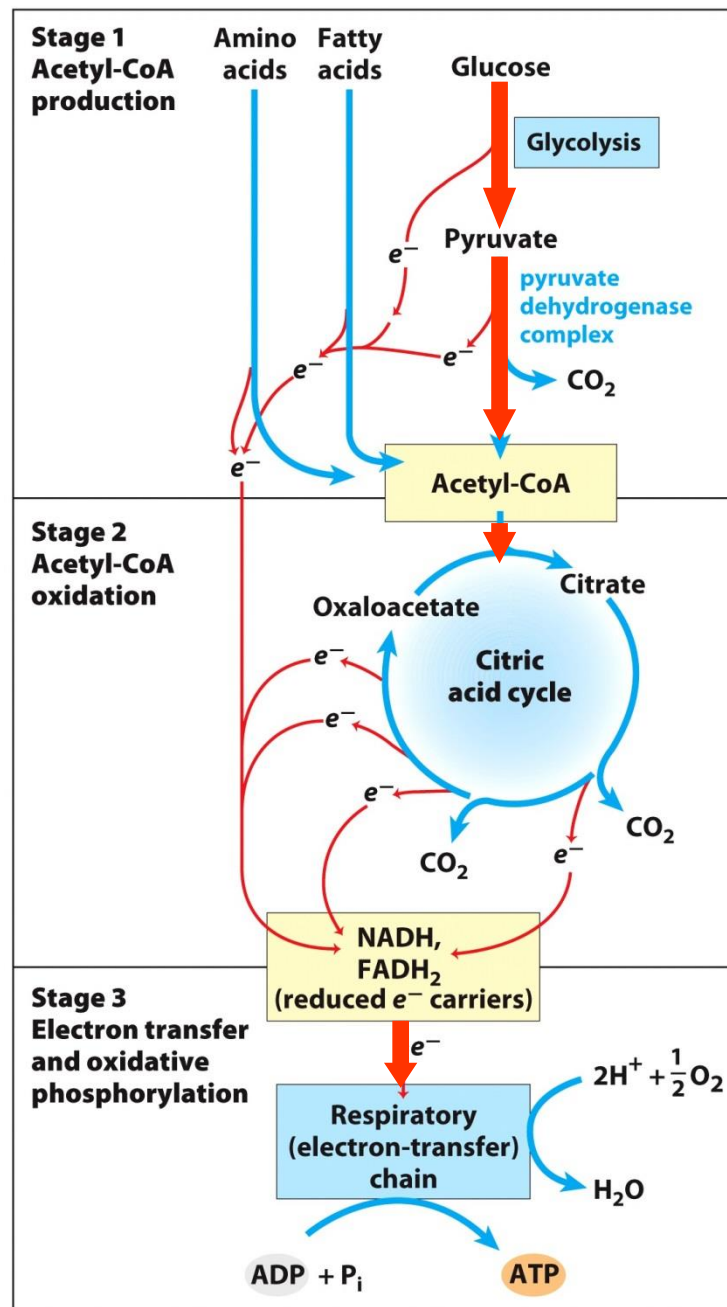


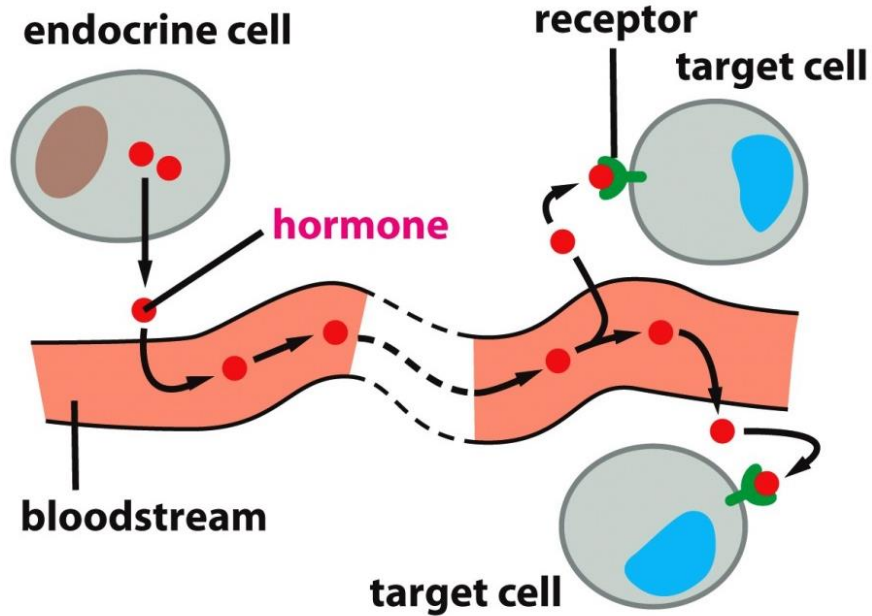
Figure 16-1

Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition

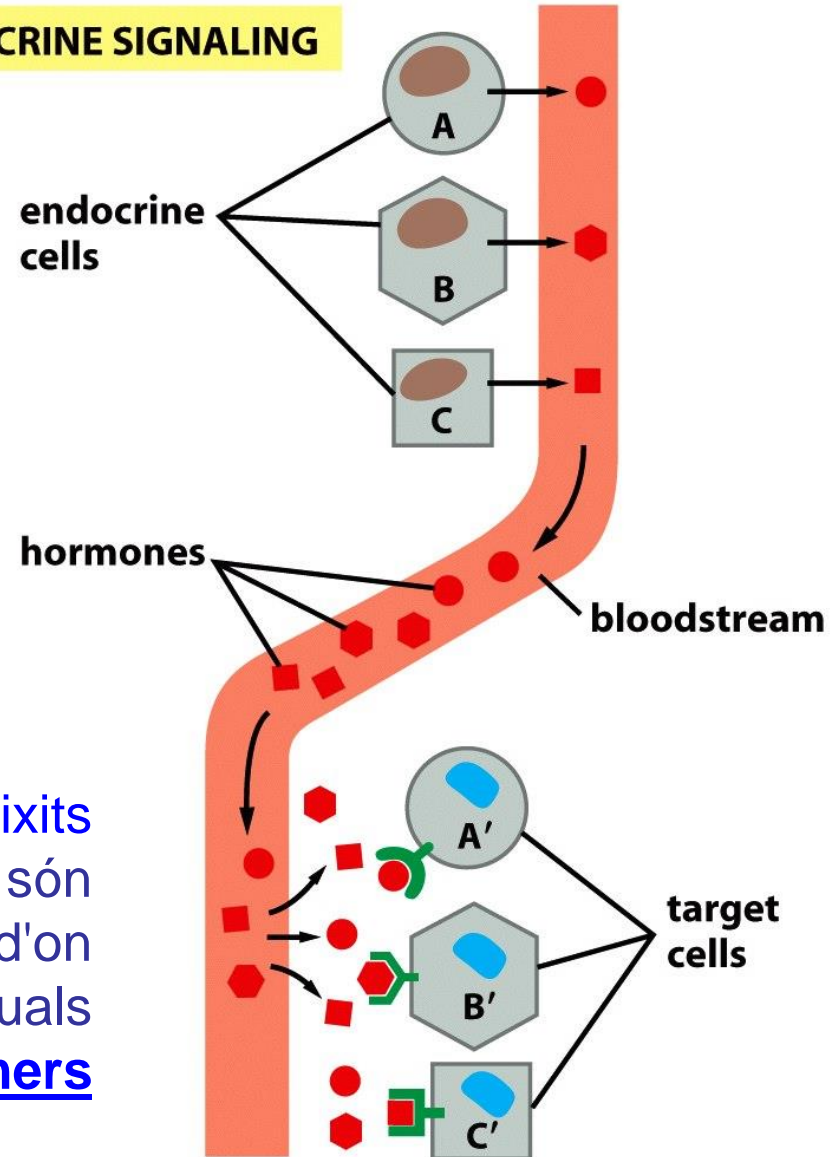
© 2013 W. H. Freeman and Company

TEMA 13.

REGULACIÓ HORMONAL DEL METABOLISME: CONCEPTES BÀSICS



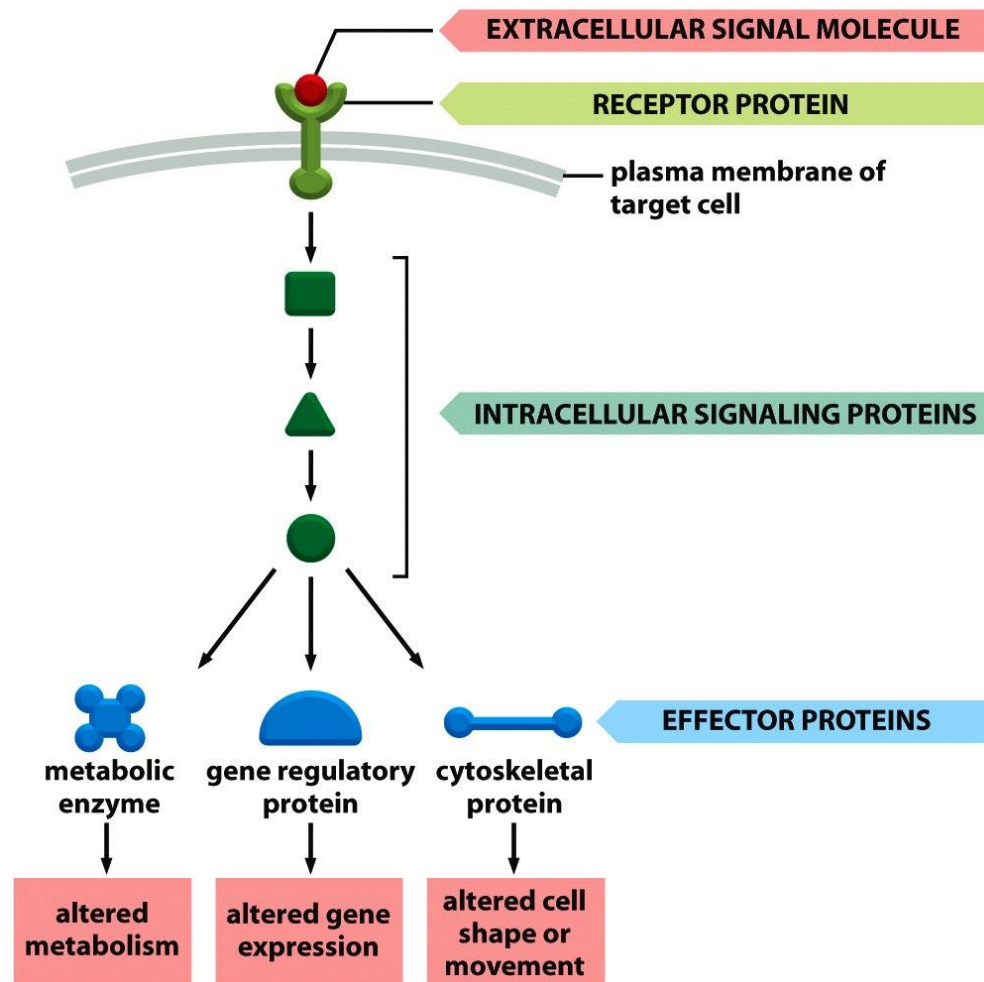
ENDOCRINE SIGNALING



- Les hormones són sintetitzades en teixits específics (glàndules endocrines) i són secretades al torrent sanguini, des d'on arriben als diferents teixits sobre els quals actuen (teixits diana) com a primers missatgers.

Les **hormones** regulen la integració del metabolisme de combustibles entre els diferents òrgans i teixits.

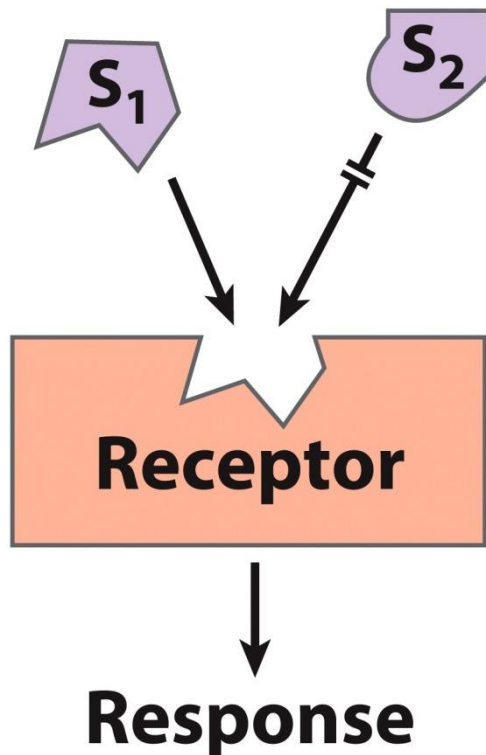
- Ⓢ **Insulina**: alliberada per les cèl·lules β del pàncrees quan la glucèmia és alta (**estat postabsortiu o de bona nutrició**). Informa a tots els teixits de l'estat de bona nutrició i impulsa la utilització de la glucosa, l'emmagatzematge de combustibles (glucogen, greix) i la síntesi de proteïnes. Els seus principals teixits diana són el fetge, el múscul i el teixit adipós.
- Ⓢ **Glucagó**: alliberat per les cèl·lules α del pàncrees en situacions de **baixa glucèmia (dejuni)**. El principal teixit diana és el fetge i el seu efecte principal és l'augment de la concentració de glucosa en sang.
- Ⓢ **Adrenalina (epinefrina)**: alliberada per la medul·la suprarenal en situacions d'estrès i hipoglucèmia. Els seus teixits diana són, principalment, el múscul, el fetge i el teixit adipós. El seu efecte principal és l'augment de la concentració de glucosa en sang i la mobilització de greixos en el teixit adipós.



- ✚ La majoria d'hormones no poden travessar la membrana plasmàtica. Per això, les hormones han d'unir-se a receptors específics en la membrana plasmàtica de les cèl·lules diana i desencadenar-hi processos de transmissió de senyals que modifiquen les activitats metabòliques o la expressió de gens en aquestes cèl·lules.

CARACTERÍSTIQUES DELS SISTEMES DE TRANSMISSIÓ DE SENYALS

(a) **Especificitat**: La molècula senyalitzadora (S) s'uneix de forma específica al seu receptor en la cèl·lula diana. Altres molècules no hi encaixen. Per tant, només les cèl·lules posseïdores de receptors (teixits diana) respondran a la molècula senyalitzadora.



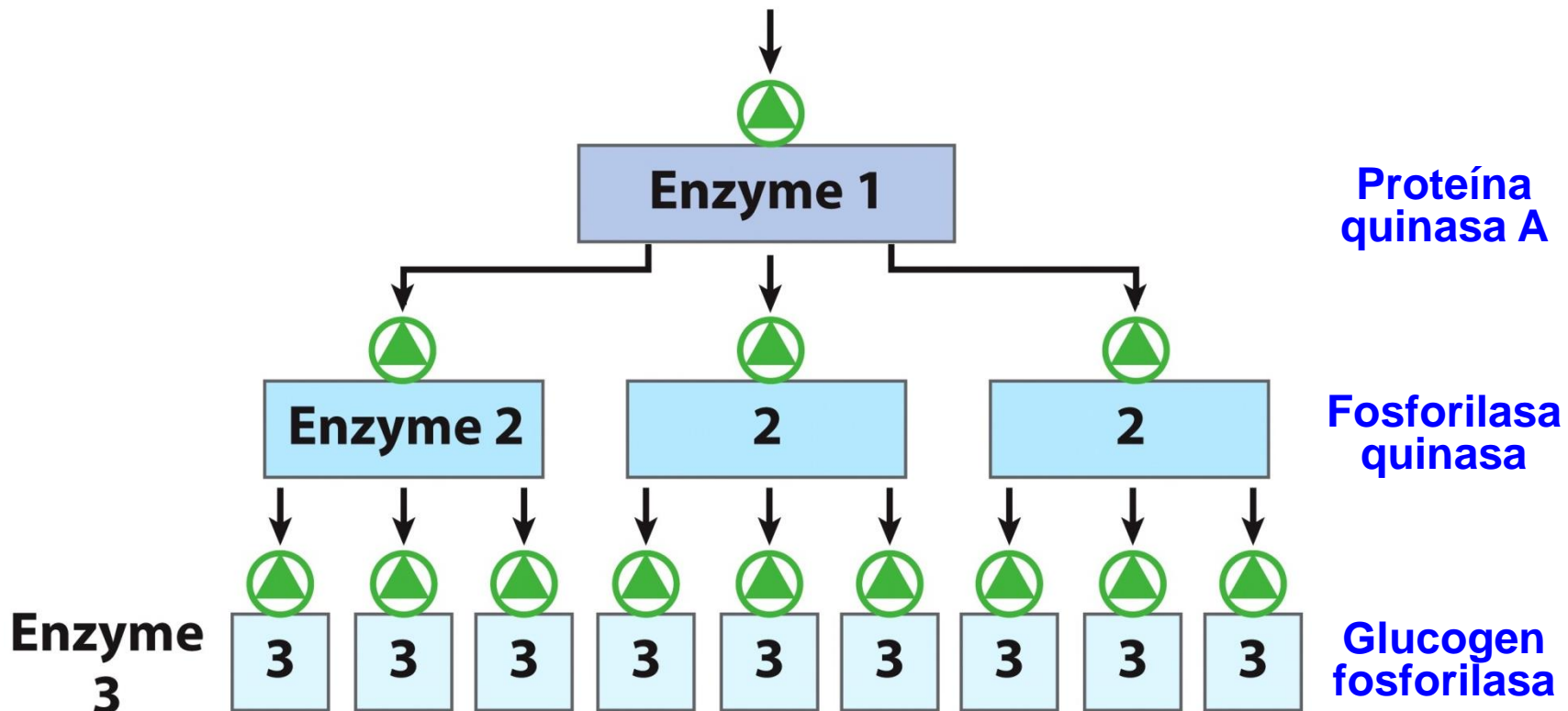
- Quan baixa la glucèmia, s'allibera glucagó. El principal teixit diana és el fetge, que en resposta a glucagó allibera glucosa al torrent sanguini. Per contra, les cèl·lules musculars són insensibles al glucagó perquè manquen de receptors per a aquesta hormona.
- Si una cèl·lula ha de respondre a 2 estímuls diferents, necessita receptors diferents per a cada molècula senyalitzadora. Ex. Glucagó i adrenalina en cèl·lules hepàtiques.
- Una mateixa hormona pot unir-se a receptors diferents en les mateixes cèl·lules, produint vies alternatives de transmissió de senyals. Ex. adrenalina i receptors adrenergics α o β .

(b) Amplificació: Quan uns enzims activen a altres enzims, es produeix una cascada d'activacions enzimàtiques que augmenta geomètricament el nombre de molècules implicades.

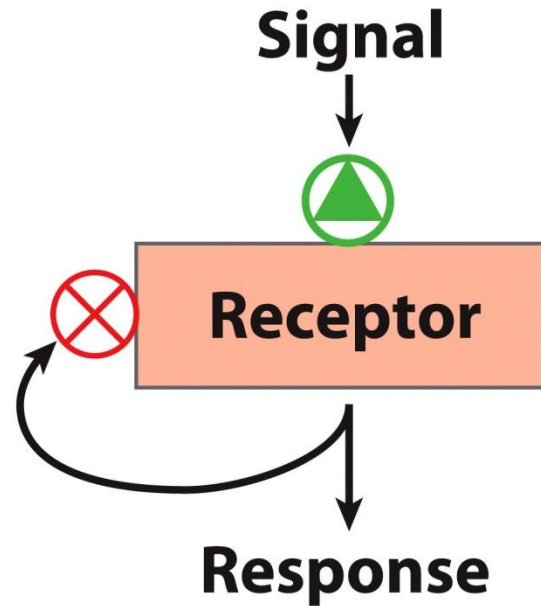
Ej. Degradació del glucogen

Signal

Glucagó



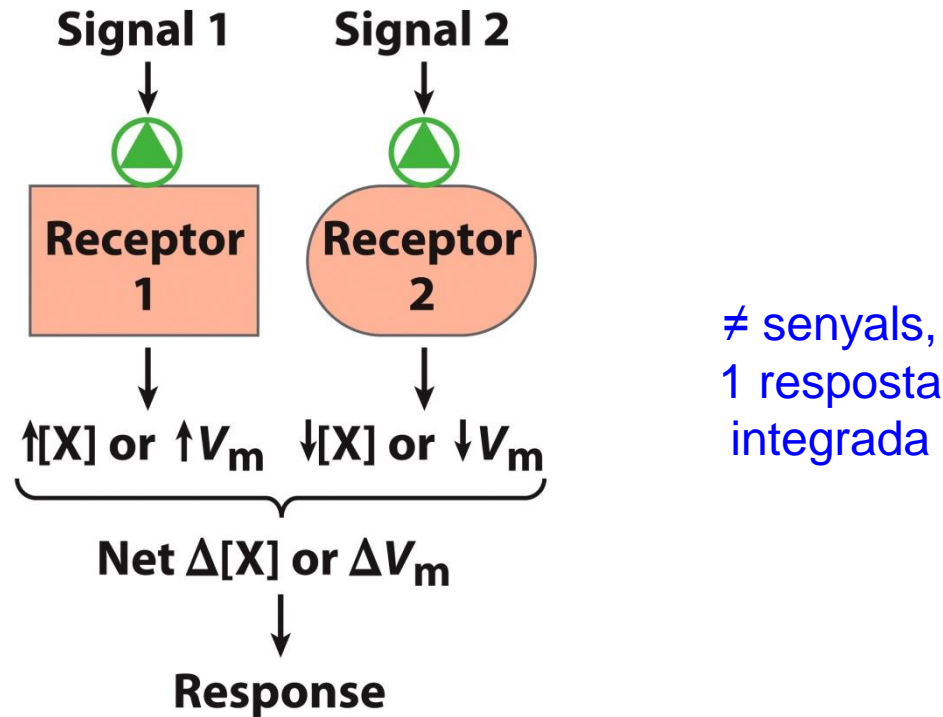
(c) **Desensibilització/adaptació**: l'activació del receptor desencadena un circuit de retroalimentació (feedback) que desconnecta el mateix receptor o l'elimina de la superfície cel·lular.



Objetiu: evitar una resposta excessiva o permanent a un determinat estímul (senyal).

Si la senyal continua, el sistema perd sensibilitat, s'adapta.
Si el senyal cessa, el sistema torna a activar-se.

(d) Integració: quan dos senyals tenen efectes oposats sobre una característica metabòlica, com pot ser la concentració d'un segon missatger X o el potencial de membrana (V_m), l'efecte regulador final és el resultat de la integració de tots dos receptors.



Per exemple, insulina i glucagó tenen efectes oposats, i el fet que predominen els efectes induïts per una o una altra hormona dependrà del balanç existent entre les dues hormones en el torrent sanguini (quocient insulina / glucagó).

TIPUS GENERALS DE PROCESSOS DE TRANSMISSIÓ DE SENYALS

Receptors acoblats a proteïnes G: La unió al receptor (R) del lligant extern (L) activa a una proteïna intracel·lular d'unió a GTP (G), que regula a un enzim que genera un segon missatger (X).

Receptors amb activitat tirosina quinasa: La unió del lligant (L) al domini extracel·lular del receptor activa un domini intracel·lular del receptor amb activitat tirosina quinasa.

Receptors amb activitat guanilil ciclasa: La unió del lligant (L) al domini extracel·lular del receptor estimula la formació d'un segon missatger, cGMP.

Canals iònics: S'obren o tanquen en resposta a la concentració d'un lligant senyal (S) o el potencial de membrana (Ex. receptor d'acetil colina).

Receptors nuclears: localitzats en el nucli. La unió del lligant (L) permet al receptor regular l'expressió gènica. Ex. receptor d'esteroides.

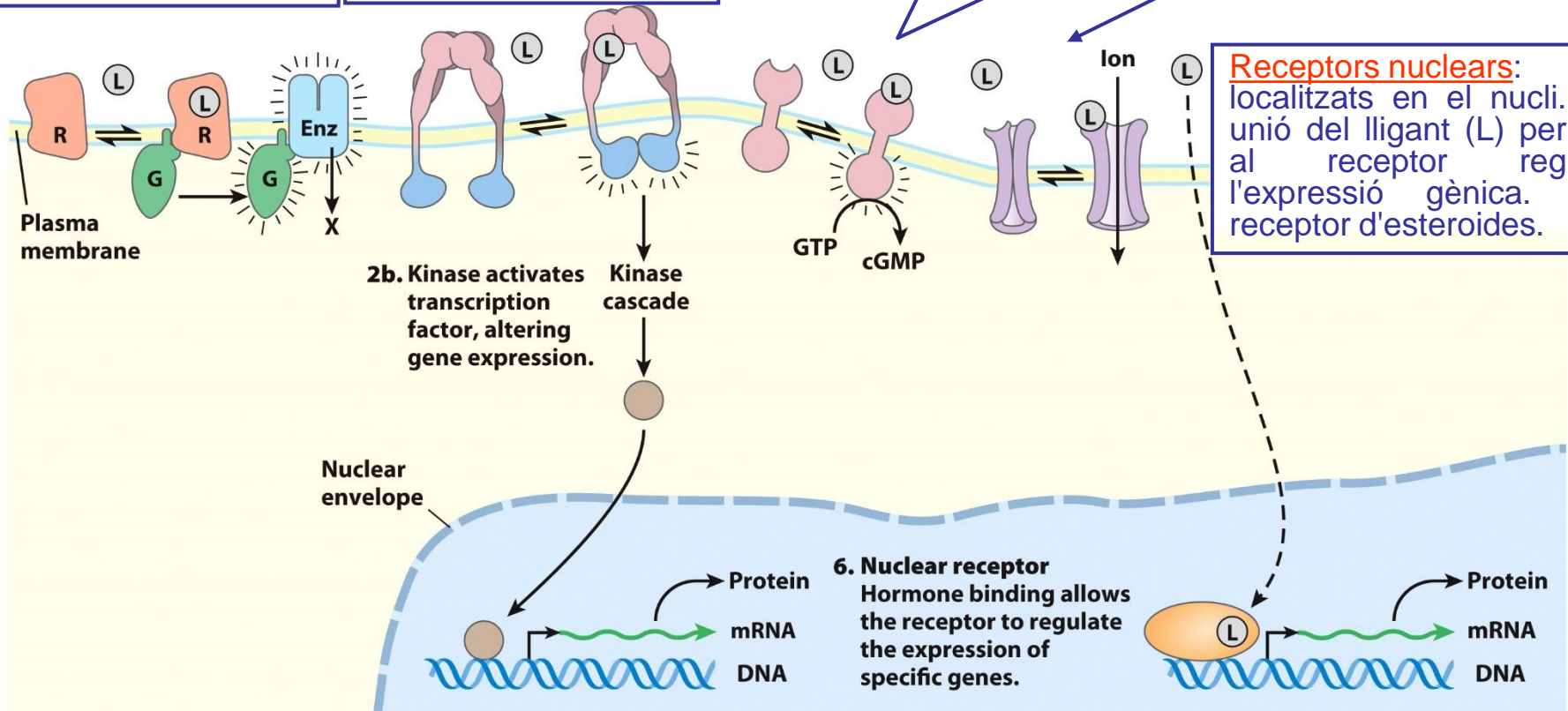


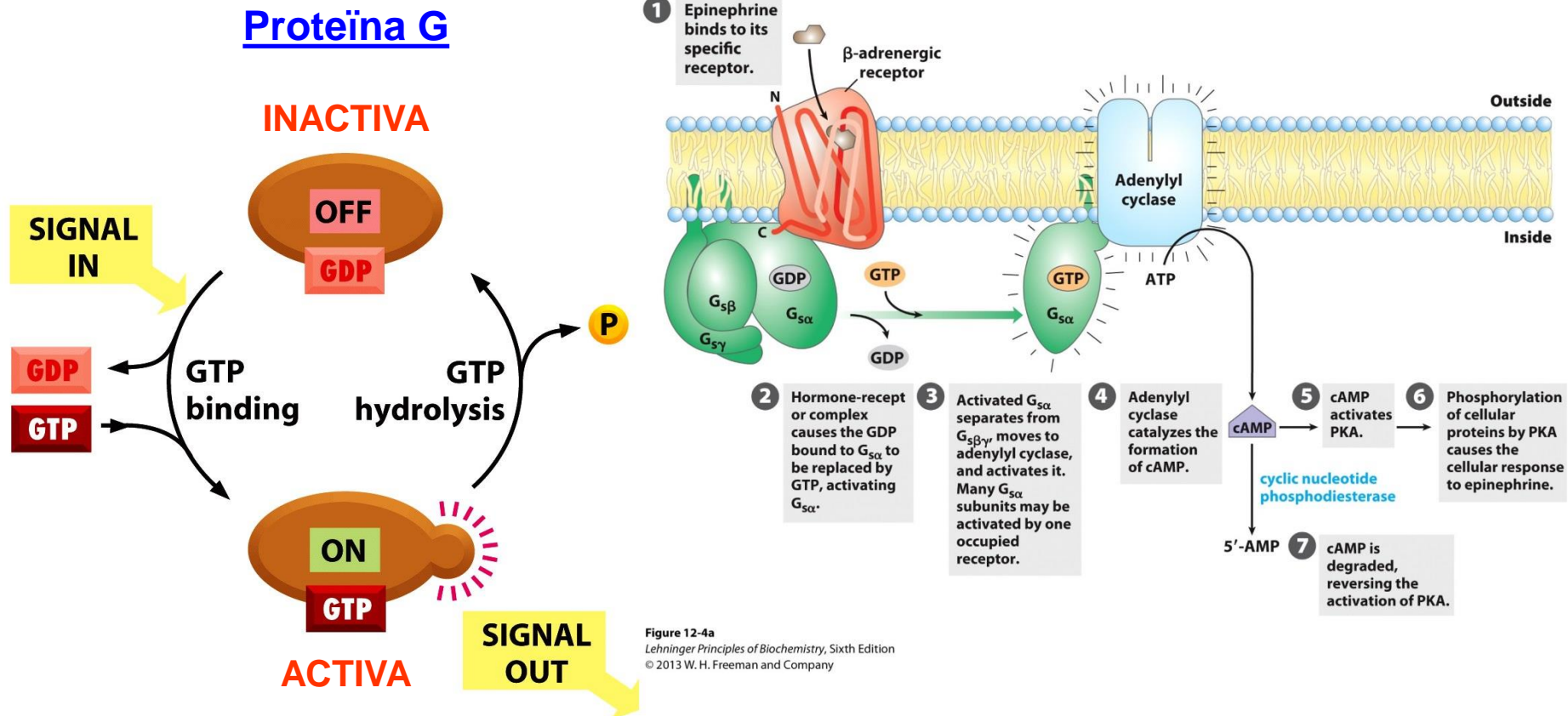
Figure 12-2

Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition

© 2013 W. H. Freeman and Company

RECEPTORS ACOBLATS A PROTEÏNES G

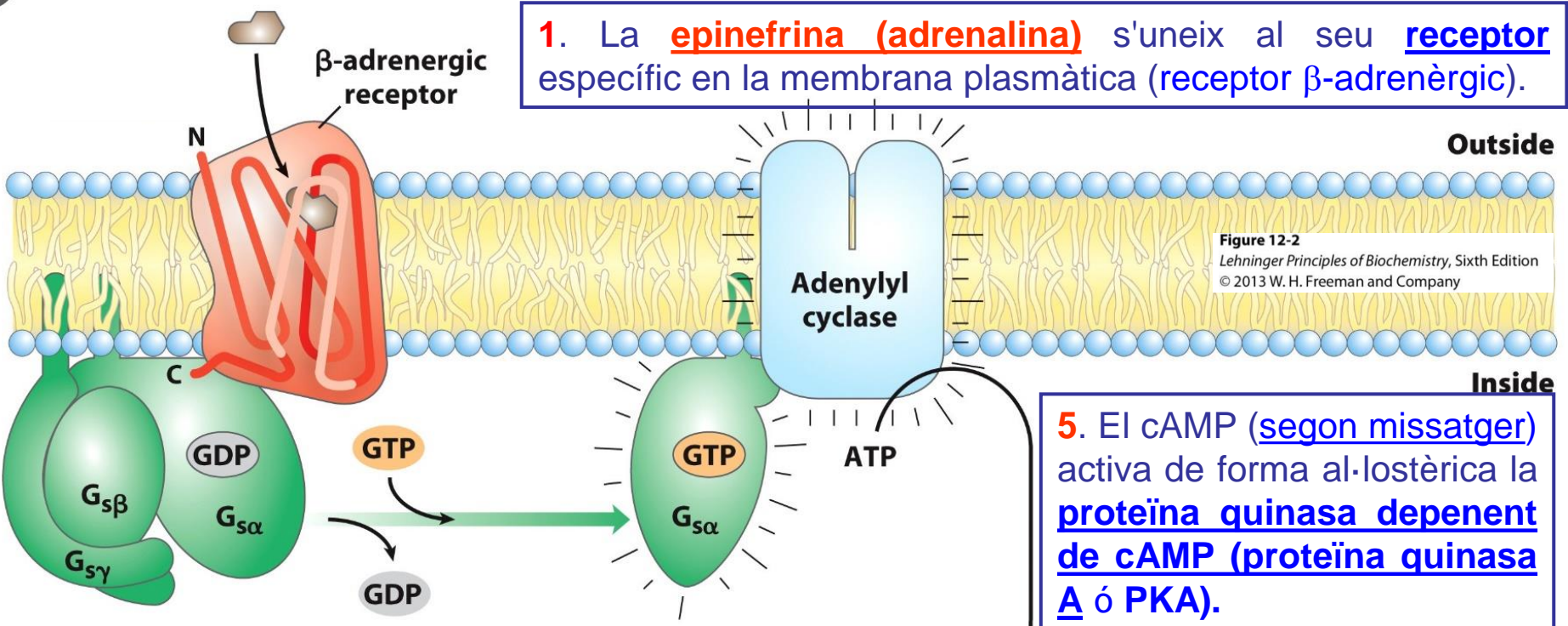
- Un receptor de membrana plasmàtica amb set segments transmembrana (receptor serpentina);
- Un enzim en el costat intern de la membrana plasmàtica que sintetitza un segon missatger intracel·lular;
- Una proteïna que uneix GTP (proteïna G), quan s'ocupa el receptor, i activa a l'enzim abans esmentat.



ADRENALINA: receptor β -adrenèrgic

1

1. La epinefrina (adrenalina) s'uneix al seu receptor específic en la membrana plasmàtica (receptor β -adrenèrgic).



2. La unió de l'hormona provoca un canvi conformational en el domini intracel·lular del receptor que afecta a la proteïna G i produeix l'intercanvi de GDP per GTP i l'activació de la proteïna G.

3. La proteïna G activa (GTP) s'uneix i activa a un enzim associat a la membrana plasmàtica, l'adenilat ciclase (AC).

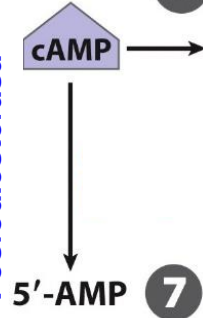
4. L'adenilat ciclase catalitza la síntesi de cAMP a partir d'ATP.

5. El cAMP (segon missatger) activa de forma al·lostèrica la proteïna quinasa dependent de cAMP (proteïna quinasa A ó PKA).

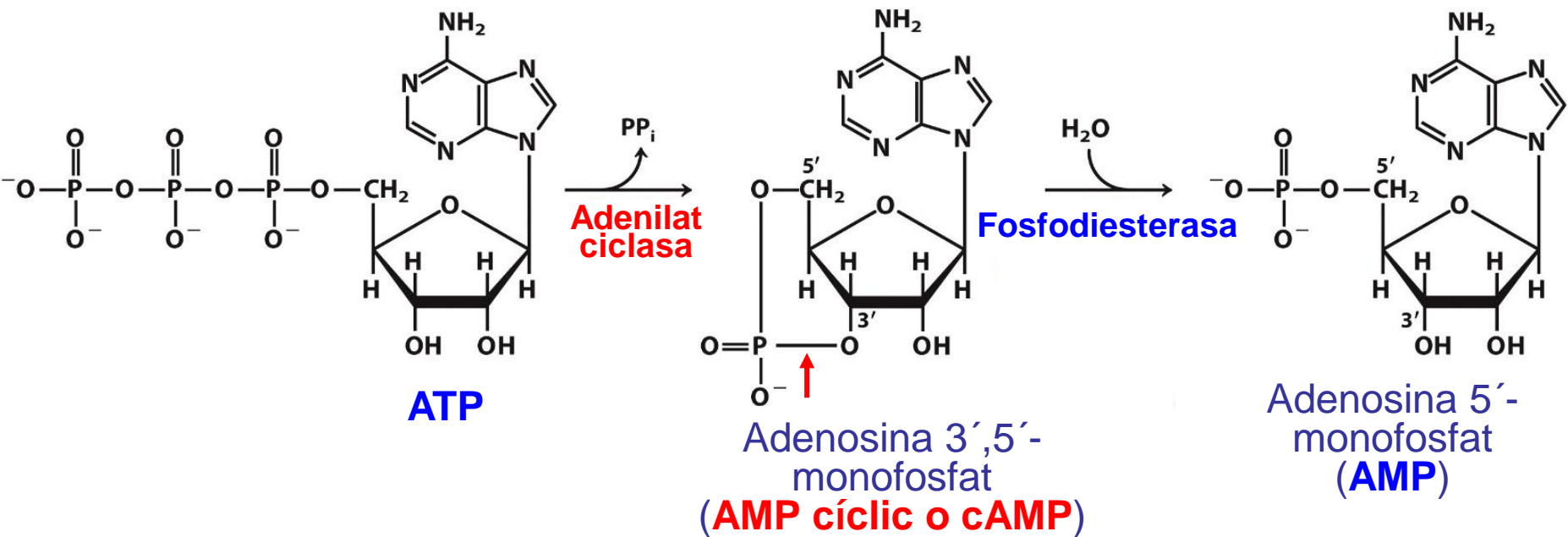
6. La PKA fosforila residus de **Ser** y/o **Thr** en diferents proteïnes i en modifica l'activitat.

7. El cAMP s'hidrolitza fins a 5'-AMP per la fosfodiesterasa.

Fosfodiesterasa



↑ PKA → (Ser/Thr)-O-P

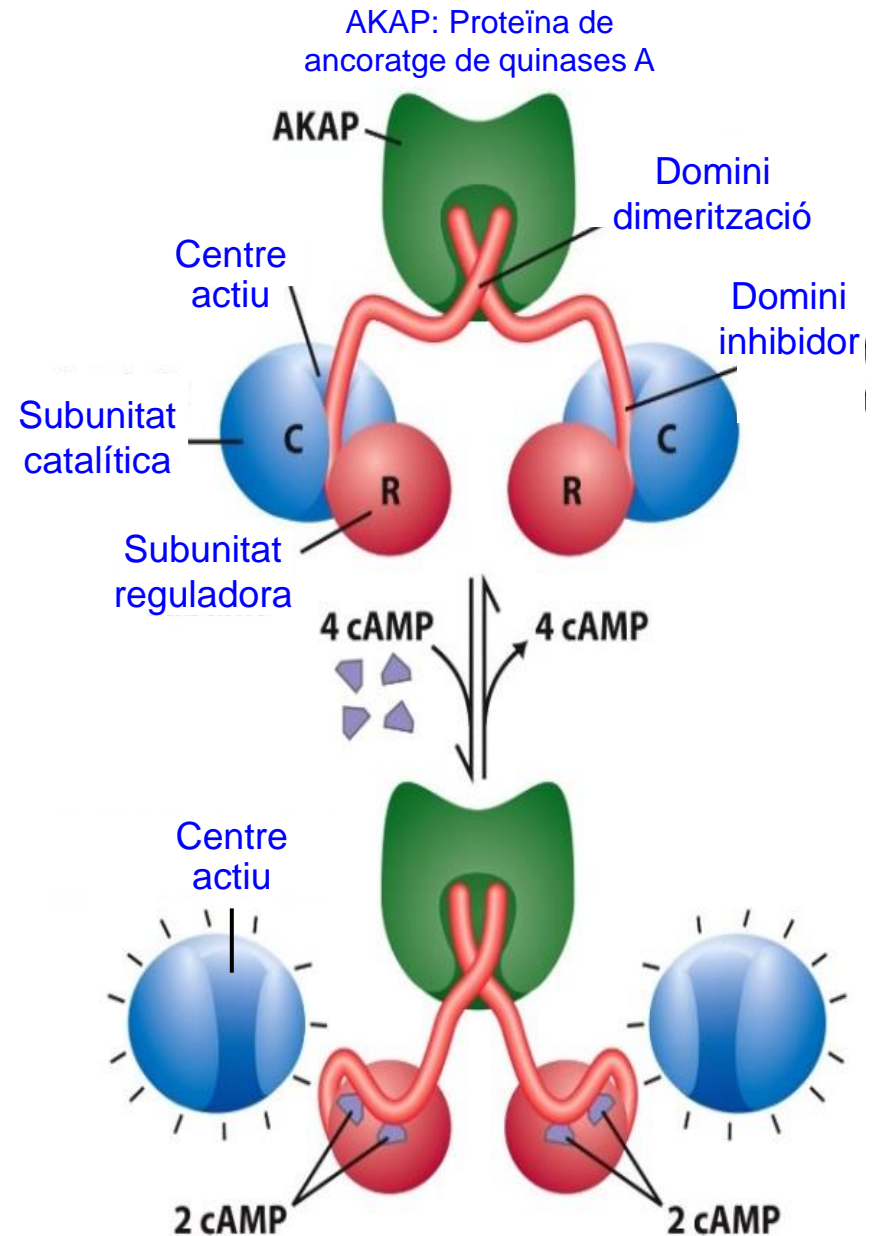


Activació de la PKA per cAMP

PKA inactiva: tetràmer format per 2 subunitats catalítiques (C) i 2 subunitats reguladores (R).

Les subunitats catalítiques són inactives quan estan unides a les subunitats reguladores (els centres actius estan bloquejats pel domini inhibidor de les subunitats reguladores).

La unió de l'AMPc a les subunitats reguladores (2 molècules cAMP/subunitat) provoca la dissociació entre subunitats C i R. Així, el lloc actiu de les subunitats catalítiques queda lliure per a la unió del substrat (**PKA activa**).



Enzims regulats per fosforilació dependent de cAMP i PKA

TABLE 12-2 Some Enzymes and Other Proteins Regulated by cAMP-Dependent Phosphorylation (by PKA)

Enzyme/protein	Sequence phosphorylated*	Pathway/process regulated
Glycogen synthase	RA S CTSSS	Glycogen synthesis
Phosphorylase <i>b</i> kinase α subunit β subunit	VEFRRL S I RTKR S GSV	Glycogen breakdown
Pyruvate kinase (rat liver)	GVLRRAS V AZL	Glycolysis
Pyruvate dehydrogenase complex (type L)	GYLRRAS V	Pyruvate to acetyl-CoA
Hormone-sensitive lipase	PMRR S V	Triacylglycerol mobilization and fatty acid oxidation
Phosphofructokinase-2/fructose 2,6-bisphosphatase	LQRRRG S SIPQ	Glycolysis/gluconeogenesis

Table 12-2
Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

Efecte del cAMP en diferents teixits

Teixit adipós

Activa la hidròlisi de triacilglicerols
Activa la β-oxidación d'àcids grassos

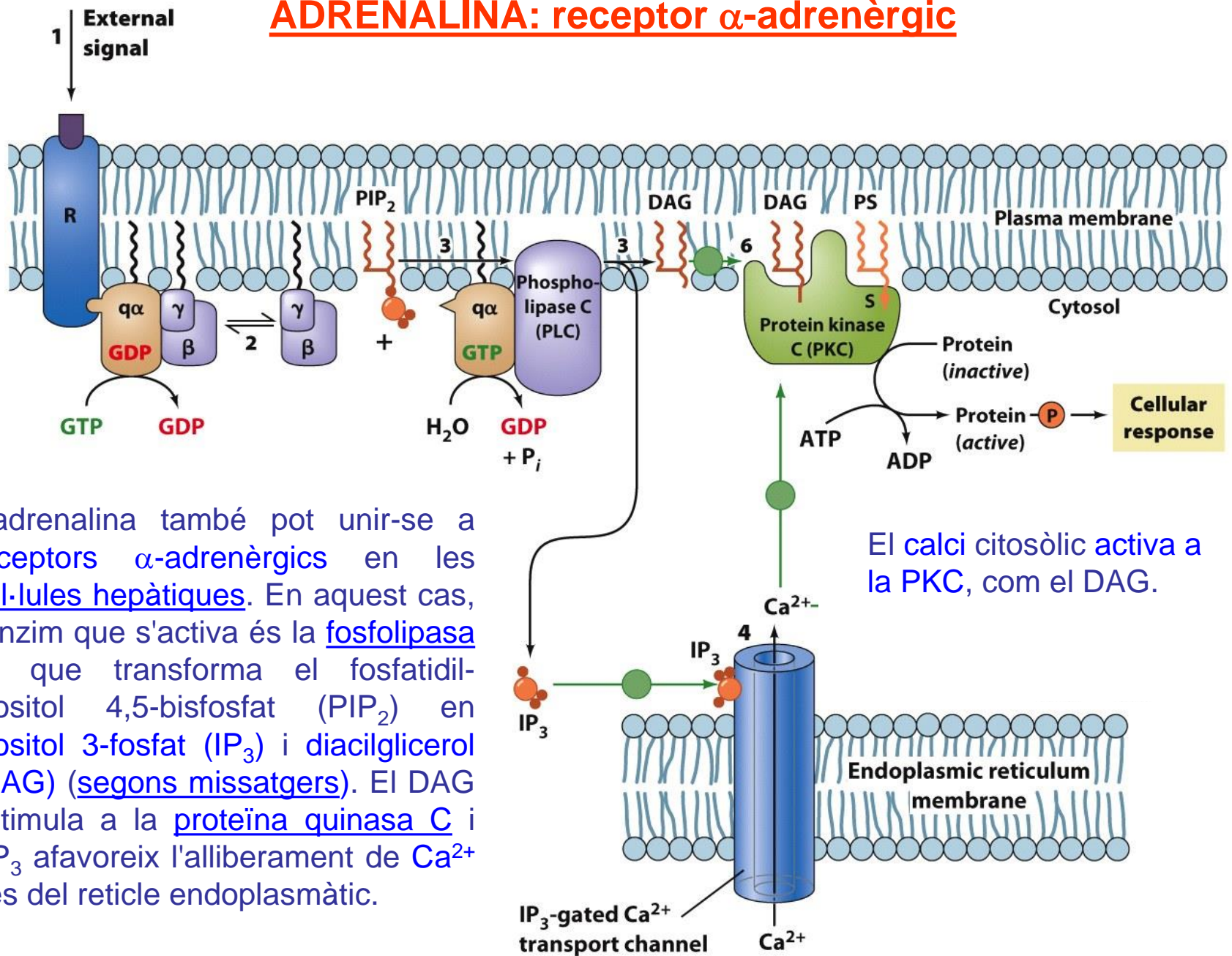
Fetge

Activa la degradació de glucogen a glucosa
Inhibeix la síntesi de glucogen
Inhibeix la glucòlisi
Activa la gluconeogènesi

Múscul

Activa la degradació de glucogen a glucosa
Activa la glucòlisi

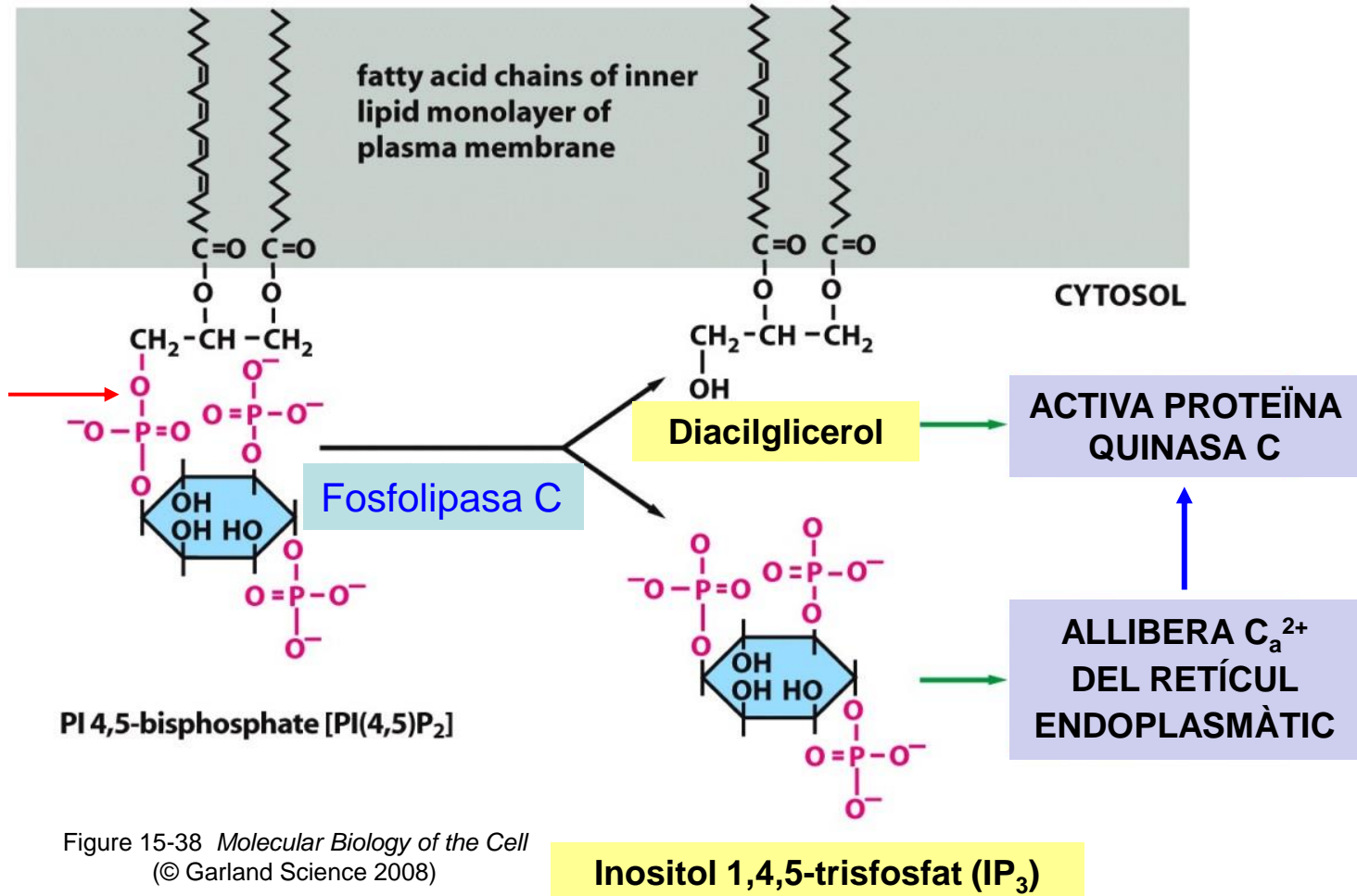
ADRENALINA: receptor α -adrenèrgic



L'adrenalina també pot unir-se a receptors α -adrenèrgics en les cèl·lules hepàtiques. En aquest cas, l'enzim que s'activa és la fosfolipasa C, que transforma el fosfatidilinositol 4,5-bisfosfat (PIP₂) en inositol 3-fosfat (IP₃) i diacilglicerol (DAG) (segons missatgers). El DAG estimula a la proteïna quinasa C i l'IP₃ afavoreix l'alliberament de Ca²⁺ des del reticle endoplasmàtic.

El calci citosòlic activa a la PKC, com el DAG.

Figure 19-54



La proteïna quinasa C (com la PKA) fosforila residus de **Ser** y/o **Thr** en diferents proteïnes i en modifica la activitat. Per tant, la unió de l'adrenalina als receptors α produeix els mateixos efectes metabòlics que la seua unió a receptors β (mateixa hormona, diferents receptors, mateixos efectes metabòlics).

GLUCAGÓ

L'acció de l'hormona GLUCAGÓ en les cèl·lules dels teixits diana (fetge i teixit adipós) produeix la mateixa transducció de senyals intracel·lulars que l'epinefrina o adrenalina (quan s'uneix als receptors β -adrenèrgics): la unió del glucagó als seus receptors en la membrana plasmàtica produeix l'activació de l'adenilat ciclase, la síntesi d'AMPc i l'activació de la proteïna quinasa A (PKA).

Per això, glucagó i epinefrina (adrenalina), encara que secretades en resposta a estímuls diferents (baixes concentracions de glucosa en sang o situacions d'estrès, respectivament), produeixen els mateixos efectes metabòlics.

ENZIMS RECEPTORS

- Domini d'unió específic per un lligant en la superfície extracel·lular de la membrana plasmàtica;
- Domini transmembrana
- Domini amb activitat enzimàtica en el costat citosòlic.

Ex. Receptors amb activitat tirosina quinasa

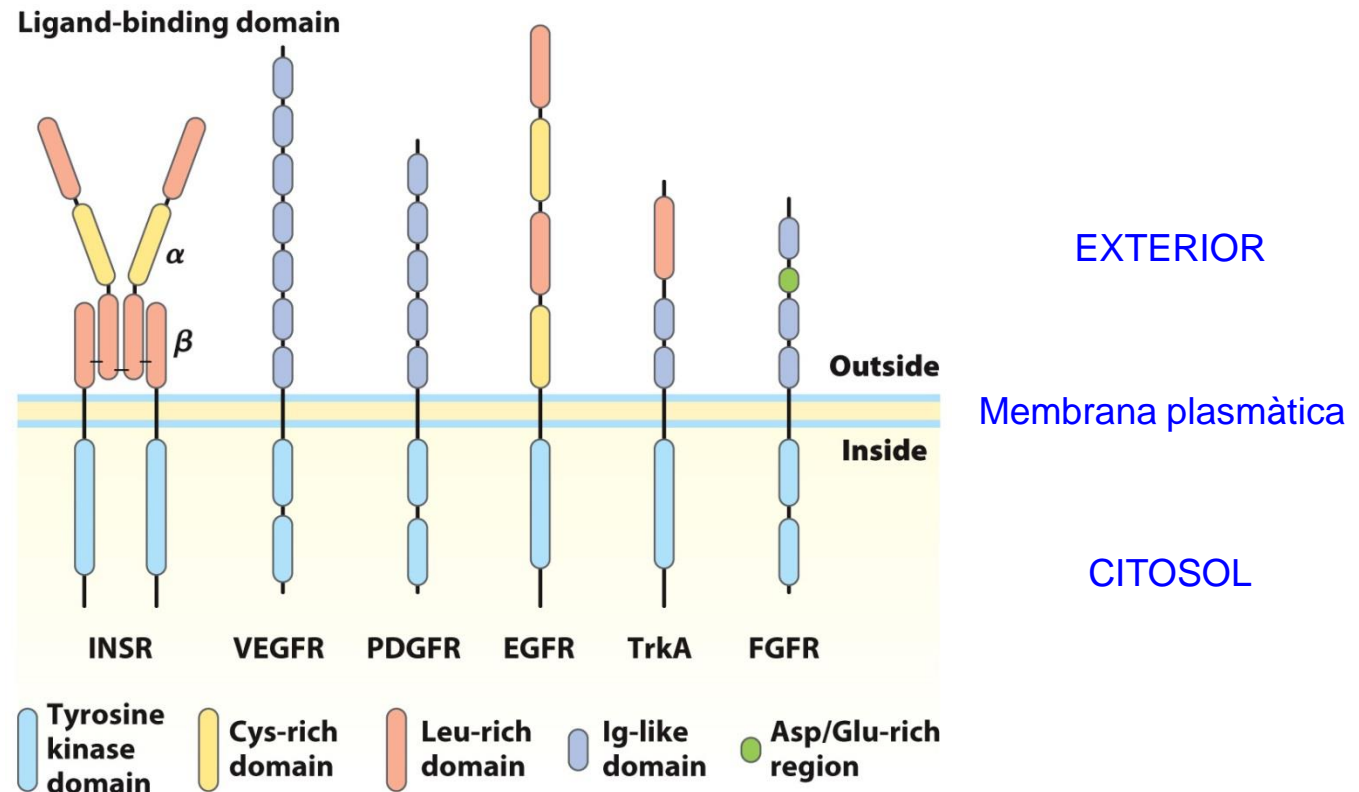


Figure 12-21
Lehninger Principles of Biochemistry, Seventh Edition
© 2017 W. H. Freeman and Company

Receptor d'INSULINA

2 cadenes α (unió de la insulina) i 2 cadenes β (domini extracel·lular de unió a les cadenas α , domini transmembrana i domini intracel·lular (citosòlic) amb activitat tirosina quinasa.

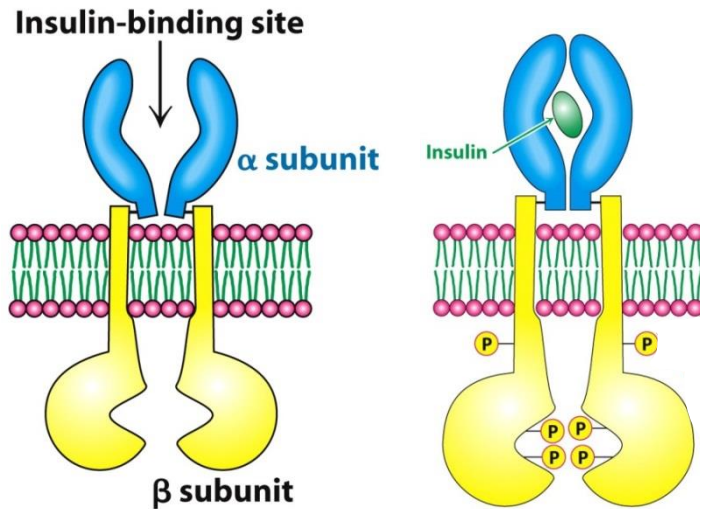
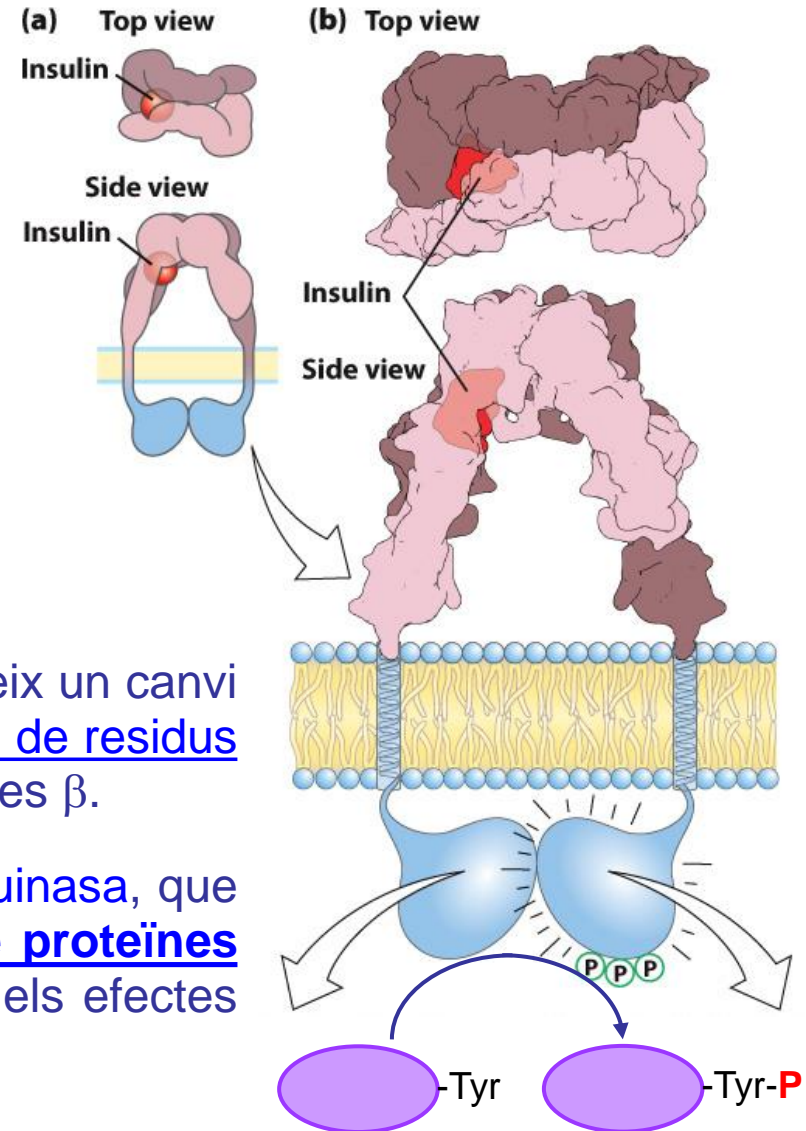


Figure 14.19
Biochemistry, Seventh Edition
© 2012 W. H. Freeman and Company

- La unió de la insulina a les cadenes α produeix un canvi conformacional que origina la autofosforilació de residus de tirosina en el domini citosòlic de les cadenes β .
- La autofosforilació activa el domini tirosina quinasa, que al seu torn catalitza la fosforilació (Tyr) de proteïnes diana, en modifica l'activitat i desencadena els efectes metabòlics que caracteritzen a la insulina.

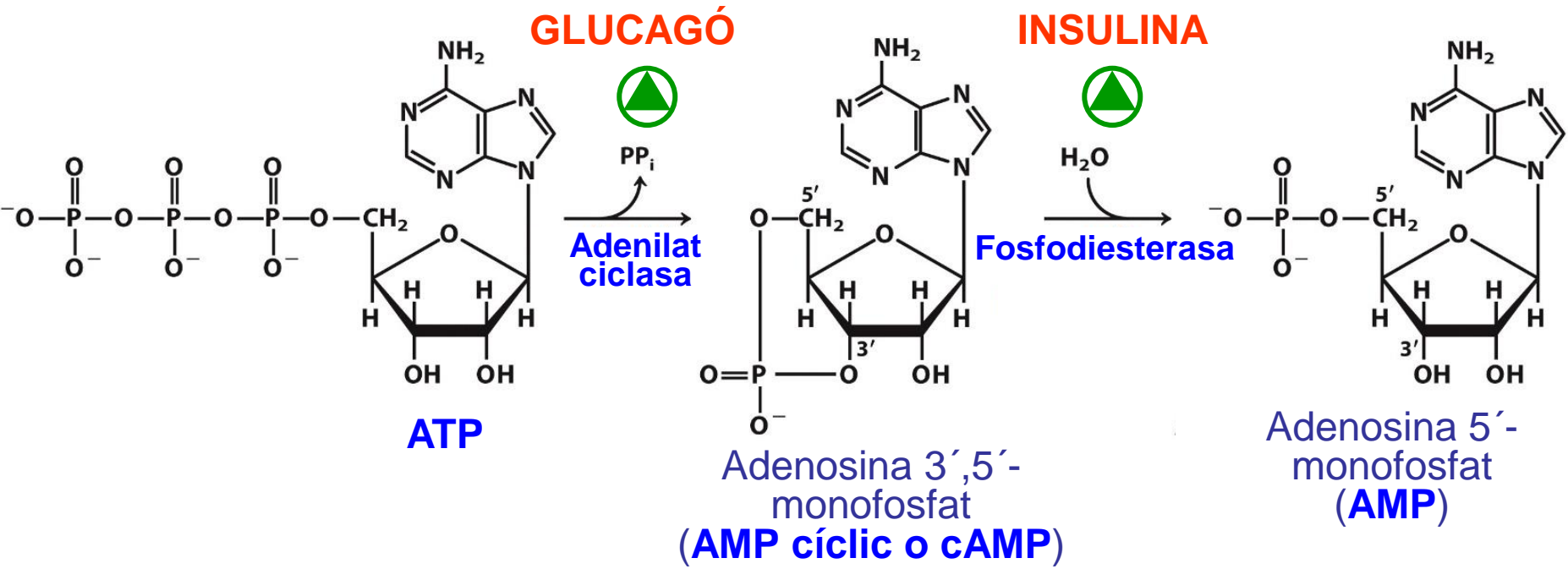


Altres efectes de la insulina:

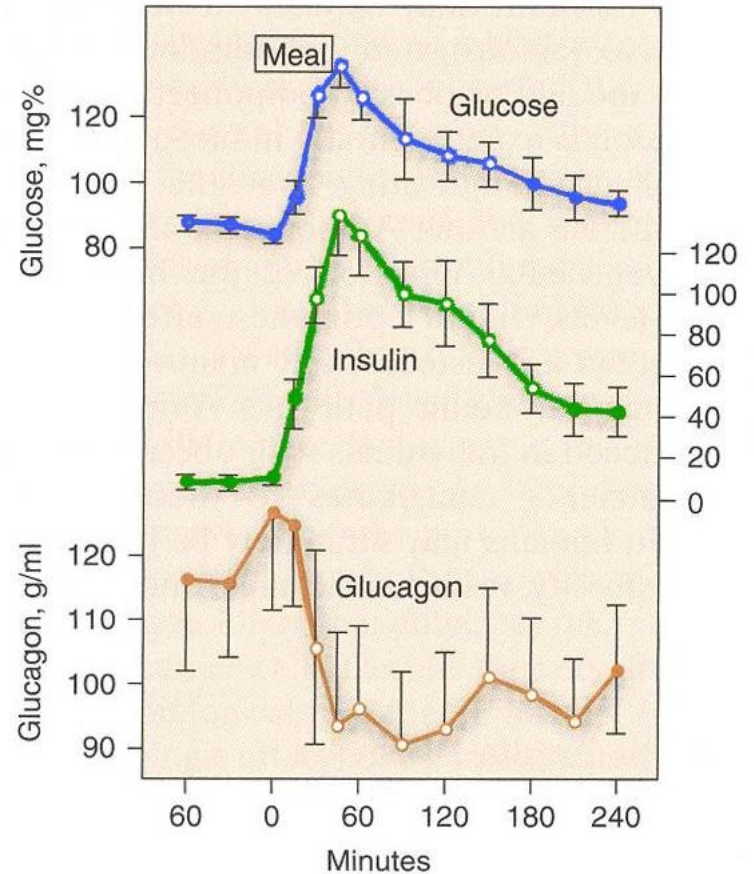
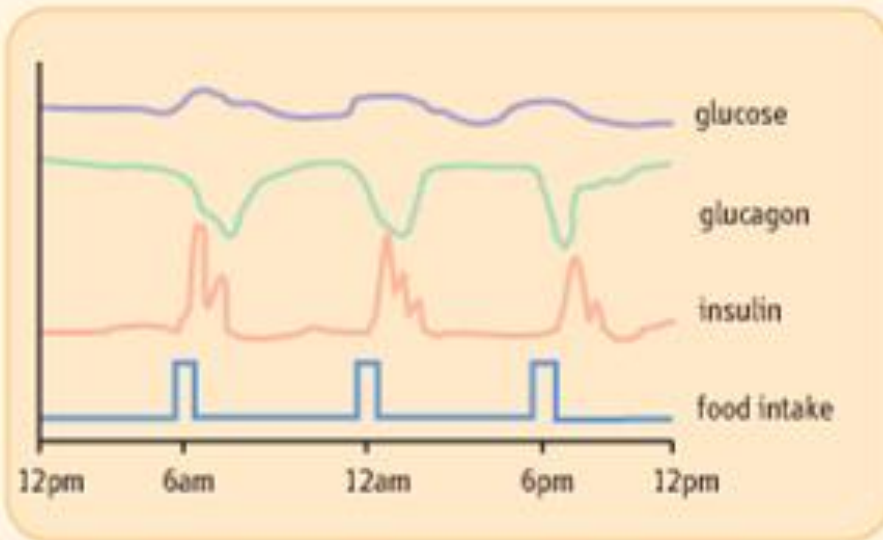
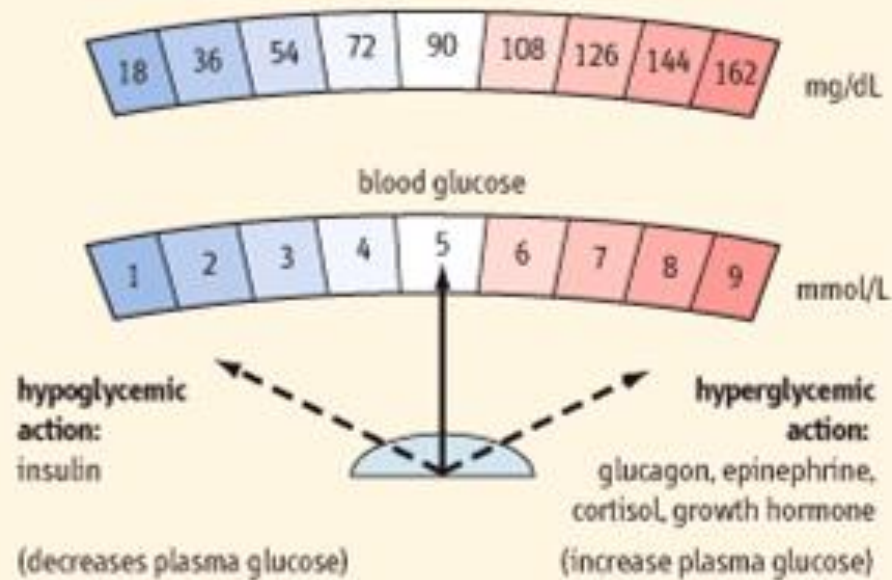
- Activa la fosfodiesterasa, enzim que hidrolitza el cAMP fins a 5'-AMP (sense activitat com a segon missatger). El resultat és la disminució dels nivells de cAMP, i per tant una menor activitat de la proteïna quinasa A (PKA).
- Activa a la fosfoproteïna fosfatasa 1 (PP1), enzim que catalitza la desfosforilació d'un gran nombre d'enzims regulats per fosforilació. Per tant els efectes de la insulina poden estar produïts tant per fosforilació (Tyr) com per desfosforilació (Ser/Thr) de proteïnes o enzims diana.

La insulina produeix efectes oposats als del glucagó

- Disminució dels nivells de cAMP (produït en resposta al glucagó) i de la activitat PKA (menor fosforilació de enzims).
- Desfosforilació (via PP1) de enzims fosforilats en Ser/Thr per la PKA (activada per cAMP en resposta al glucagó).



Hormonal control of glucose homeostasis



Relació Insulina/glucagó

- Ben alimentat: 0.5
- 12 h post-absorció: 0.15
- Dejuni 3 dies: 0.05

La insulina també regula l'expressió gènica

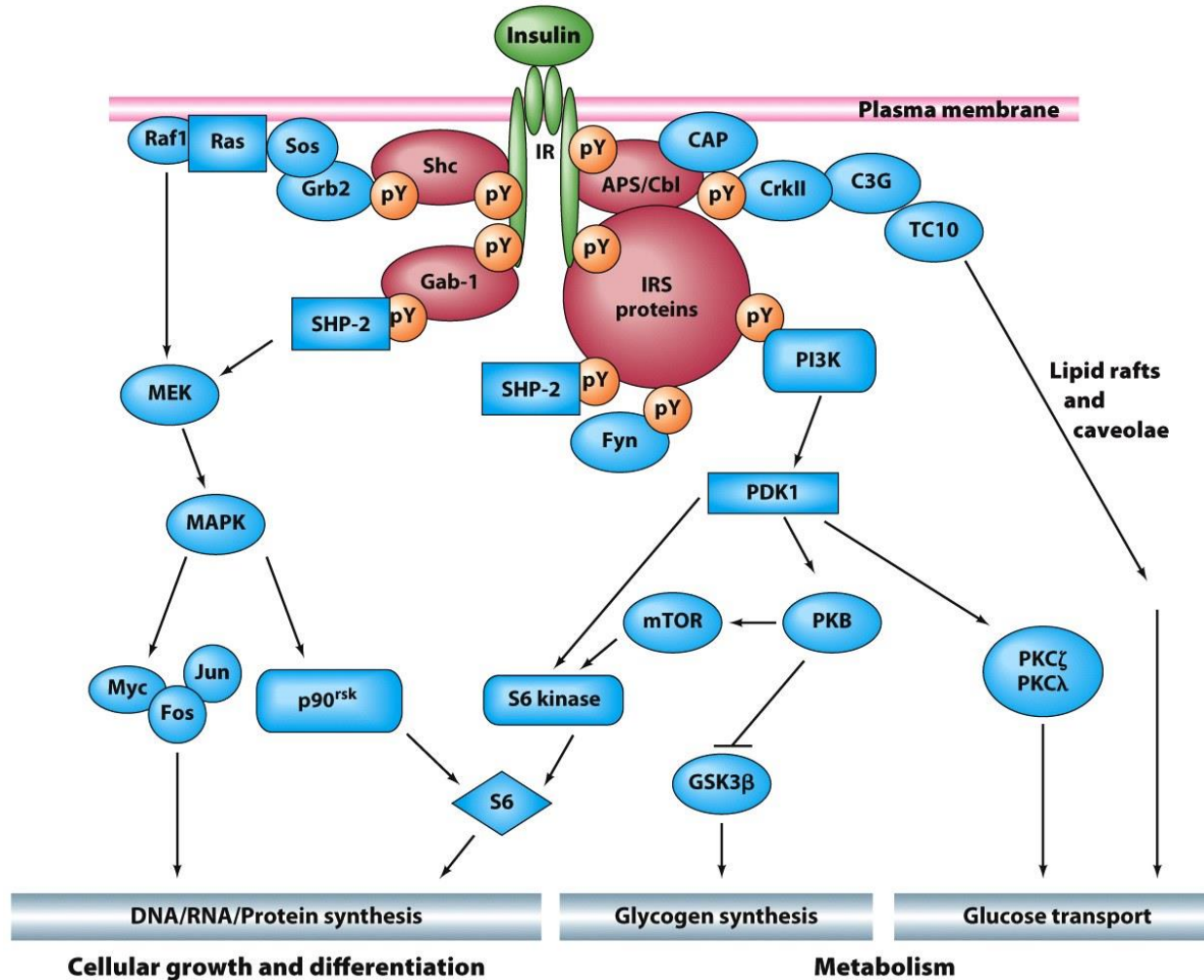


Figure 19-67
© John Wiley & Sons, Inc. All rights reserved.

La unió de la insulina al seu receptor (IR) indueix la fosforilació de proteïnes en tirosina (pY) i desencadena una cascada de fosforilacions que regulen l'expressió de gens implicats en el creixement i diferenciació cel·lulars, la síntesi de glucogen o el transport de glucosa.

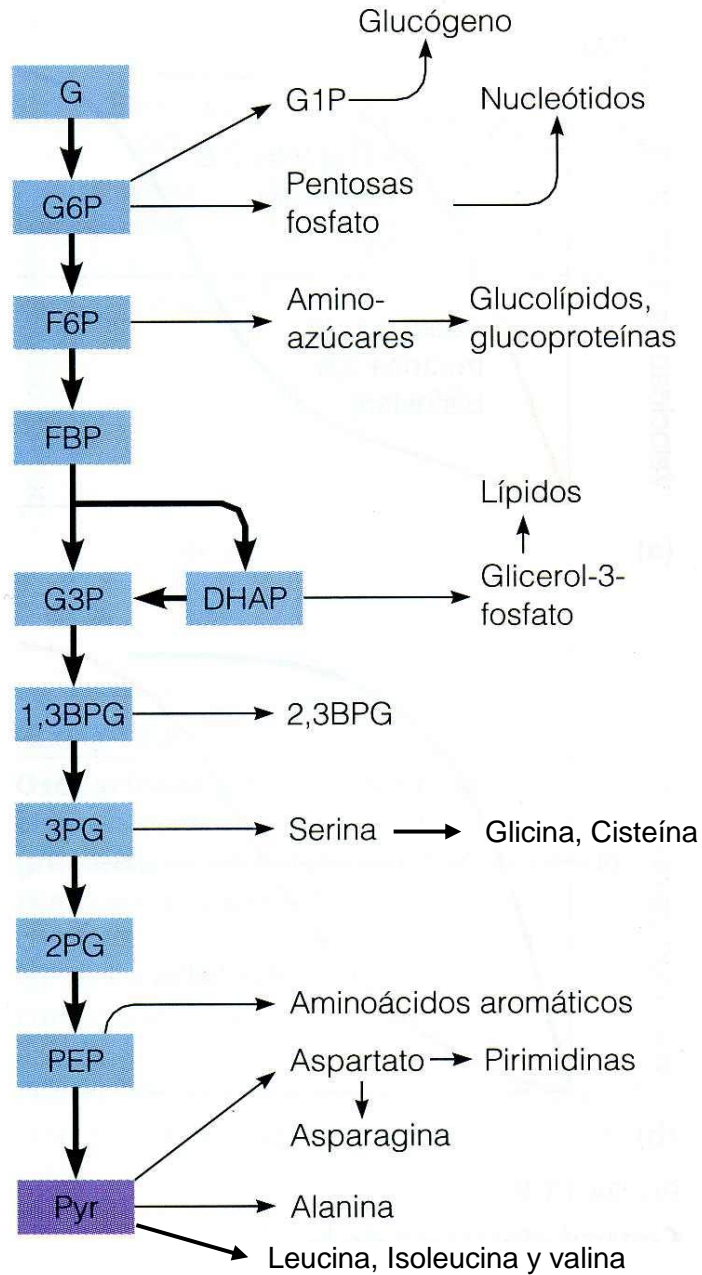
TEMA 14. GLUCÒLISI

- 1. Introducció al metabolisme glucídic.**
- 2. Glucòlisi.**
- 3. Regulació de la via glucolítica.**
- 4. Entrada d'altres substrats en la glucòlisi.**

INTRODUCCIÓ AL METABOLISME GLUCÍDIC

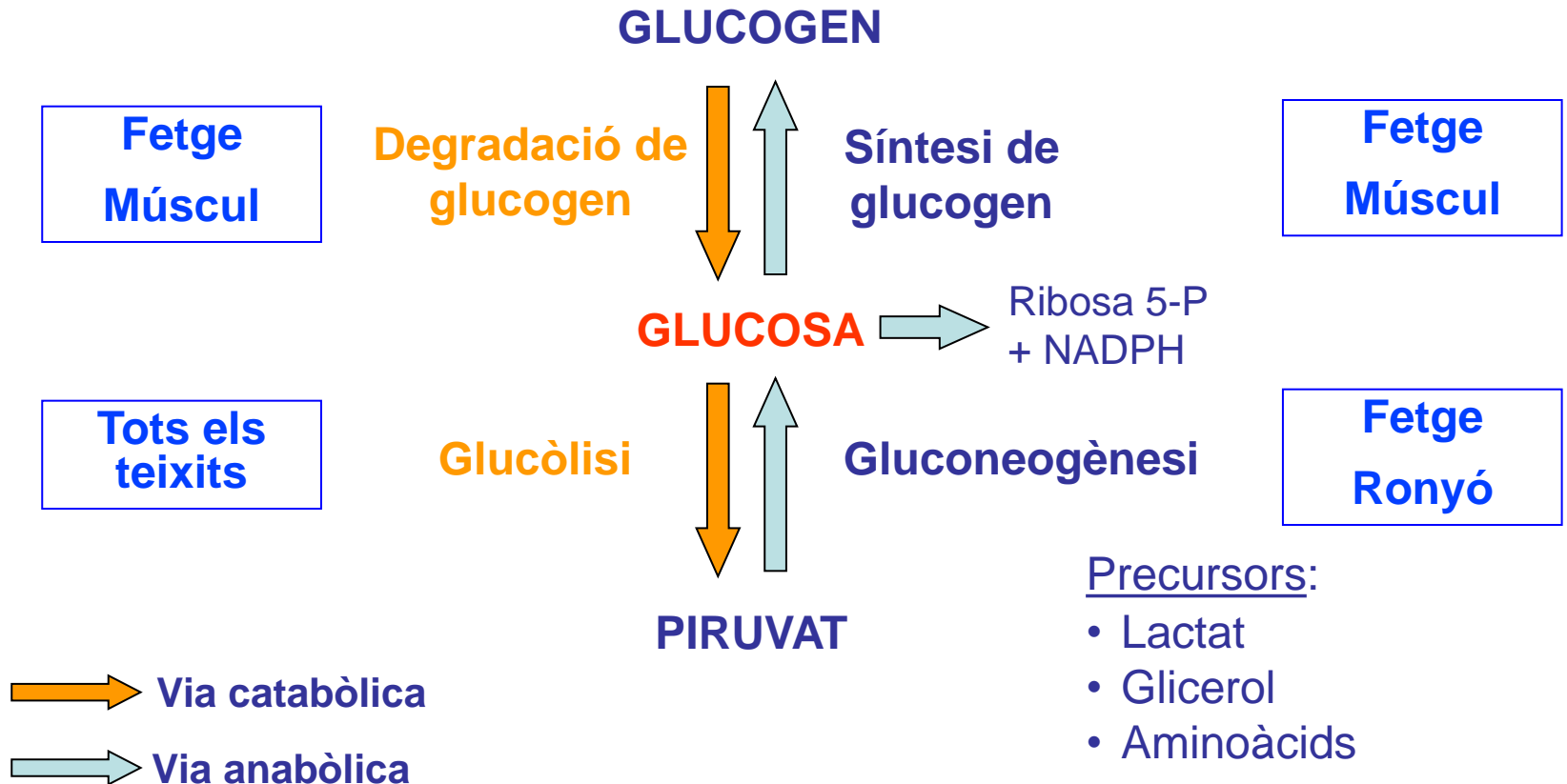
- ✦ La **D-glucosa** és el principal combustible metabòlic per a la majoria d'organismes. Imprescindible per a alguns teixits (cervell, SNC): les seues concentracions en plasma han de mantenir-se relativament constants (≈ 5 mM).
- ✦ És relativament **rica en energia potencial**: l'oxidació completa de la glucosa fins a CO_2 i H_2O és molt exergònica ($\Delta G \sim -2480$ kJ/mol) (equivalent a 81 ATPs, 31 ATPs reals).
- ✦ L'emmagatzematge de la glucosa en forma de polímers d'elevat pes molecular (midó o glucogen), permet a les cèl·lules emmagatzemar grans quantitats de glucosa mantenint una osmolaritat citosòlica relativament baixa. A més, quan les demandes energètiques augmenten, pot alliberar-se de forma molt ràpida a partir d'aquests polímers i utilitzar-se per sintetitzar ATP.
- ✦ La glucosa ocupa una posició central en el metabolisme. A més, és un precursor molt versàtil, proporcionant nombrosos intermediaris metabòlics per a reaccions biosintètiques.

La glucòlisi també genera precursors biosintètics



PRINCIPALS VIES METABOLIQVES DELS GLUCIDS

En animals i plantes superiors, la **glucosa** té tres **destinacions principals**: emmagatzematge (glucogen, midó, sacarosa), oxidació via glucòlisi fins a piruvat o oxidació a través de la via dels fosfats de pentosa.



GLUCÒLISI

Via universal d'obtenció d'energia a partir de la glucosa, consta de 10 reaccions que transformen una molècula de glucosa (6 C) en 2 molècules de piruvat (3 C), de manera que s'allibera part de l'energia de la glucosa en forma d'ATP i NADH.

A. Glucòlisi anaeròbia (fermentació làctica)

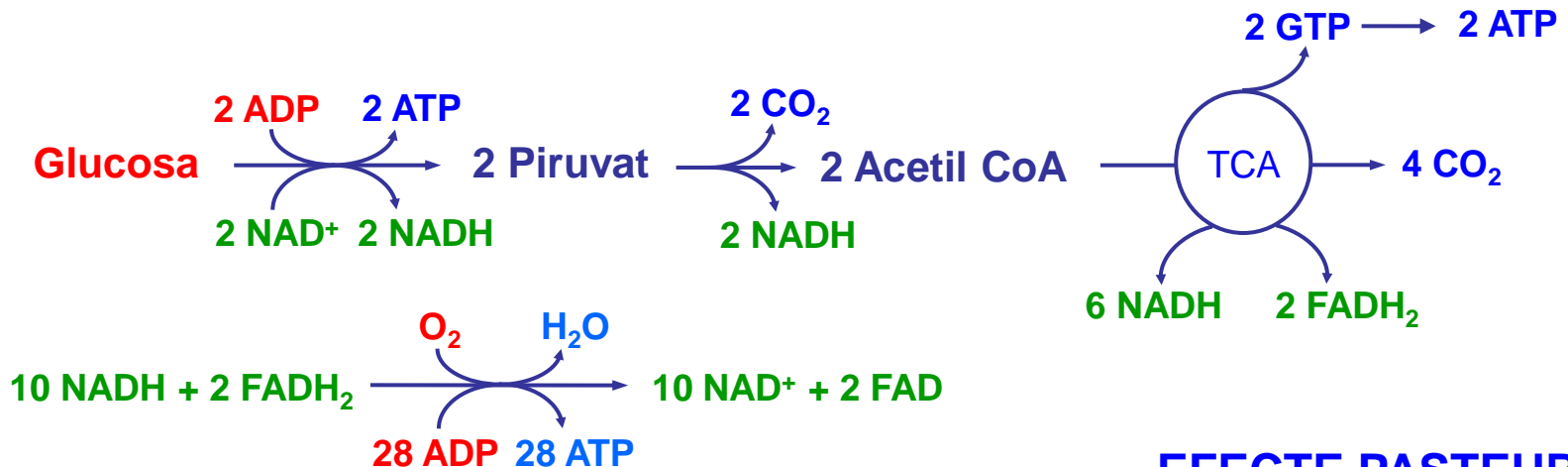


Balanç net: 2 mols ATP / mol glucosa

No hi ha suficient O_2 per a oxidar a la glucosa. El piruvat actua com a acceptor d'electrons per a regenerar el NAD^+ i permetre el funcionament de la glucòlisi.



B. Glucòlisi aeròbia: oxidació completa de la glucosa fins a CO_2 .



Balanç net: 31 mols ATP / mol glucosa

EFFECTE PASTEUR

El O_2 inhibeix la glucòlisi

Transportadors de glucosa (GLUTs)

Transport passiu o facilitat. No consumeix energia.
Ocorre a favor de gradient de concentració.
Saturable.

GLUT2 (Fetge i cèl·lules β pàncrees)

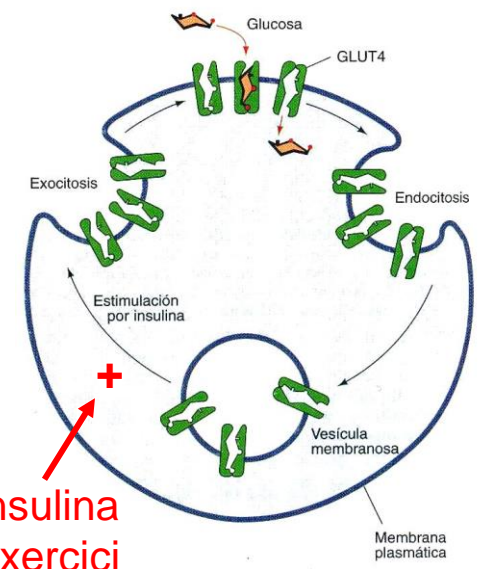
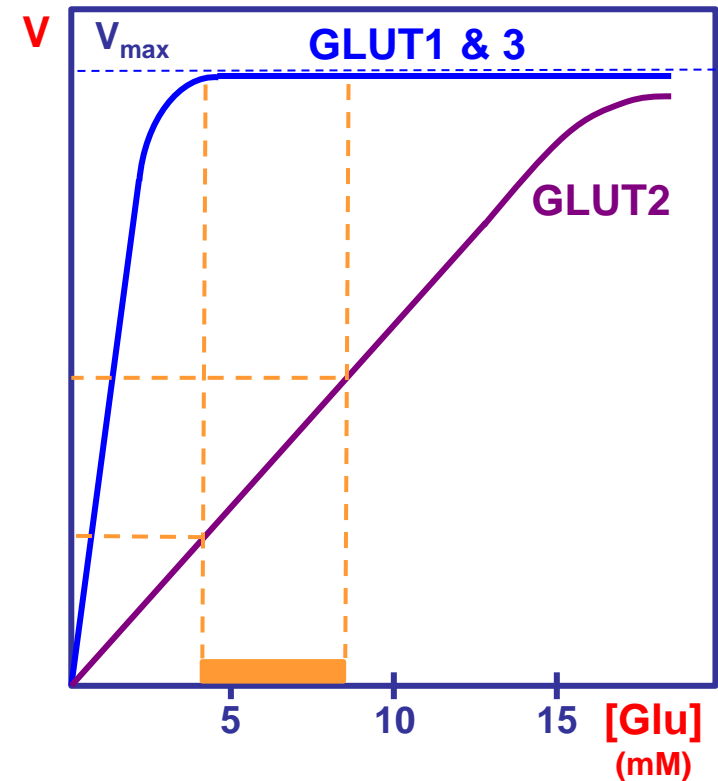
- $K_M \approx 15$ mM. K_M alta (baixa afinitat). No saturat.
- Velocitat proporcional a la concentració de glucosa en plasma: sensor de glucosa plasmàtica.

GLUT1 (Eritròcits) i GLUT3 (cervell, SNC).

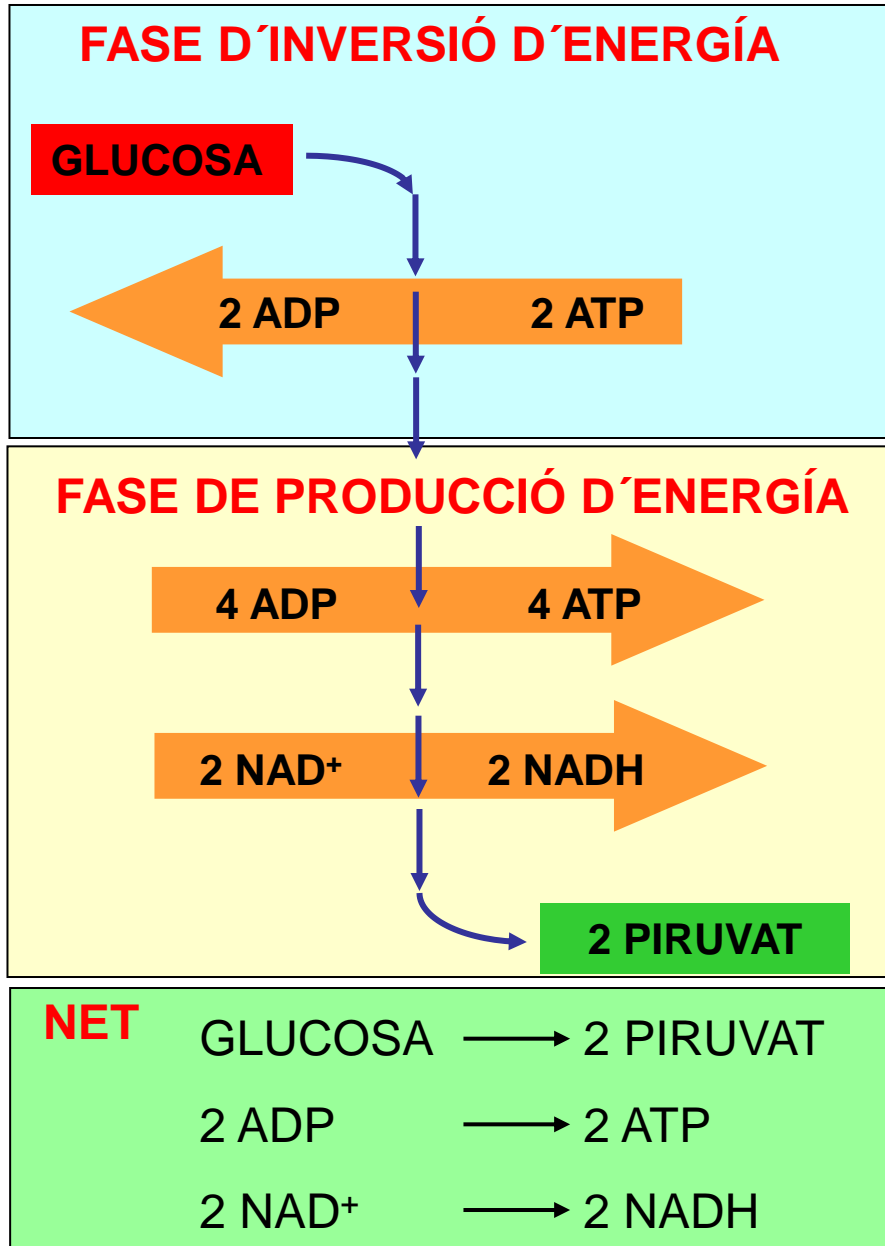
- $K_M \approx 1$ mM. K_M baixa (alta afinitat).
- Funcionen sempre a velocitat alta (\approx màxima).

GLUT4 (Múscul esquelètic y teixit adipós)

- Sensible a insulina i exercici físic.
- En absència d'insulina (**baixa glucèmia**) o en **repós** (múscul esquelètic) es localitza en vesícules intracel·lulars (endocitosi): poca captació de glucosa.
- En presència d'insulina (**alta glucèmia**) o amb l'**exercici físic** es relocalitza a la membrana plasmàtica (exocitosi): augmenta la captació de glucosa.



Glucòlisi: localització i estratègia química



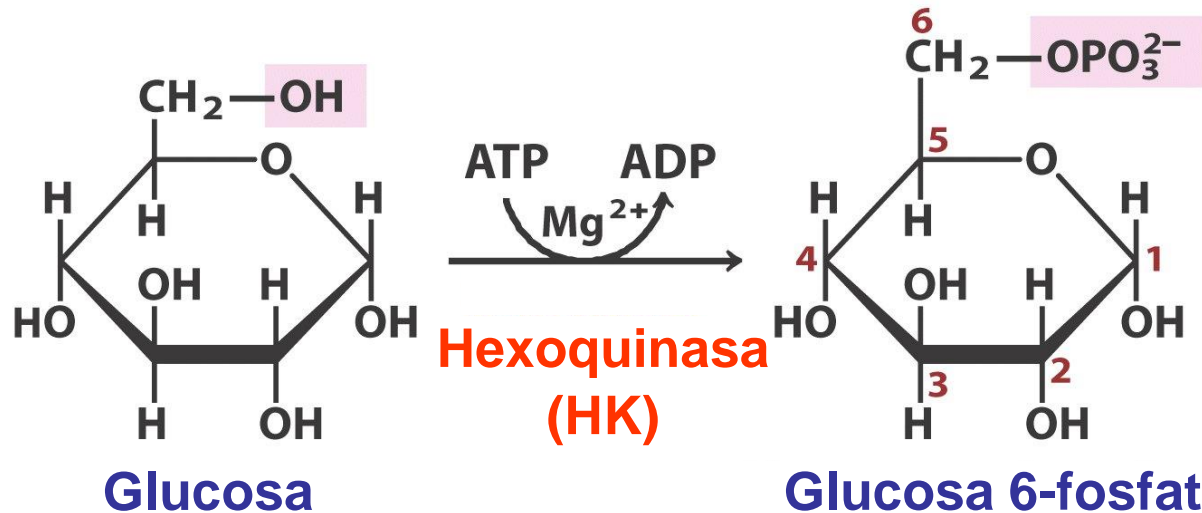
Localització tissular i subcel·lular:
transcorre en el citoplasma de
TOTES les cèl·lules (vía universal).

Estratègia química:

1. Afegir grups fosfat a la glucosa (fase d'inversió d'energia).
2. Convertir els intermediaris fosforilats en compostos amb elevat potencial de transferència del grup fosfat.
3. Acoblar químicament la hidròlisi d'aquests compostos fosforilats a la síntesi d'ATP (fase producció d'energia).

REACCIONS DE LA GLUCÒLISI

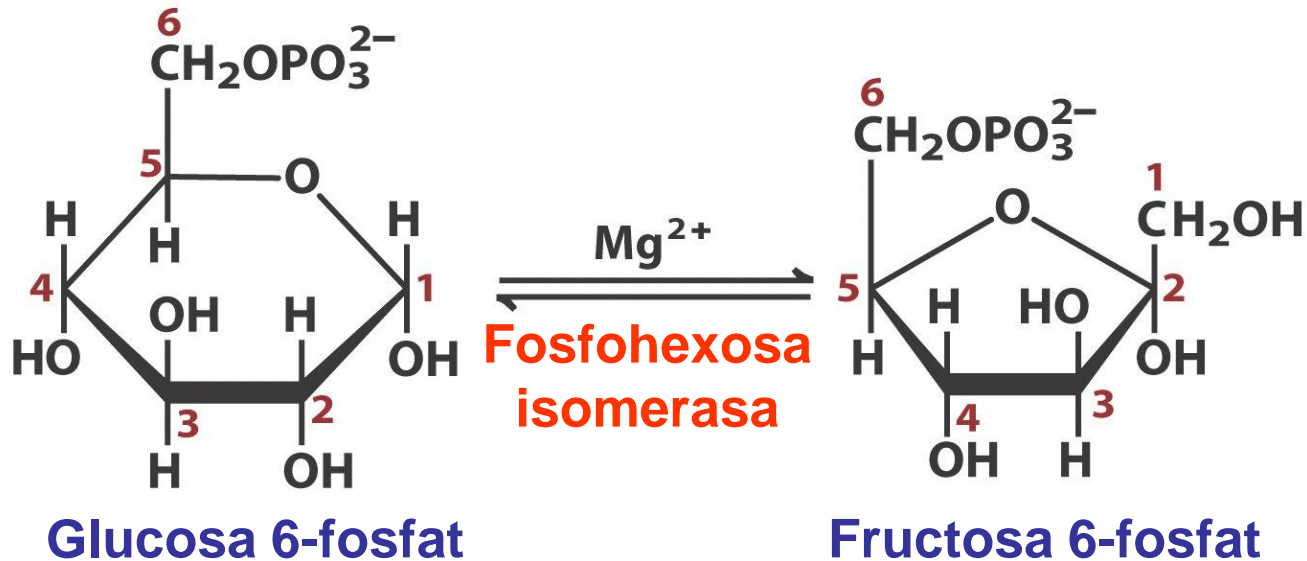
1. Fosforilació de la glucosa



$$\Delta G'^{\circ} = -16.7 \text{ kJ/mol}$$

- La hexoquinasa és una transferasa: transfereix un grup fosfat (quinasa) des de l'ATP fins a la glucosa (OH en C6).
- Primera reacció irreversible de la glucòlisi.
- Primer consum d'ATP (fase d'inversió d'energia).

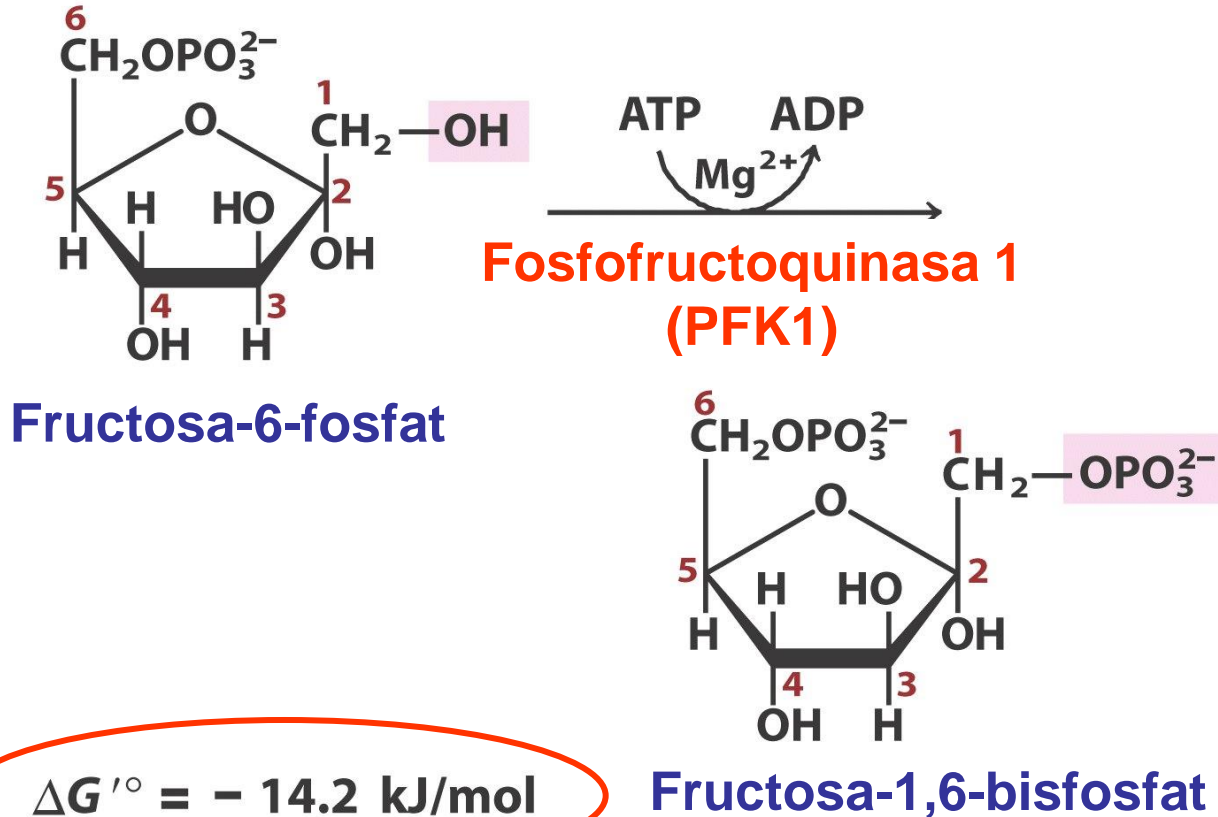
2. Isomerització glucosa 6-fosfat a fructosa 6-fosfat



$$\Delta G'^{\circ} = 1.7 \text{ kJ/mol}$$

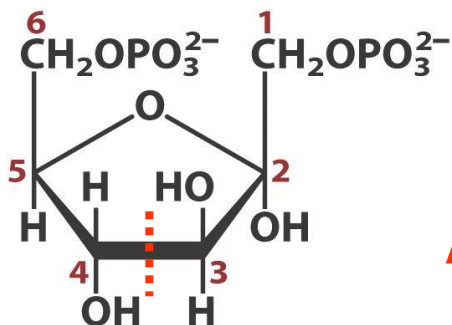
- Isomerasa: transforma una aldosa (glucosa) en una cetosa (fructosa).

3. Fosforilació de la fructosa-6-fosfat

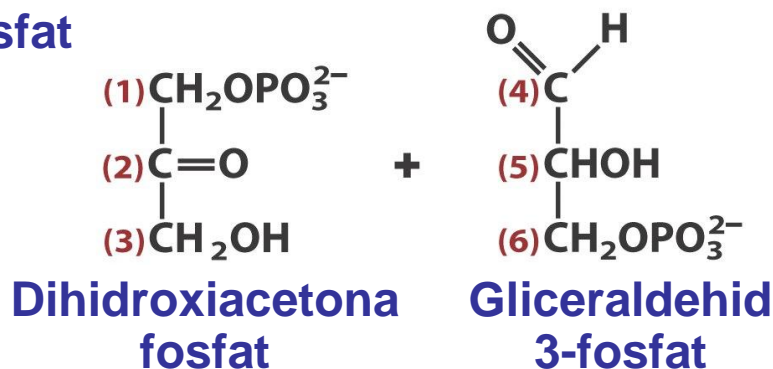


- La PFK1 es una transferasa: transfereix un grup fosfat des de l'ATP fins a la fructosa-6-fosfat (OH en C1).
- Segon consum d'ATP (fase d'inversió d'energia).
- Segona reacció irreversible de la glucòlisi. Reacció "decisiva" de la via. Pas limitant de velocitat o reacció generadora de flux en la via glucolítica.

4. Ruptura de la fructosa-1,6-bisfosfat



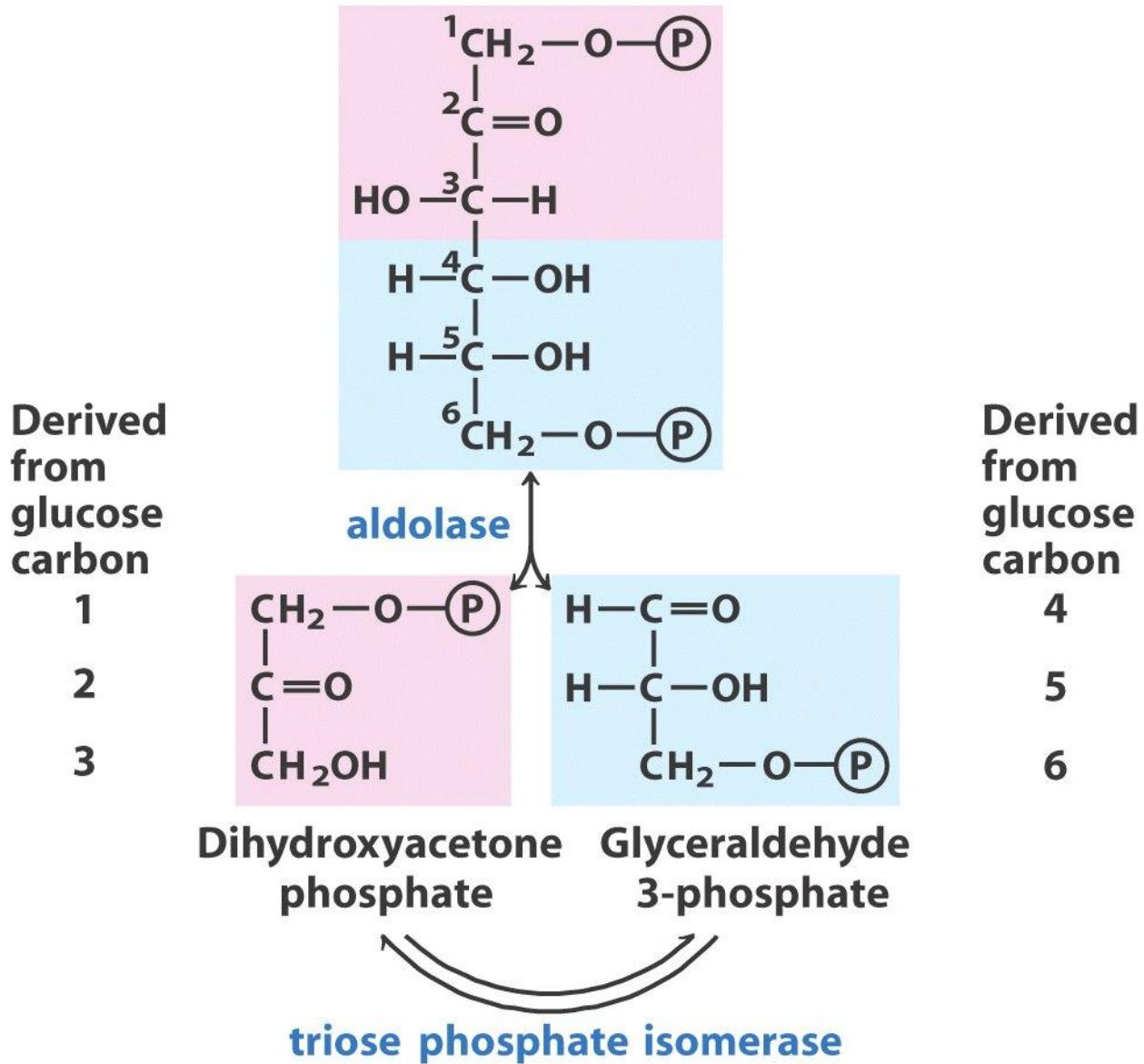
Fructosa-1,6-bisfosfat



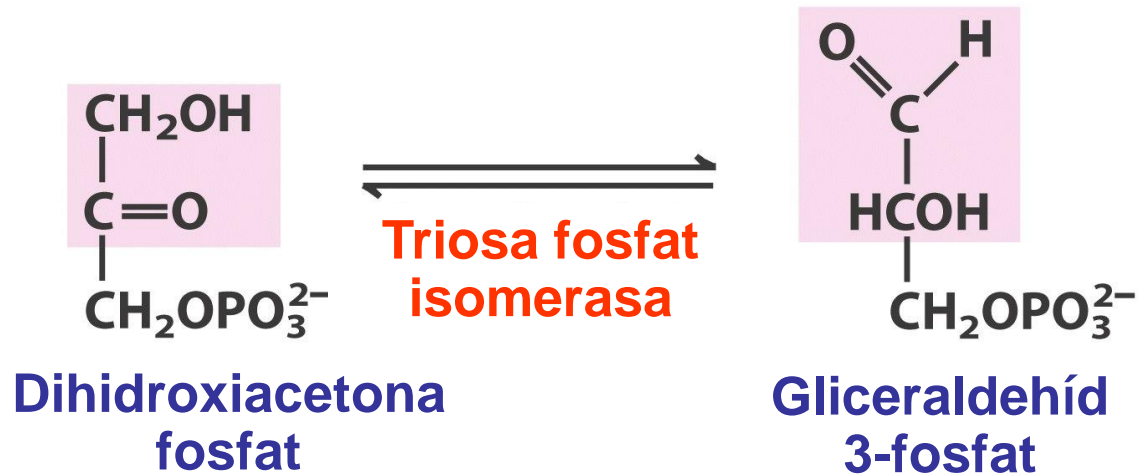
$\Delta G'^{\circ} = 23.8 \text{ kJ/mol}$

- Liasa: produeix la ruptura (aldólica) entre C3 i C4. Requereix de la presència d'un grup carbonil en C2 i un hidroxil en C4.
- Endergònica en condicions estàndard, però reversible en condicions fisiològiques.

Fructose 1,6-bisphosphate



5. Interconversió trioses fosfat



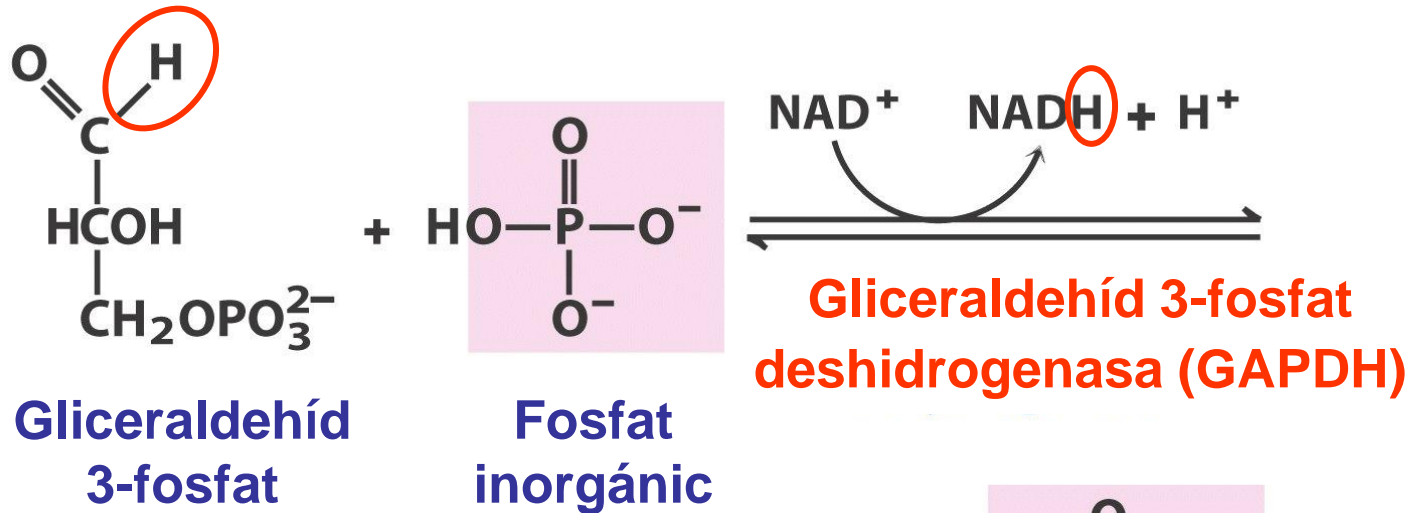
$$\Delta G'^{\circ} = 7.5 \text{ kJ/mol}$$

- Isomerasa: Transforma una cetosa en una aldosa.

BALANÇ PRIMERA FASE GLUCÒLISI

- ✚ La glucosa s'ha fosforilat en els carbonis 1 i 6 (amb inversió de 2 molècules d'ATP), per a després escindir-se en 2 i generar 2 molècules de gliceraldehid 3-fosfat. Per tant, les reaccions de la segona fase de la glucòlisi han de considerar-se per duplicat per al balanç global.
- ✚ Consum de 2 molècules d'ATP per molècula de glucosa (fase d'inversió d'energia).

6. Oxidació i fosforilació del gliceraldehíd-3-fosfat



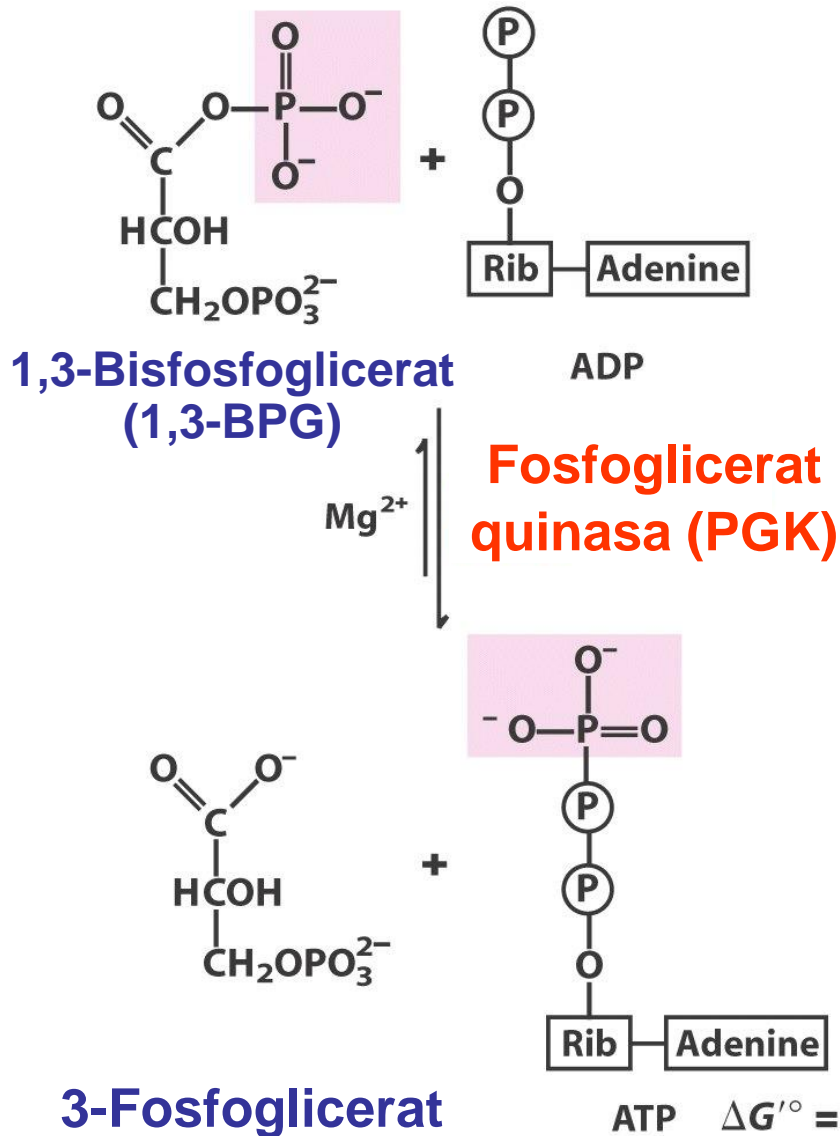
$$\Delta G'^{\circ} = 6.3 \text{ kJ/mol}$$

1,3-Bisfosfoglicerat (1,3-BPG)

Fosforilació sense consum d'ATP (endergònica) impulsada per la oxidació del gliceraldehíd 3-fosfat (exergònica).

- La GAPDH és una oxidorreductasa (deshidrogenasa) que catalitza la deshidrogenació del substrat (C1 del gliceraldehíd 3-fosfat), i la transferència dels dos electrons juntament amb un protó (ió hidrur) fins al NAD^+ per formar NADH.
- Es la reacció de la glucòlisi en que es produeix l'oxidació neta de la glucosa, y es generen 4 equivalents de reducció (2 NADH) / molècula de glucosa.
- S'hi genera un compost d'alta energia o alt potencial de transferència del grup fosfat (1,3-BPG).

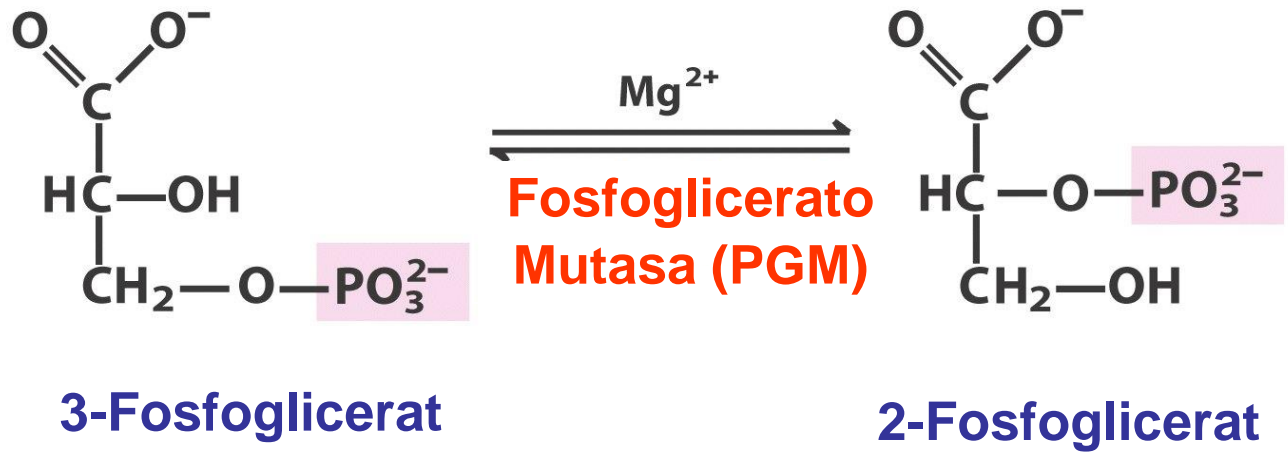
7. Fosforilació a nivell de substrat



- Transferasa: transferència d'un grup fosfat (quinasa) des del 1,3-BPG fins a l'ADP.

- Síntesi d'ATP (endergònica) acoblada a la hidròlisi del 1,3-BPG, compost amb un elevat potencial de transferència del grup fosfat (molt exergònica).

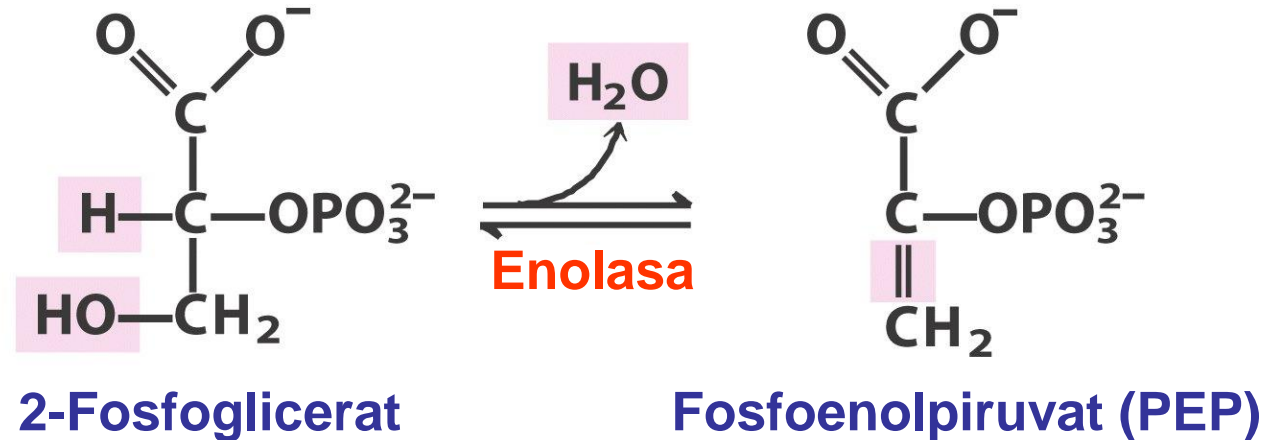
8. Isomerització



$$\Delta G'^{\circ} = 4.4 \text{ kJ/mol}$$

- Isomerasa: canvia la posició del grup fosfat de C3 a C2.

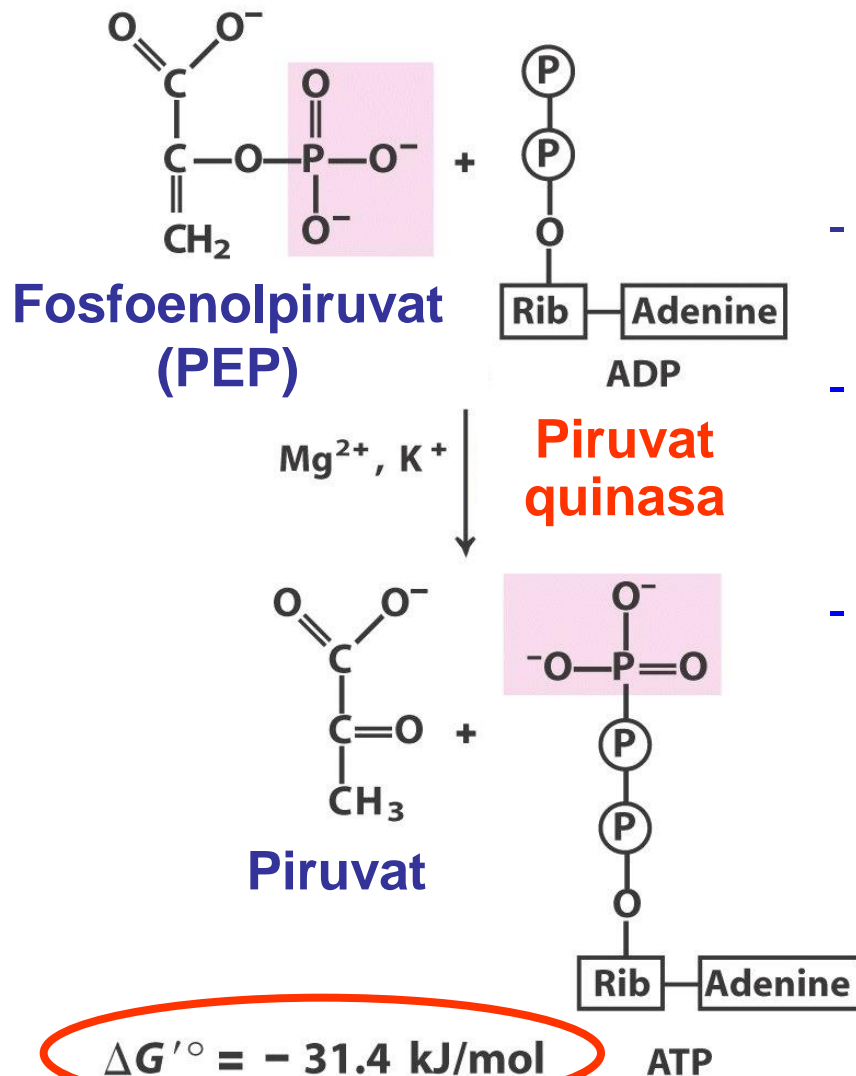
9. Deshidratació del 2-fosfoglicerat a fosfoenolpiruvat



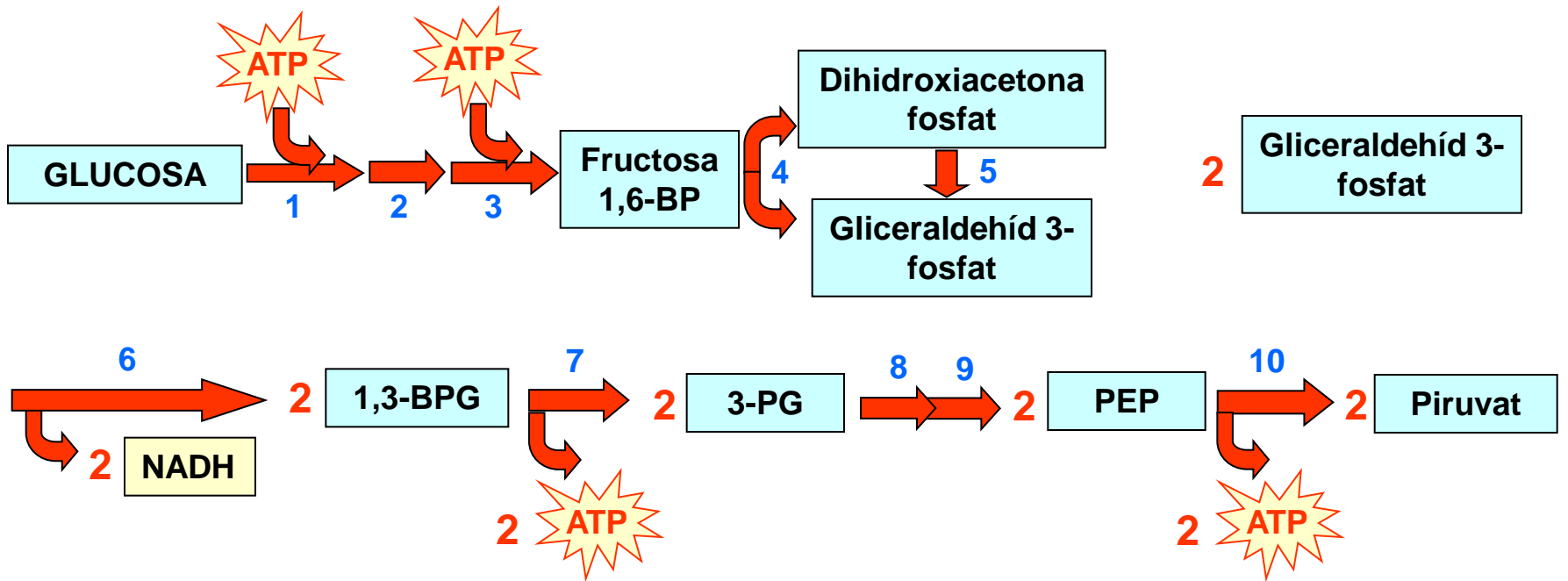
$$\Delta G'^{\circ} = 7.5 \text{ kJ/mol}$$

- Liasa: eliminació d'una molècula d'aigua (deshidratació) amb formació d'un doble enllaç.
- S'hi genera un compost d'alta energia o alt potencial de transferència del grup fosfat (PEP).

10. Fosforilació a nivell de substrat



- Tercera reacció irreversible (molt exergònica) de la glucólisis.
- Transferasa: transferència d'un grup fosfat (quinasa) des del PEP fins a l'ADP.
- Síntesi d'ATP (endergònica) acoblada a la hidròlisi del PEP, compost amb un elevat potencial de fosforilació (molt exergònica).



REGULACIÓ DE LA VIA GLUCOLÍTICA

VARIACIONS D'ENERGIA LLIURE DE LES REACCIONS DE LA VIA GLUCOLÍTICA

Table 17-1 $\Delta G^{\circ'}$ and ΔG of the Reactions of Glycolysis in Heart Muscle^a

Reaction	Enzyme	$\Delta G^{\circ'}$ (kJ · mol ⁻¹)	ΔG (kJ · mol ⁻¹)
1	HK	-20.9	-27.2 ←
2	PGI	+2.2	-1.4
3	PFK	-17.2	-25.9 ←
4	Aldolase	+22.8	-5.9
5	TIM	+7.9	~0
6 + 7	GAPDH + PGK	-16.7	-1.1
8	PGM	+4.7	-0.6
9	Enolase	-3.2	-2.4
10	PK	-23.0	-13.9 ←

^aCalculated from data in Newsholme, E.A. and Start, C., *Regulation in Metabolism*, p. 97, Wiley (1973).

Table 17-1

© John Wiley & Sons, Inc. All rights reserved.

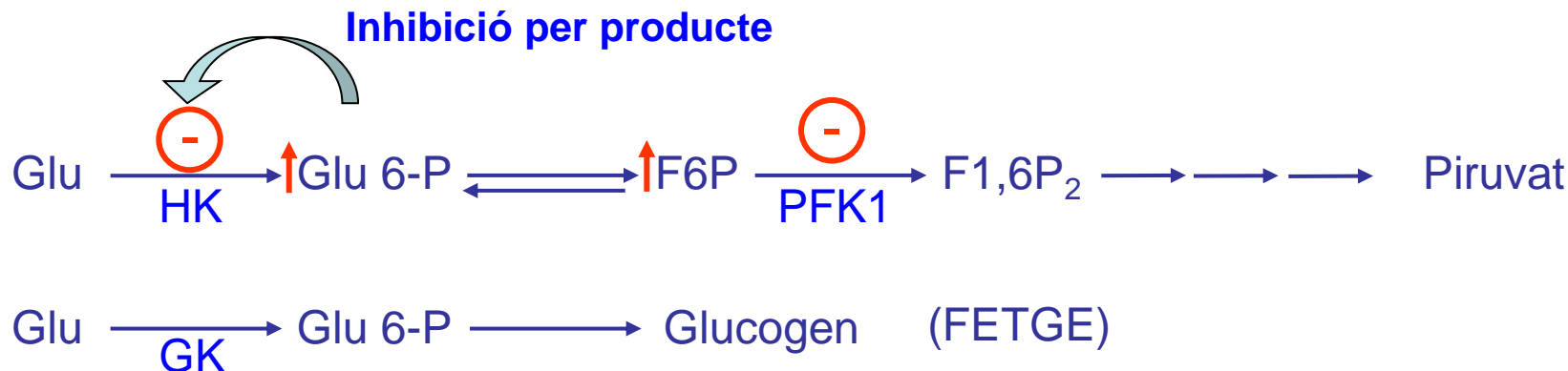
A. Hexoquinases y glucoquinasa (isoenzims)

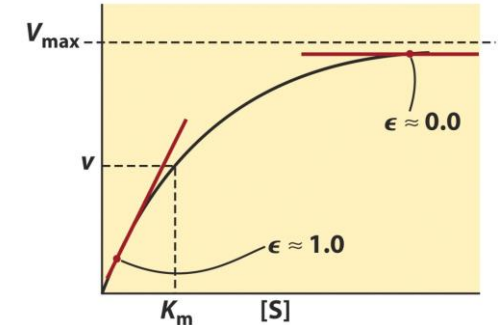
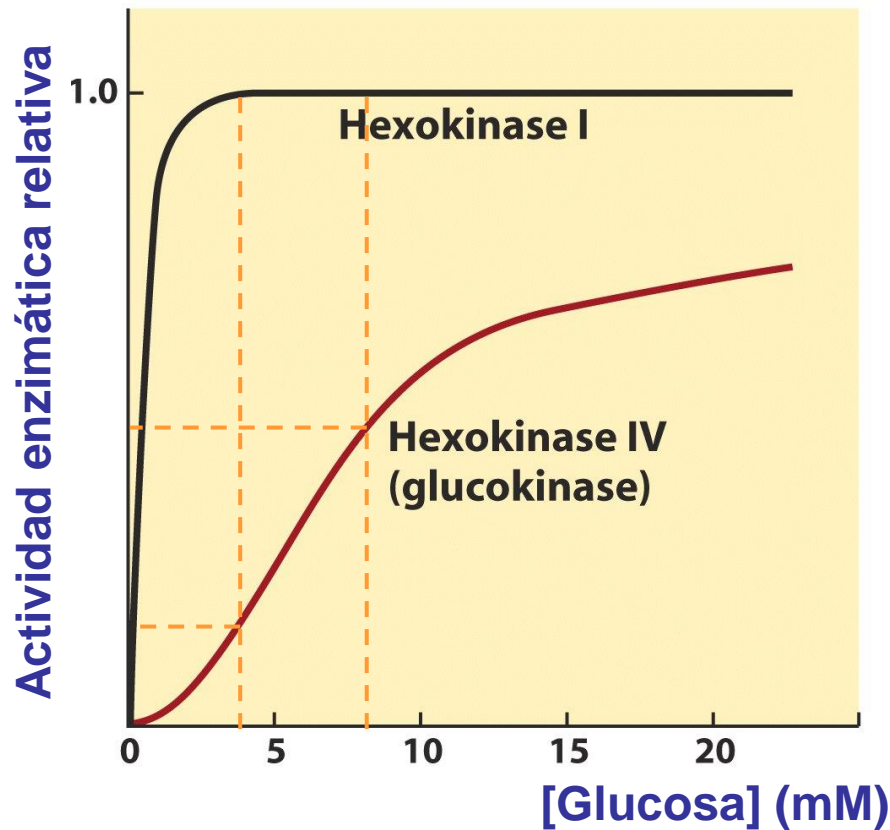
Hexoquinases I, II i III

- Teixits extrahepàtics.
- Poden fosforilar diferents hexoses (glucosa, fructosa, manosa).
- K_M (glucosa) ≈ 0.1 mM. Alta afinitat.
- S'inhibeixen pel producte de la reacció, la glucosa-6-fosfat.

Glucoquinasa (Hexoquinasa IV)

- Fetge.
- Específica per a la glucosa .
- K_M (glucosa) ≈ 10 mM. Baixa afinitat.
- No s'inhibeix per la glucosa-6-fosfat, sinó per unió a proteïna reguladora (GKRP).
- Síntesi induïble per insulina i reprimible per glucagó (llarg termini).



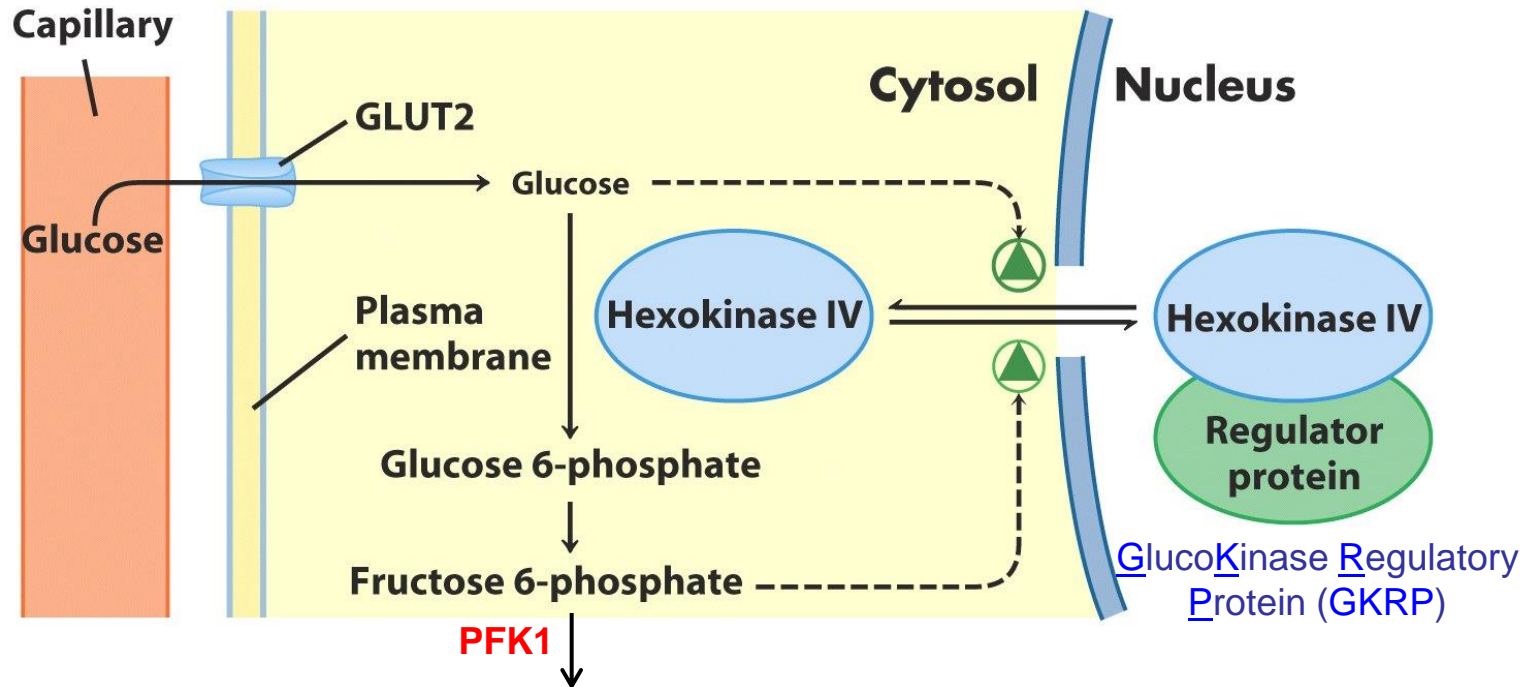


Pagina 6, Tema 12

Les hexoquinases I-III funcionen sempre a màxima velocitat encara que siga en condicions de baixa glucèmia, per la qual cosa els teixits extrahepàtics (en particular cervell y sistema nerviós central) utilitzen de forma òptima la glucosa i altres hexoses. (baix coeficient d'elasticitat, $\epsilon \approx 0$)

La glucoquinasa funciona a una velocitat proporcional a la concentració de glucosa en sang: el fetge NO competeix per la glucosa en condicions de baixa glucemia (dejuni), però si que la utilitza en condicions d'alta glucemia (estat post-prandrial). (elevat coeficient d'elasticitat, $\epsilon \approx 1$)

FETGE



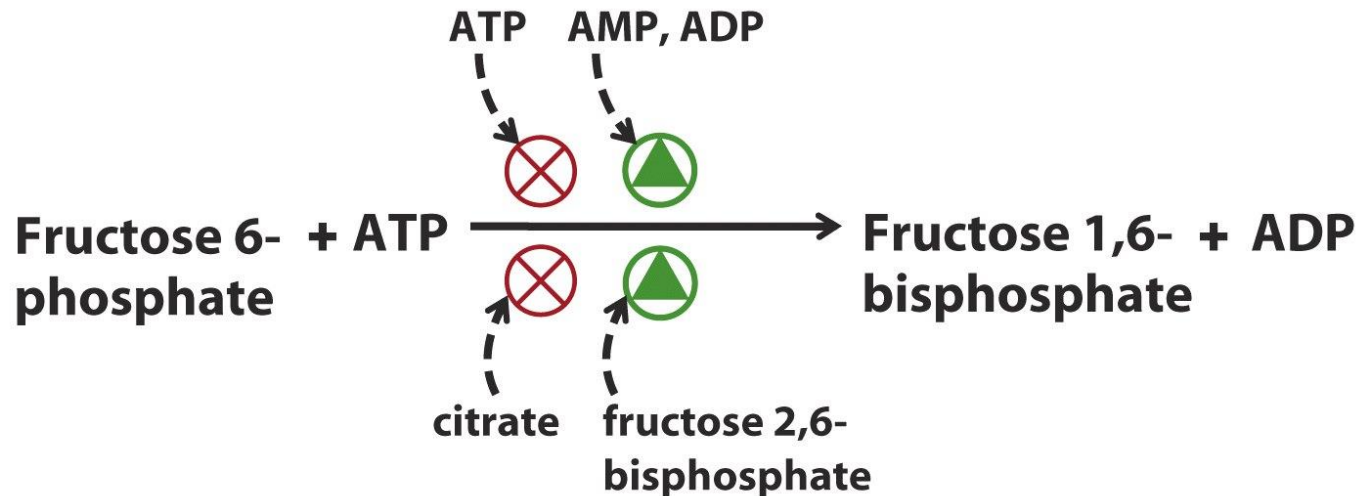
- En condicions de baixa glucèmia s'inhibeix la PFK1 y s'acumula fructosa 6-fosfat, que facilita que la glucoquinasa (HK IV) siga transportada al nucli, on uneix una proteïna reguladora (GKR) i deixa de fosforilar glucosa: el fetge NO consumeix glucosa.
- Quan la glucèmia augmenta, la glucosa afavoreix l'alliberament de la proteïna reguladora y la sortida de la glucoquinasa al citoplasma: el fetge consumeix glucosa.

B. Fosfofructoquinasa 1 (PFK1).

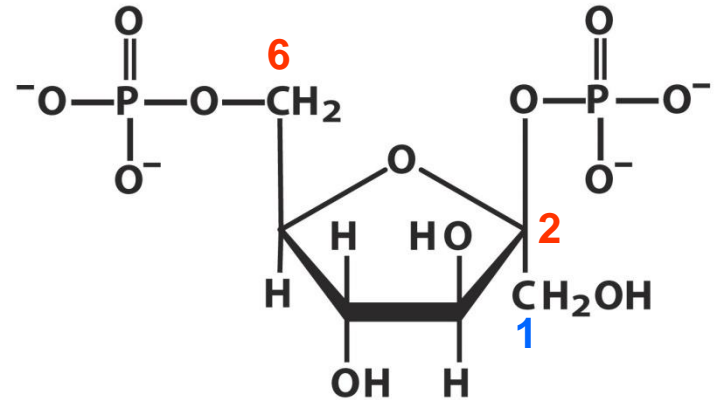
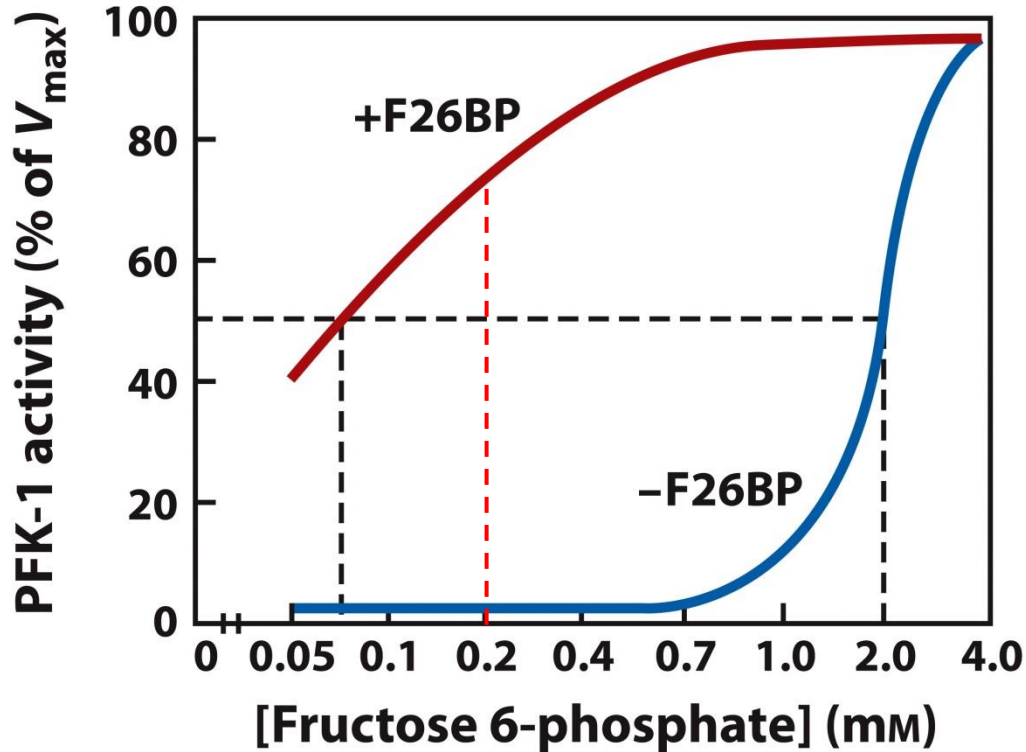
Principal punt de control de la via glucolítica. Enzim generador de flux. Tetràmer: presenta cooperativitat i cinètica sigmoïda. Regulació al·lostèrica i per modificació covalent (baix control hormonal). A llarg termini, la seua síntesi s'indueix per insulina i es reprimeix per glucagó.

Regulació al·lostèrica:

- a) Activadors: fructosa-2,6-bisfosfat (F2,6BP), ADP y AMP (baixa càrrega energètica);
- b) Inhibidors: ATP i citrat (alta càrrega energètica).




Fructosa-2,6-bisfosfat (F2,6BP)



Fructose 2,6-bisphosphate

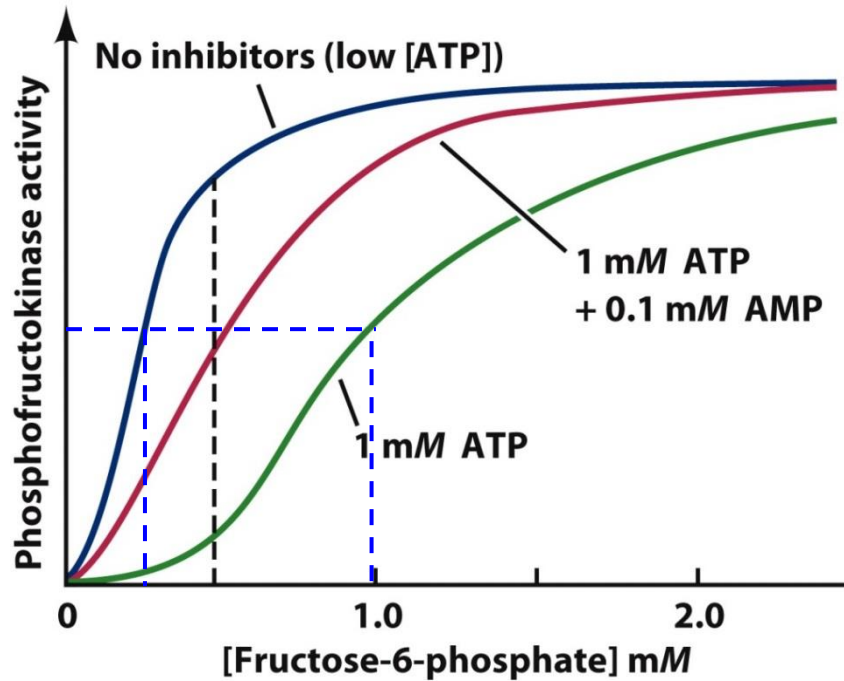
(≠ Fructosa-1,6-bisfosfat)

Figure 15-18a
Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

 Efactor al·lostèric positiu: augmenta l'afinitat de l'enzim per el S (F6P) (disminueix la $K_{0.5}$). A les concentracions intracel·lulars de F6P, l'activitat de la PFK1 és molt major en presència que en absència de F26BP.

 Principal activador de la glucòlisi.

ATP i càrrega energètica cel·lular. Efecte Pasteur



- **ATP i citrat:** efectors al·lostèrics negatius: disminueixen l'afinitat de l'enzim per el S (F6P) (augmenten $K_{0.5}$).
- **ADP y AMP:** efectors al·lostèrics positius (s'uneixen al lloc al·lostèric pero no tenen l'efecte inhibidor de l'ATP i en reverteixen l'efecte).

- **Alta càrrega energètica:** $\uparrow [ATP]/[AMP]$

$\uparrow [ATP]$, $\downarrow [ADP]$ y $[AMP]$

→ Inhibició PFK1

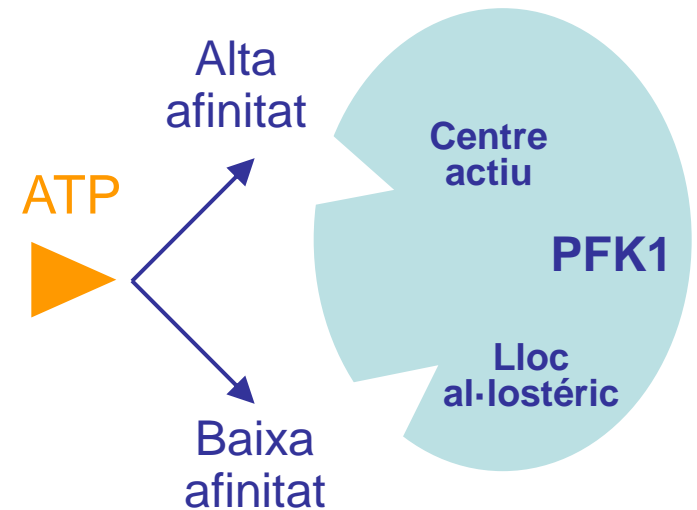
→ **Inhibició glucolisis.**

- **Baixa càrrega energètica:** $\downarrow [ATP]/[AMP]$

$\downarrow [ATP]$, $\uparrow [ADP]$ y $[AMP]$

→ Activació PFK1

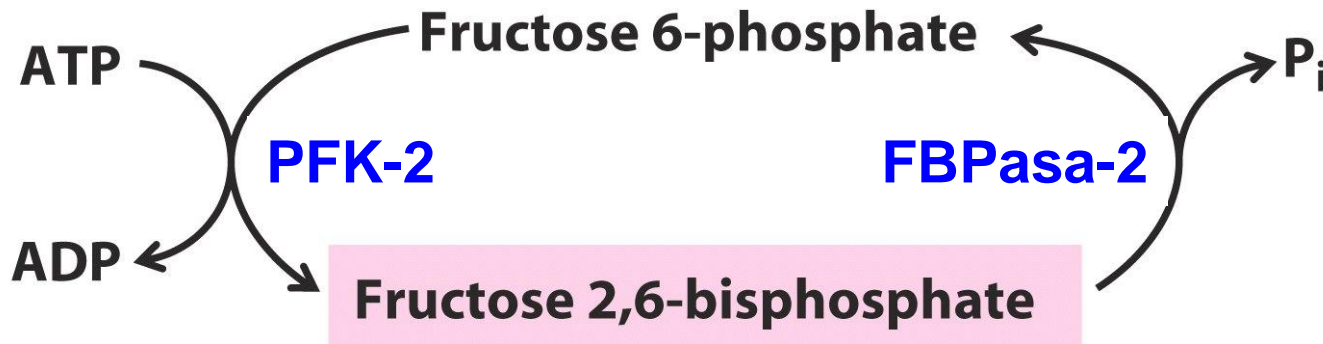
→ **Activació glucolisis**



Regulació hormonal PFK1

- Controla els nivells de fructosa-2,6-bisfosfat (F2,6BP), principal activador de la glucòlisi (activador al·lostèric PFK1).
- Les dues activitats enzimàtiques responsables de la síntesi i degradació de la F2,6BP formen part d'un mateix enzim (\neq dominis).

Enzim bifuncional: fosfofructoquinasa-2 (PFK-2)/fructosa-2,6-bisfosfatasa (FBPasa-2)



PFK2: fosforilació de la F6P en el C2 per donar F2,6BP (\neq PFK1)

FBPasa2: hidròlisi del fosfat en C2 (\neq FBPasa 1)

Existeixen diferents isoenzims de l'enzim bifuncional en fetge, múscul esquelètic i múscul cardíac

En situacions d'alta glucèmia (insulina), s'activa la glucòlisi.

FETGE

↑[F26BP]

Activació glucòlisi (PFK1),
inhibició gluconeogènesi

Insulina

**Fosfoproteína
fosfatasa**

↓[F26BP]

Inhibició glucòlisi (PFK1),
activació gluconeogènesi

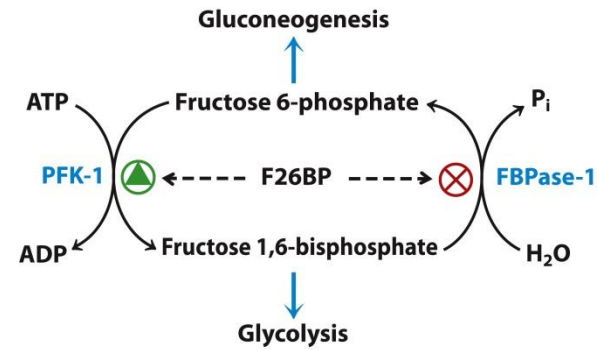
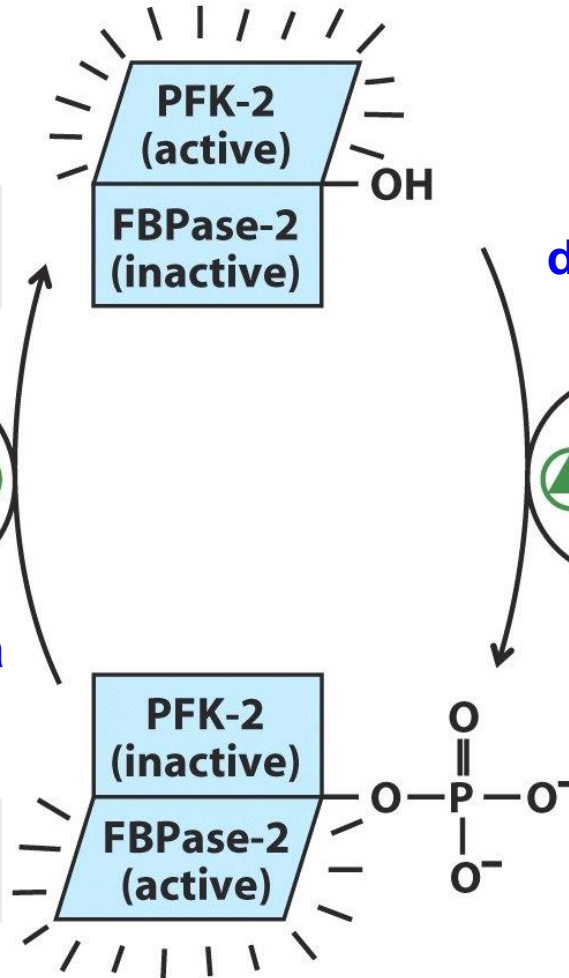


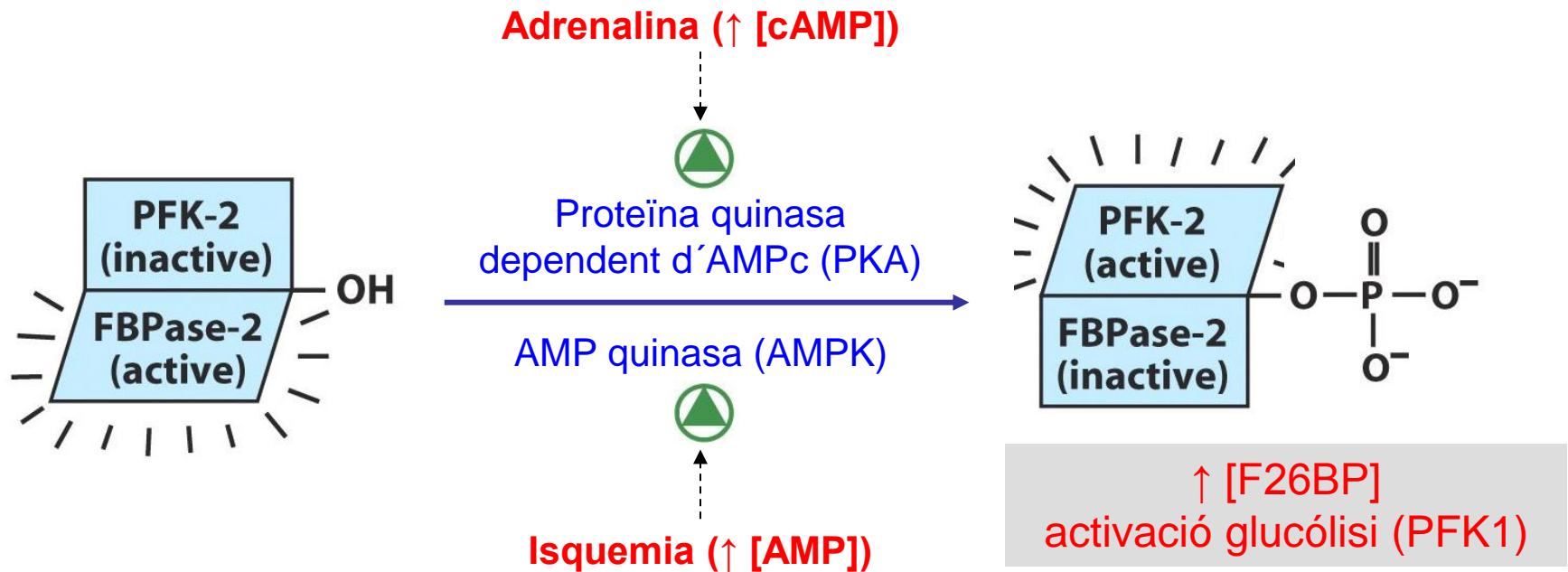
Figure 15-18c
Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

**Proteïna quinasa
dependent d' AMPc
(PKA)**

**Glucagó
Adrenalina
(↑[cAMP])**

En situacions de baixa glucèmia (glucagó) o estrès (adrenalina), s'inhibeix la glucòlisi.

MÚSCUL CARDÍAC



- En resposta a la fosforilació dependent d'AMPc i PKA de l'isoenzima del múscul cardíac s'activa la PFK2, augmenten els nivells de F2,6BP i s'activa la PFK1 i la glucòlisi (al contrari que en fetge).
 - En el múscul cardíac, l'AMPc (produït en resposta a adrenalina en situacions d'estrès) produeix una activació de la glucòlisi (al contrari que en fetge).
 - En el múscul cardíac, l'AMP (produït en situacions d'isquemia) activa a la AMP quinasa (AMPK), que també fosforila a l'enzim bifuncional produint una activació de la glucòlisi.
-
- L'isoenzima del múscul esquelètic no està regulat per AMPc. La glucòlisi en el múscul esquelètic es regula únicament per la càrrega energètica cel·lular.

Regulació de la glucòlisi per la càrrega energètica cel·lular

- La glucòlisi és una ruta catabòlica, destinada a obtenir ATP. Per tant, el seu funcionament ha d'ajustar-se a la càrrega energètica cel·lular (no s'hi pot emmagatzemar ATP).
- El propi ATP inhibeix PFK1 i piruvat quinasa i, per tant, la glucòlisi.
- En condicions d'alta càrrega energètica, el cicle de Krebs s'inhibeix, per la qual cosa s'acumulen acetil-CoA i citrat. El citrat inhibeix la PFK1 i l'acetil-CoA inhibeix la piruvat quinasa, la qual cosa se suma a aquest efecte de l'ATP i produeix la inhibició de la glucòlisi.
- En condicions de baixa càrrega energètica, el AMP activa la PFK1 i, per tant, la glucòlisi.
- La relació ATP/AMP es un indicador de càrrega energètica cel·lular i regula la velocitat de la glucòlisi, especialment en el múscul esquelètic.

REPÒS

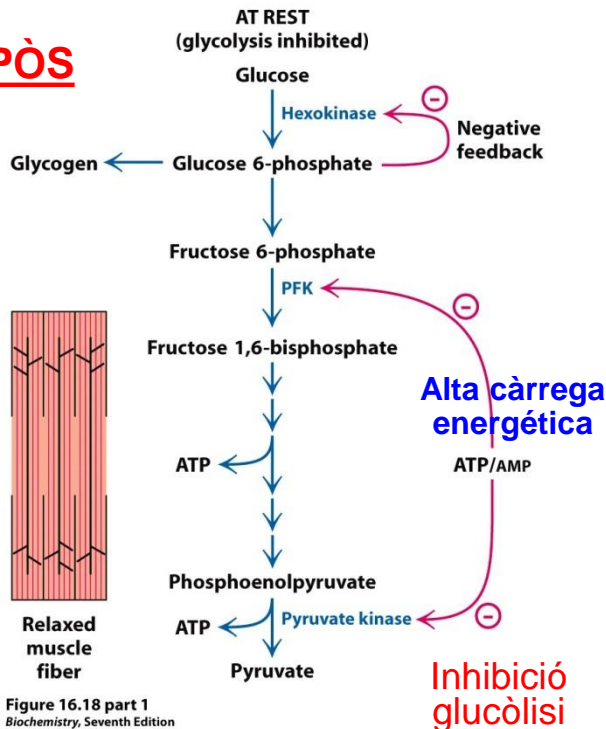


Figure 16.18 part 1
Biochemistry, Seventh Edition
© 2012 W. H. Freeman and Company

EXERCICI

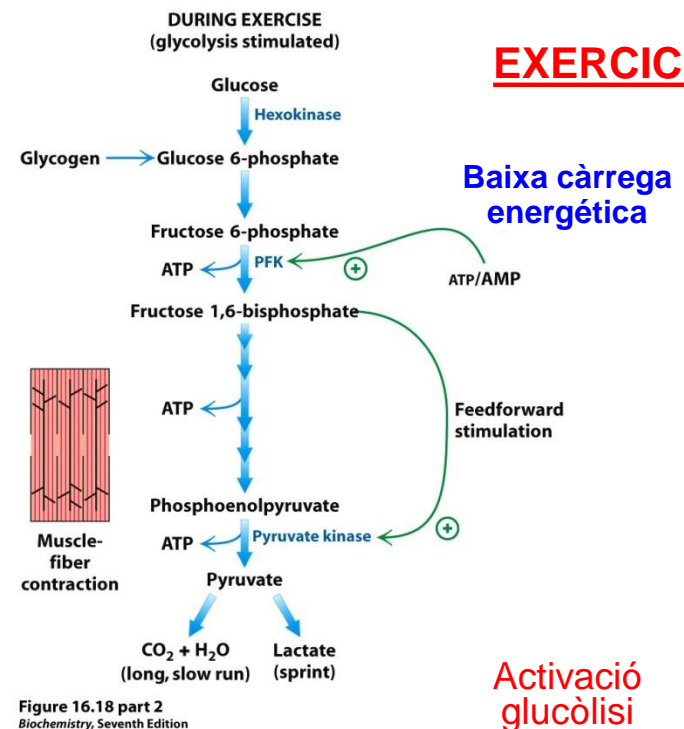


Figure 16.18 part 2
Biochemistry, Seventh Edition
© 2012 W. H. Freeman and Company

REGULACIÓ HORMONAL DE LA GLUCÒLISI (RESUM)

A. Fetge

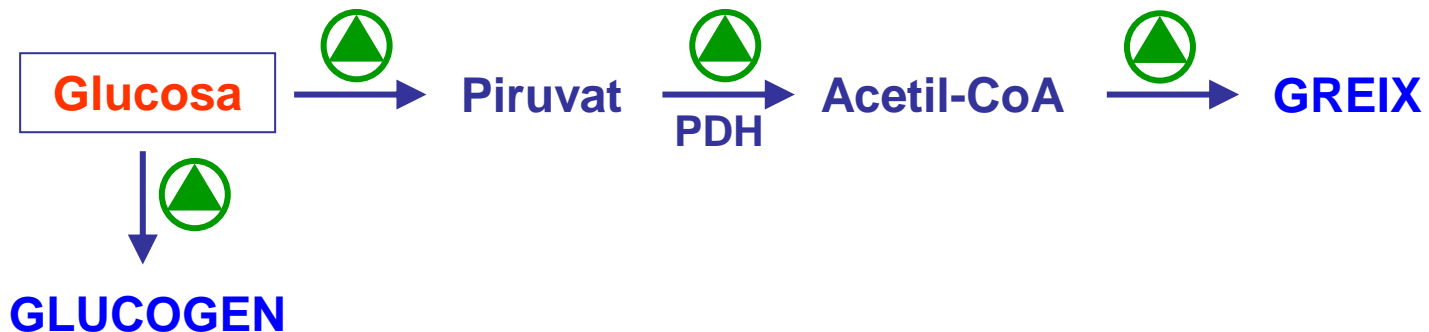
GLUCAGÓ (baixa glucemia)

ADRENALINA (estrés)

Inhibició glucòlisi: GK (\downarrow [Glu]), PFK1 (\downarrow [F26BP]), PK (fosforilació)

INSULINA (alta glucemia)

Activació glucòlisi: GK (\uparrow [Glu]), PFK1 (\uparrow [F26BP]), PK (desfosforilació)



B. Múscul cardíac

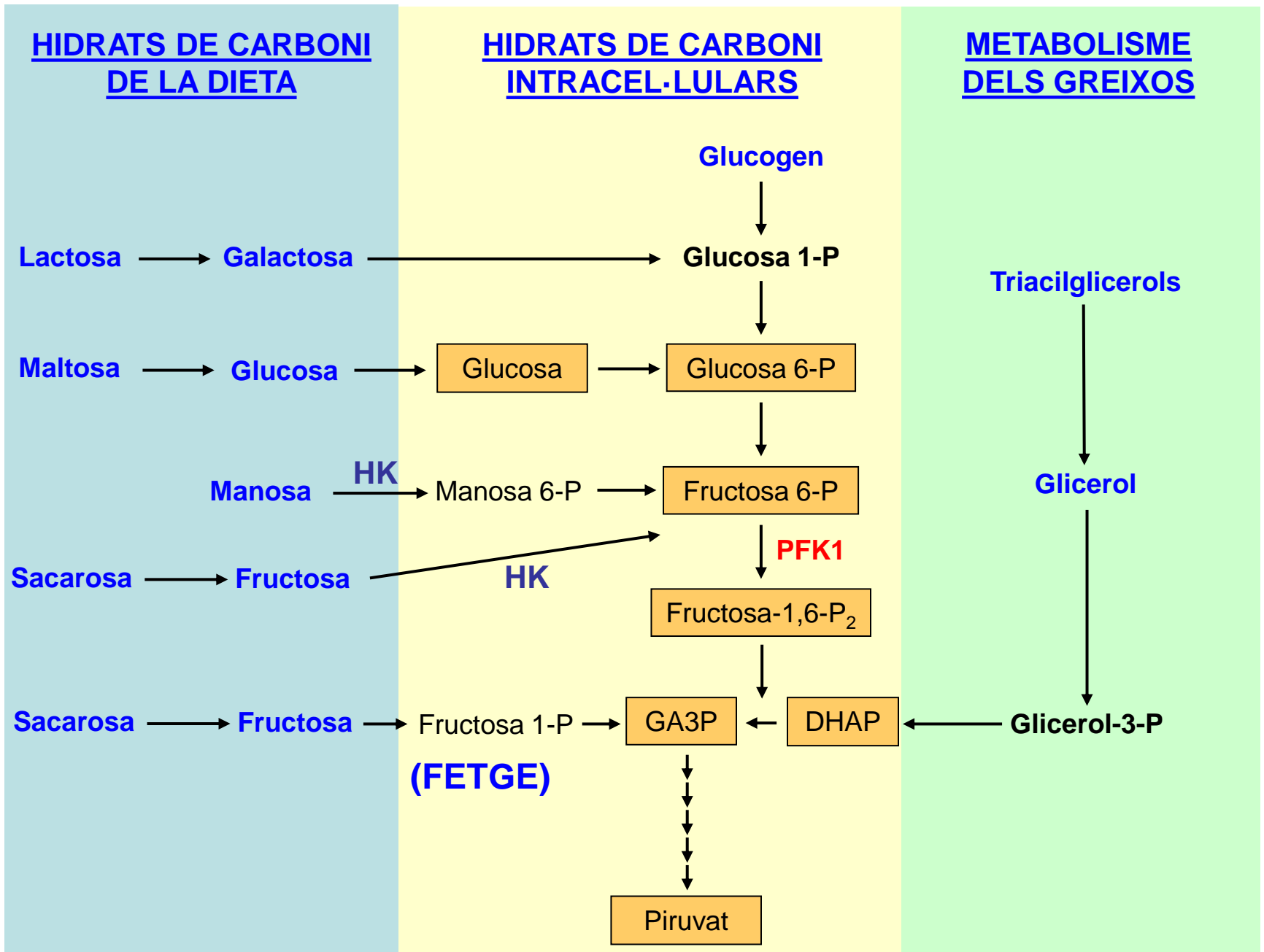
ADRENALINA (estrés)

Activació glucòlisi (PFK1)

C. Múscul esquelètic i teixit adipós

En condicions d'alta glucemia (insulina) o amb l'exercici físic se estimula el transport de glucosa i, per tant, la glucòlisi.

ENTRADA D'ALTRES SUBSTRATS EN LA GLUCÒLISI



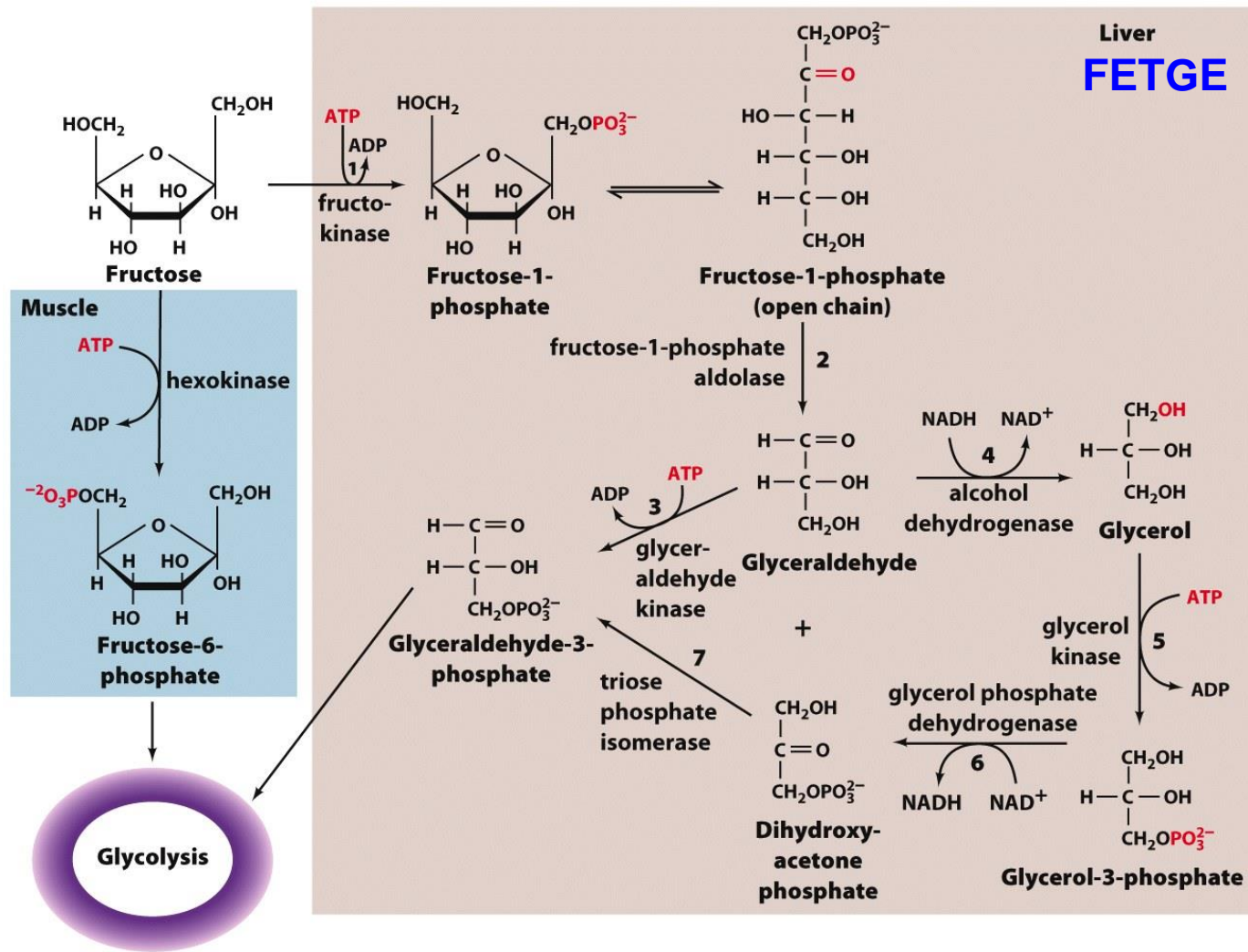


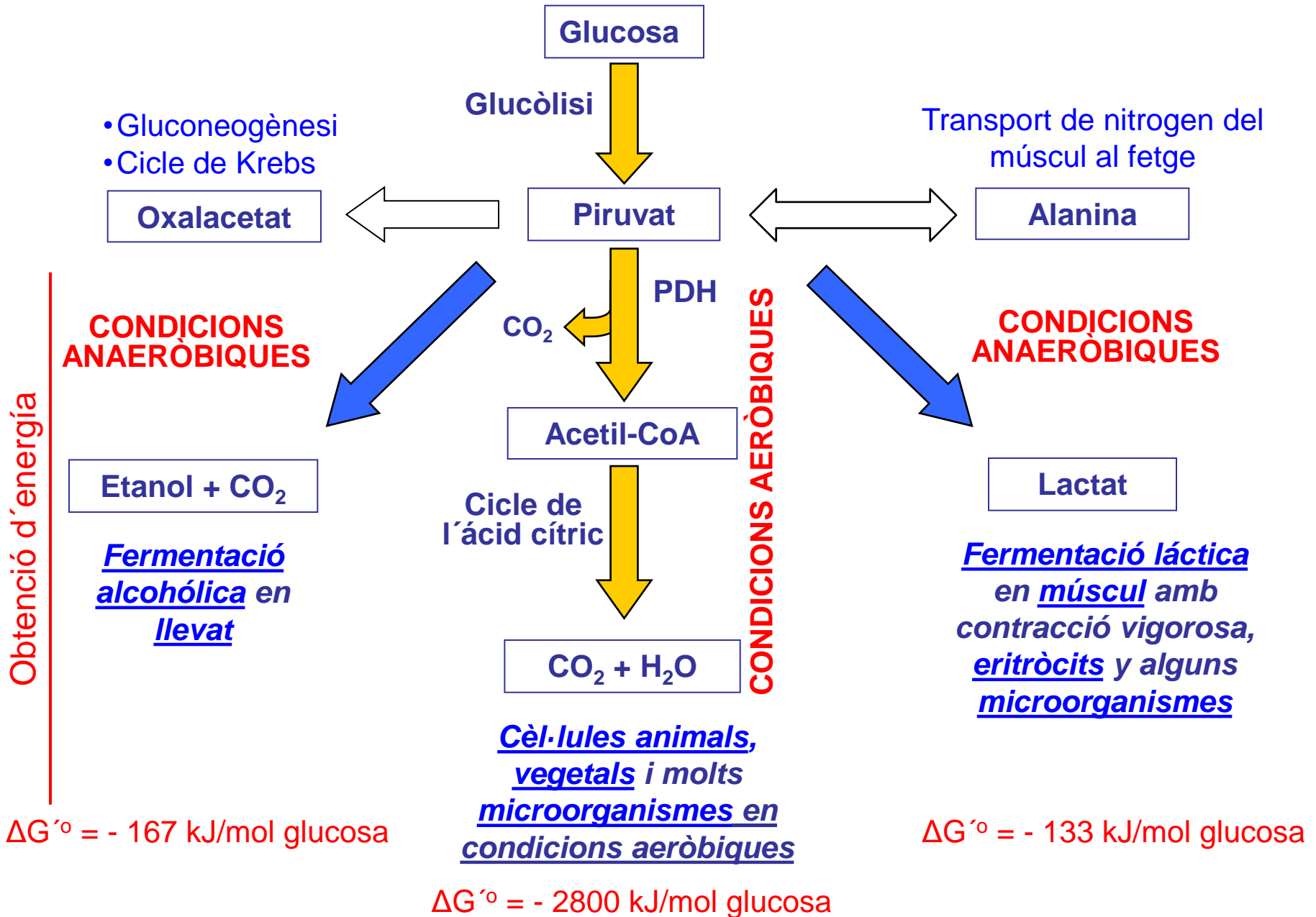
Figure 17-35
© John Wiley & Sons, Inc. All rights reserved.

TOTS ELS SUCRES PODEN TRANSFORMAR-SE EN GREIX, però la FRUCTOSA ho fa de forma molt més eficient: s'incorpora a la via glucolítica eludint el control de la PFK1 i transformant-se fàcilment en piruvat i, per tant, en acetil CoA; a més, indueix l'expressió de gens implicats en la lipogènesi (síntesi d'àcids grassos i TAG) de novo.

TEMA 15.

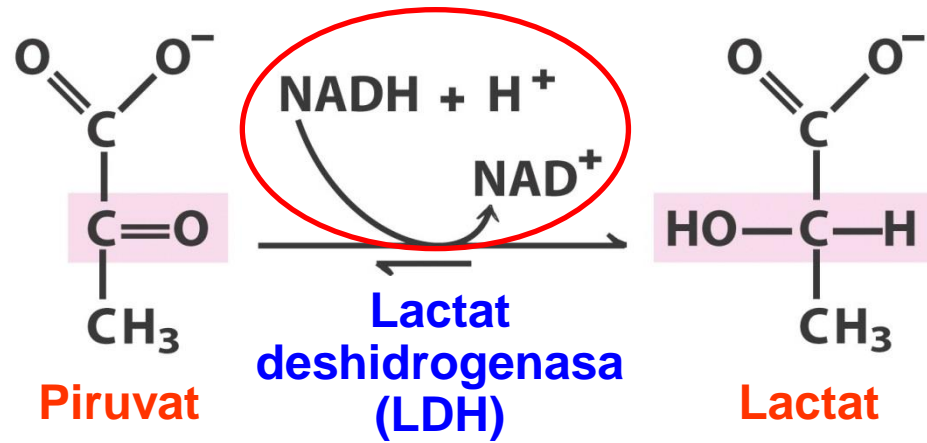
DESTINACIONS METABÒLIQUES DEL PIRUVAT

DESTINACIONS ALTERNATIVES DEL PIRUVAT



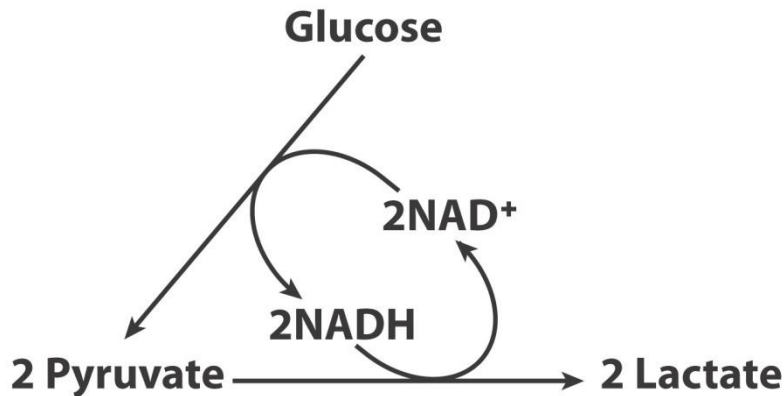
FERMENTACIÓ LÀCTICA

- Reacció citosòlica;
- El piruvat actua com aceptor d'electrons: **es regenera el NAD⁺** (necessari per a la glucòlisi)



Reversible en condicions fisiològiques

$\Delta G'^{\circ} = - 25.1 \text{ kJ/mol}$



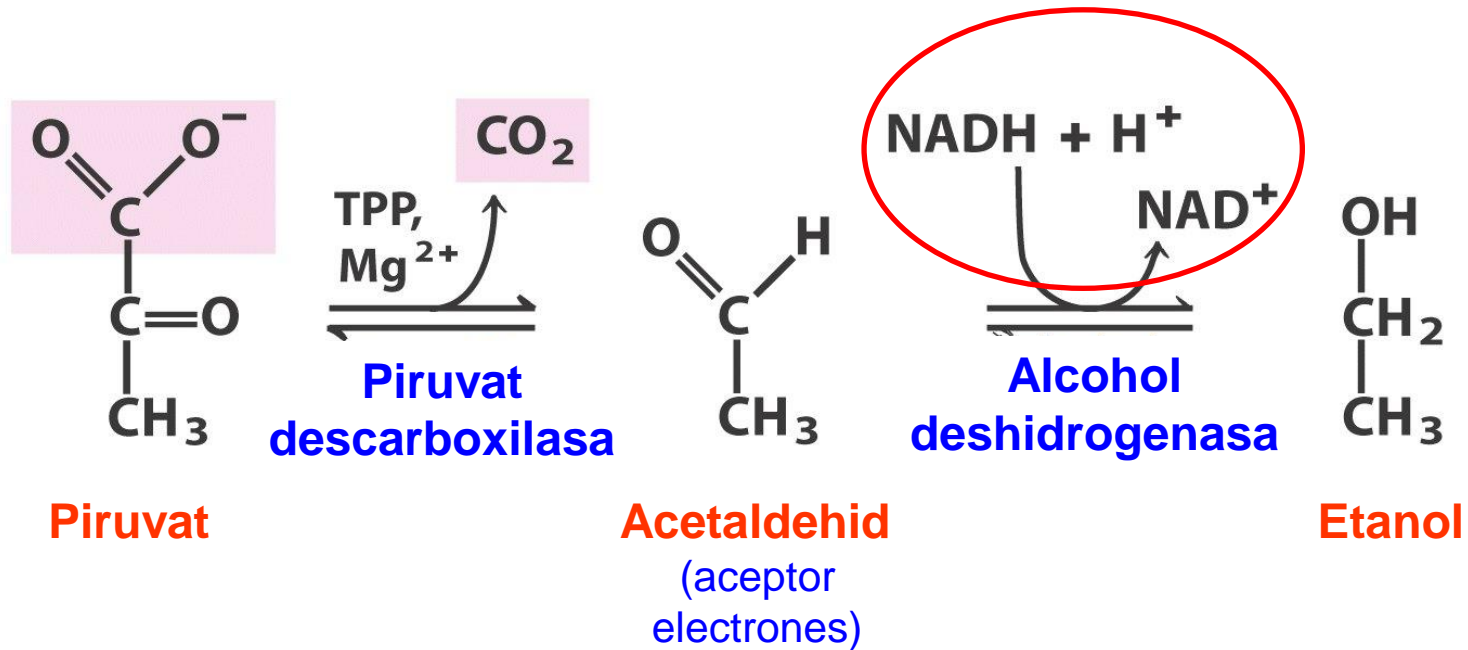
Fermentació: via generadora d'energia sense canvi net en l'estat d'oxidació del substrat.

1 molècula de glucosa té el mateix nombre d'electrons que 2 molècules de lactat.

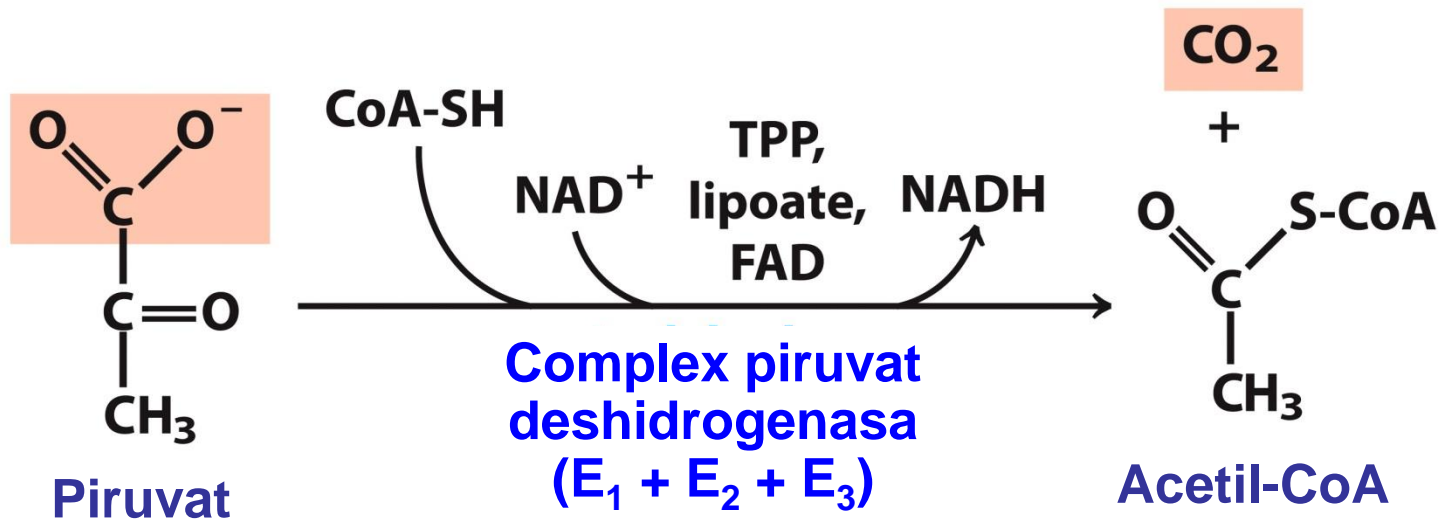


Fermentació làctica = Glucòlisi anaeròbia

FERMENTACIÓ ALCOHÒLICA



PRODUCCIÓ D'ACETAT: COMPLEX PIRUVAT DESHIDROGENASA (PDH)



DESCARBOXILACIÓ OXIDATIVA

$$\Delta G'^{\circ} = -33.4 \text{ kJ/mol}$$

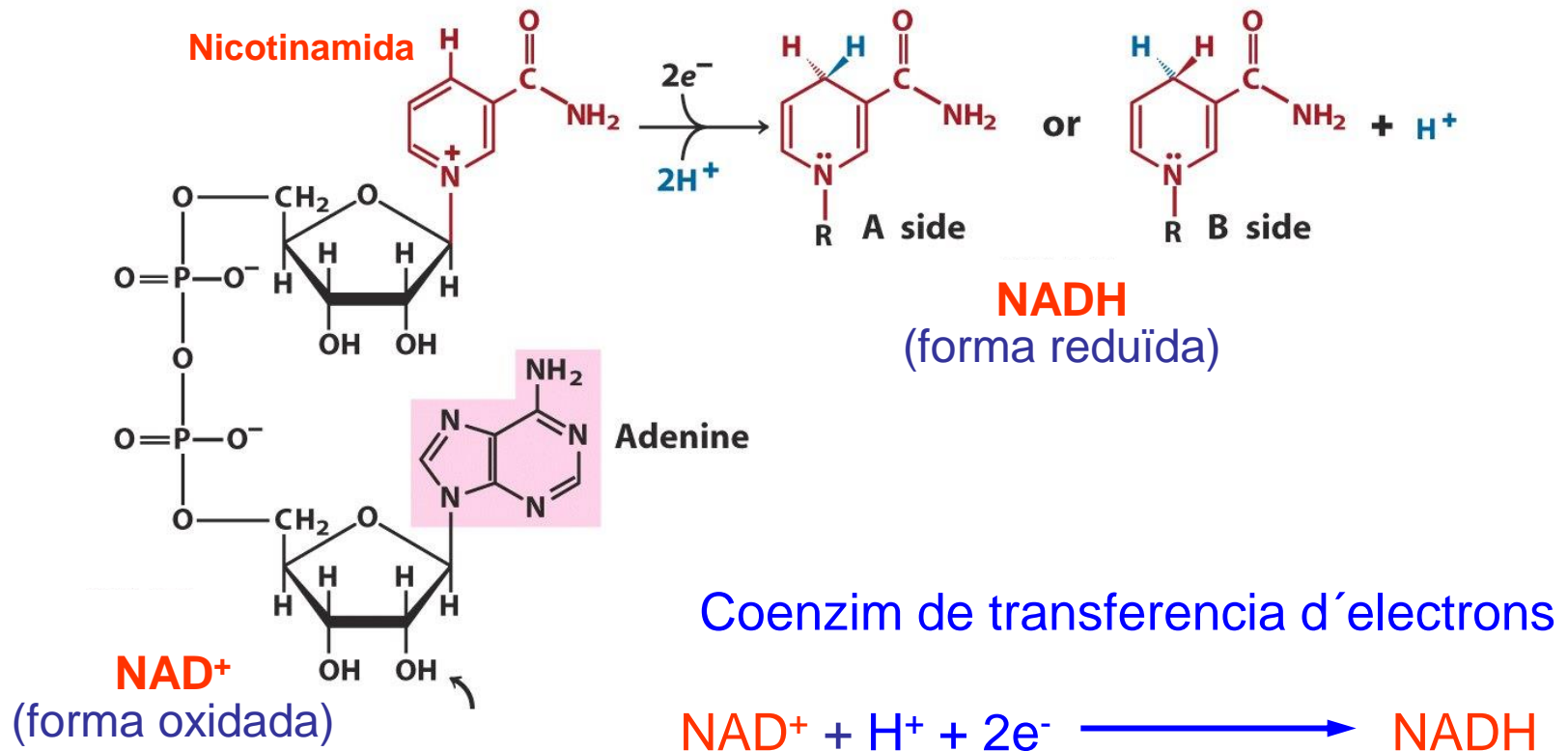
Figure 16-2

Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

- En la catàlisi participen 3 activitats enzimàtiques (E₁, E₂, E₃) i 5 coenzims.
- La reacció transcorre en tots els teixits en la matriu mitocondrial. Per tant, el piruvat ha d'entrar al mitocondri per ser oxidat.
- Reacció irreversible (molt exergònica). Aquesta irreversibilitat té com a conseqüència que la transformació de glúcids en greix siga unidireccional.

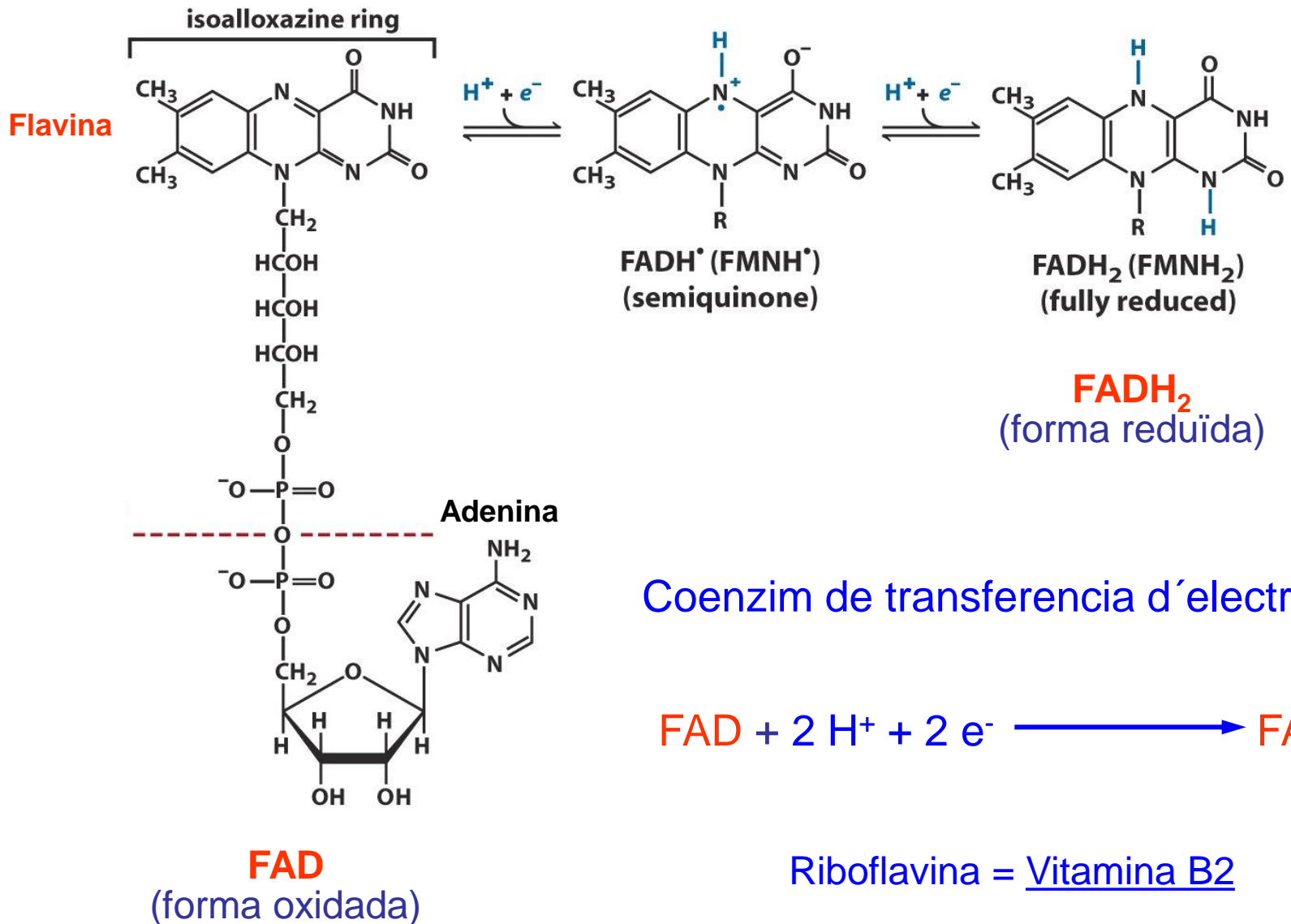
COENZIMS PDH

Nicotinamida Adenina Dinucleòtid (NAD)

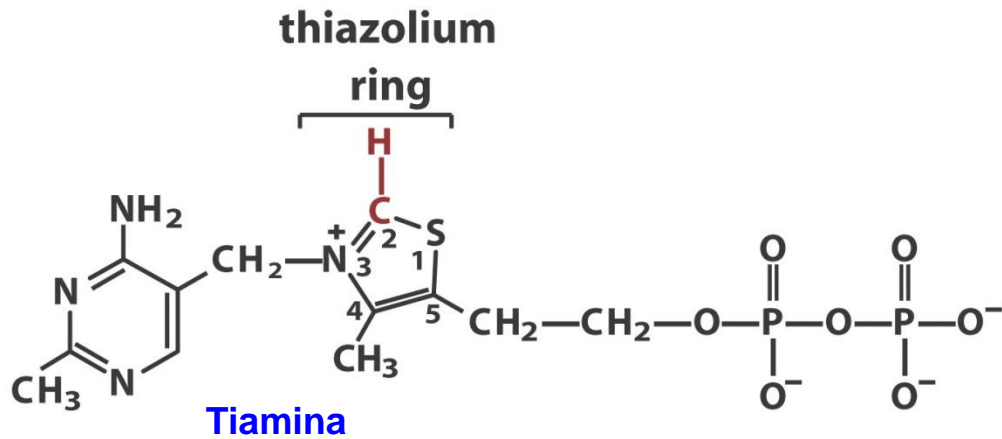


Nicotinamida = Vitamina B3 o PP

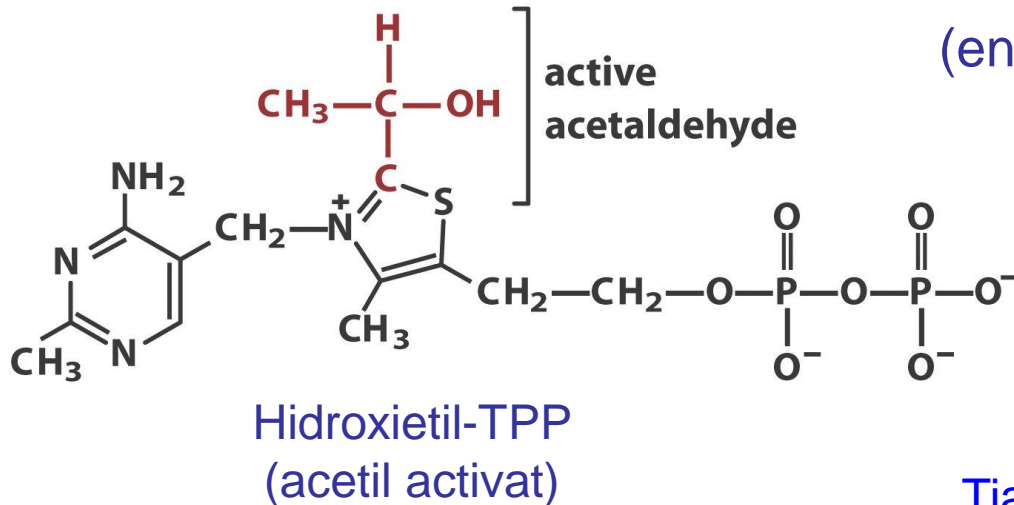
Flavina Adenina Dinucleòtid (FAD)



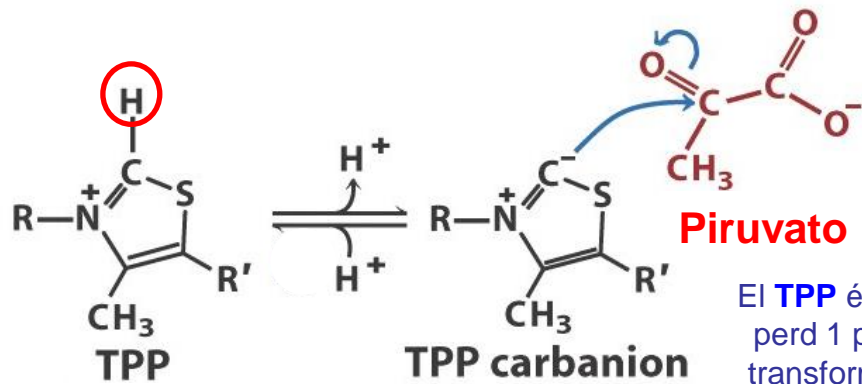
Pirofosfat de tiamina (TPP)



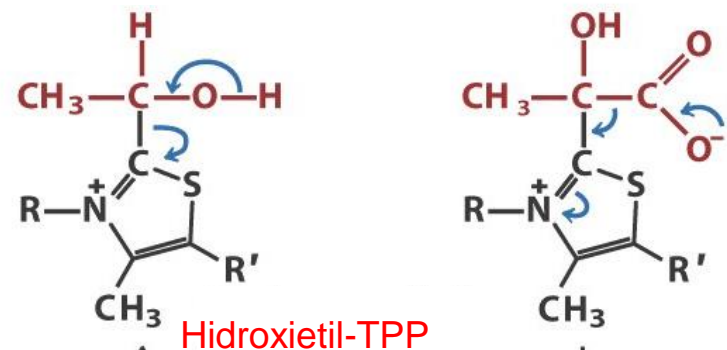
Transport de grups acil
(en el cas de la PDH un grup acetil)



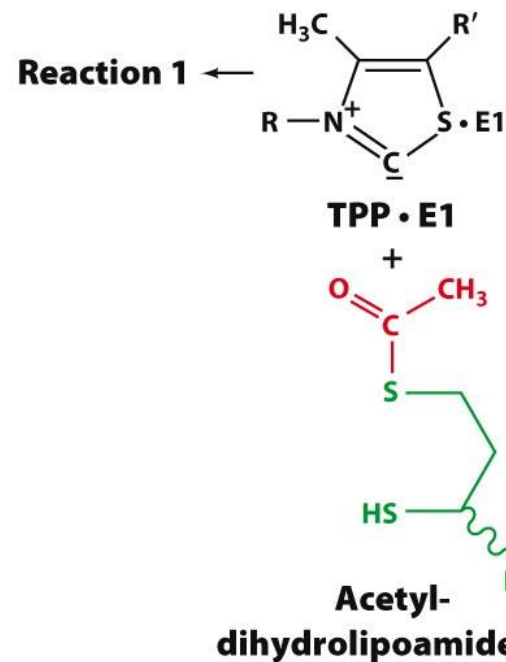
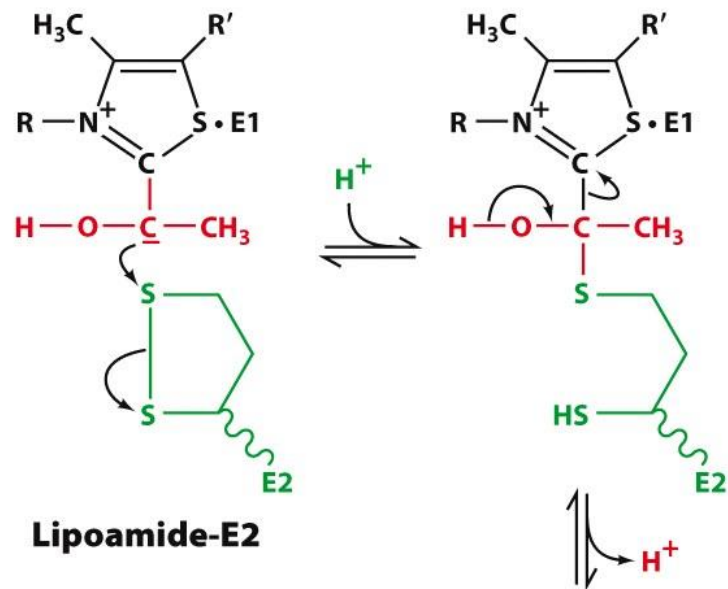
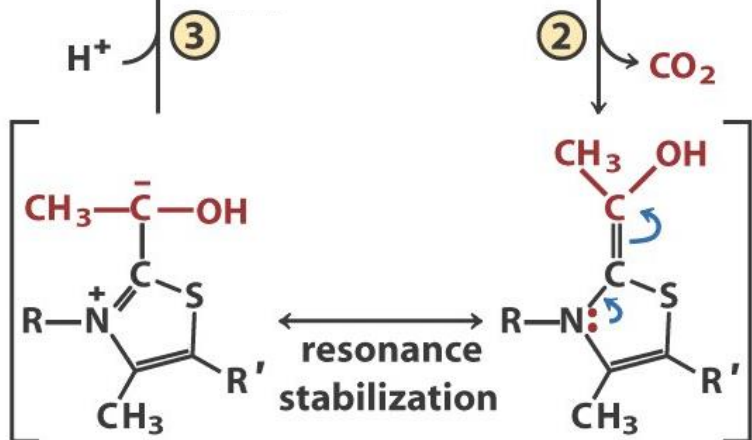
Tiamina = Vitamina B1



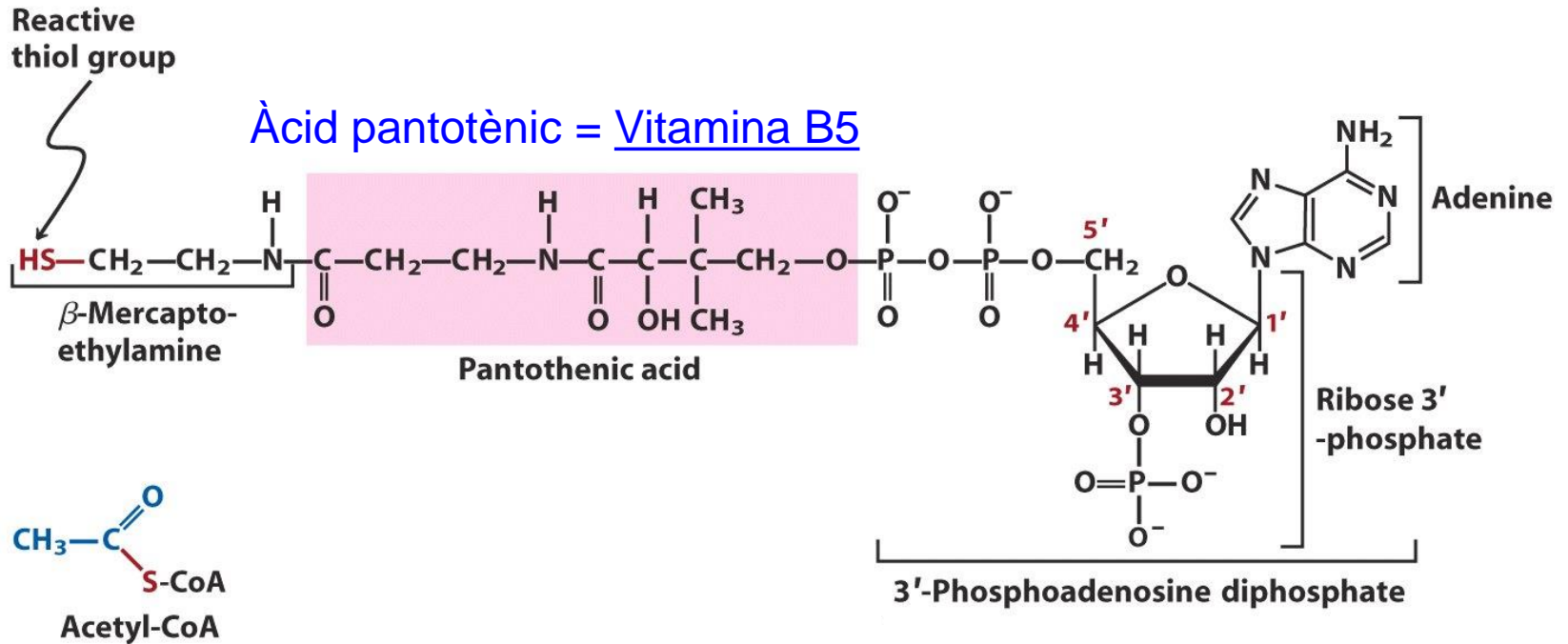
El **TPP** és un àcid, perd 1 protó i es transforma en un carbanió, que realitza un atac nucleofílic sobre el **piruvat** (substrat PDH) i inicia la reacció



El grup carboxil es perd en forma d'una molécula de **CO₂** (reacció de descarboxilació).

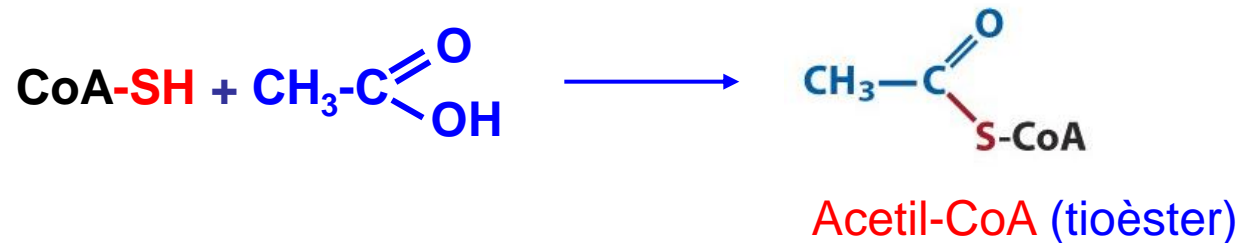


Coenzim A (CoA-SH)

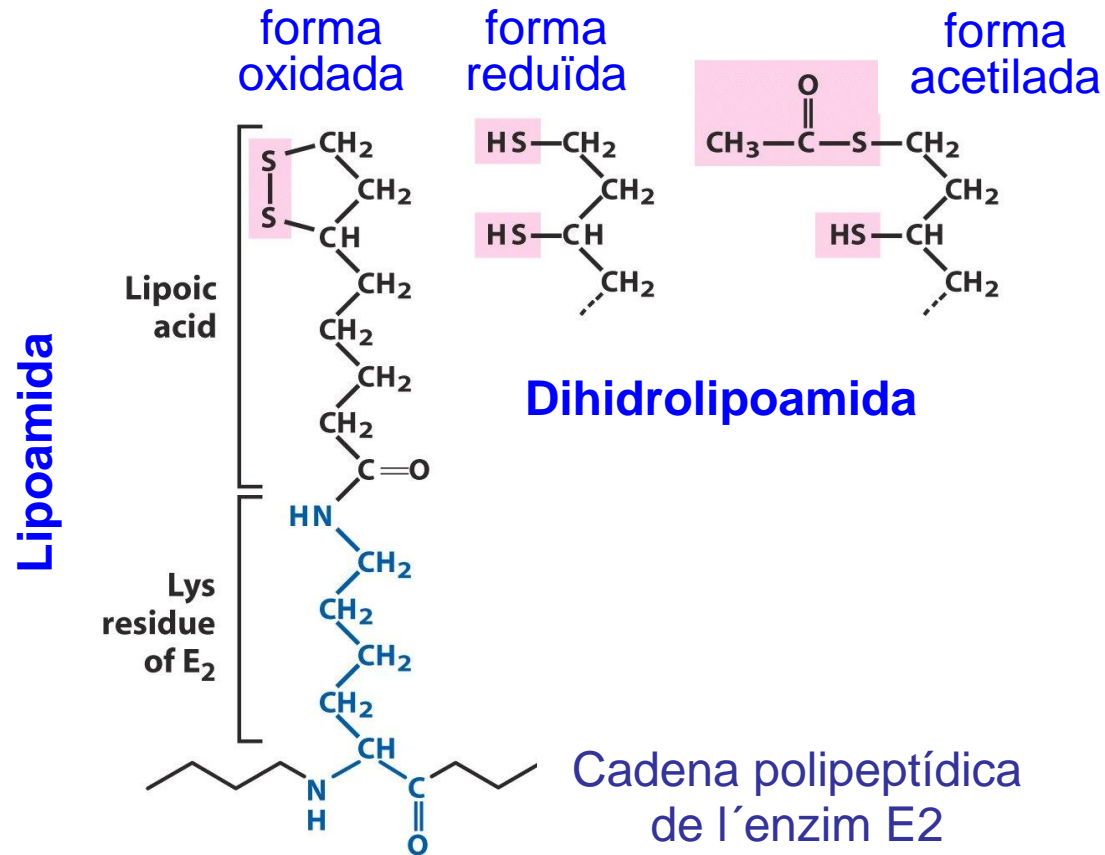


Transport de grups acil

(en el cas de la PDH un grup acetil)



Àcid lipoic (lipoamida)



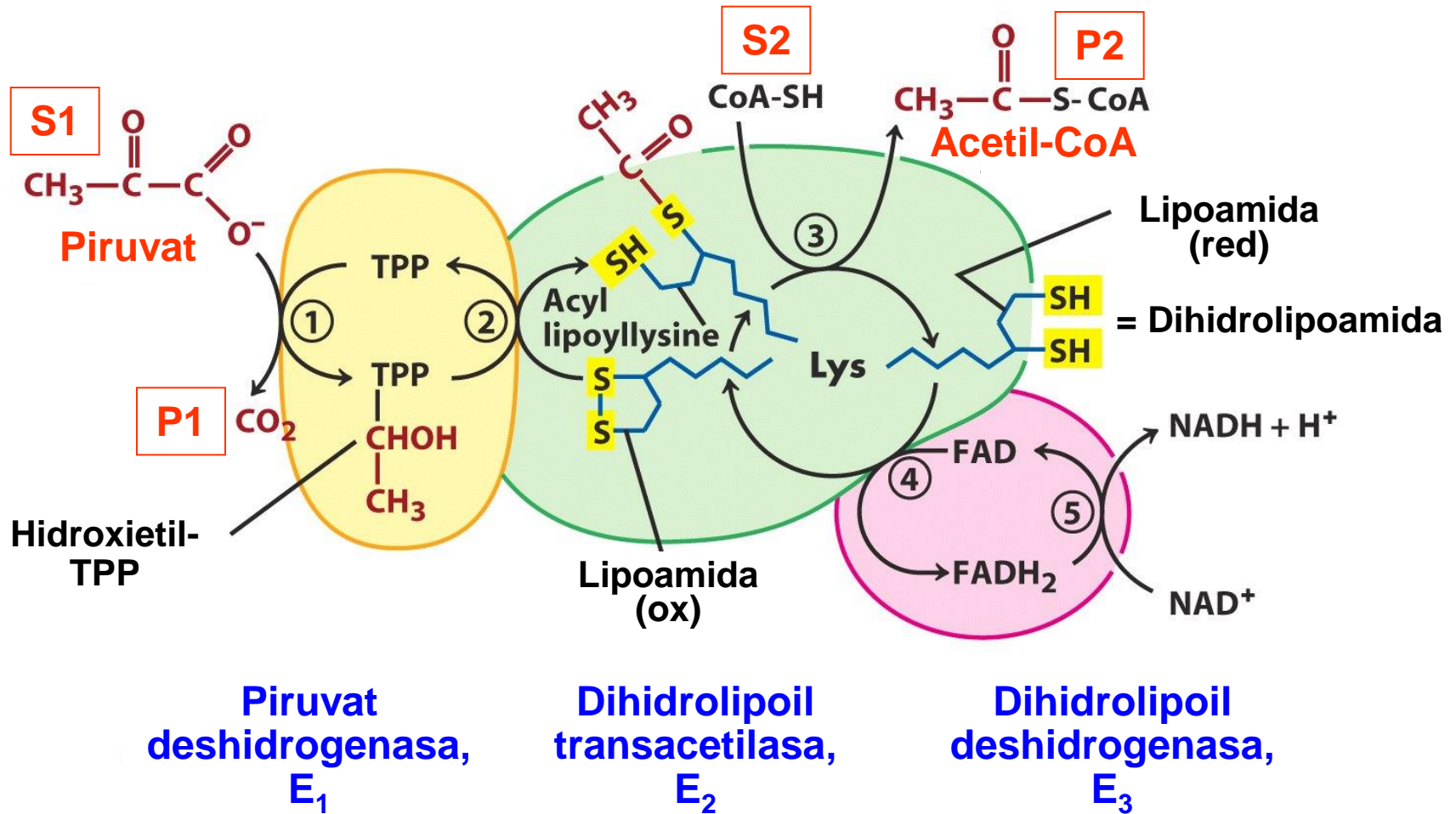
- Transport d'electrons
- Transport de grups acil (acetil)

COMPLEXE PIRUVAT DESHIDROGENASA

<u>Enzim</u>	<u>Coenzims</u>	<u>Funció</u>
Piruvat deshidrogenasa (E₁)	Pirofosfat de tiamina (TPP)	<u>Descarboxilació del piruvat</u> : s'hi produeix CO₂ (primer producte de la reacció). Els dos àtoms de carboni restants queden units al TPP (Hidroxietil-TPP).
Dihidrolipoil transacetilasa (E₂)	Àcid lipoic (lipoamida)	<u>Oxidació de l'hidroxietil</u> , que es transforma en un grup acetil, i reducció de la lipoamida. La lipoamida reduïda uneix el grup acetil i el transfereix al CoA.
	Coenzim A (CoA)	Accepta el grup acetil de la lipoamida. S'hi forma acetil CoA , segon producte de la reacció.
Dihidrolipoil deshidrogenasa (E₃)	FAD	Accepta els electrons de la lipoamida i es redueix fins a FADH ₂ . Es regenera la lipoamida.
	NAD	Accepta els electrons del FADH ₂ i es redueix fins a NADH . El FAD s'hi regenera.

- TPP, FAD i àcid lipoic actuen com a **grups prostètics**: estan fortament units al centre actiu (en el cas de la lipoamida de forma covalent).
- NAD i coenzim A actuen com **cosubstrats**: estan feblement units al centre actiu, per la qual cosa poden alliberar-se fàcilment.

(Lehninger, 4th Ed.)



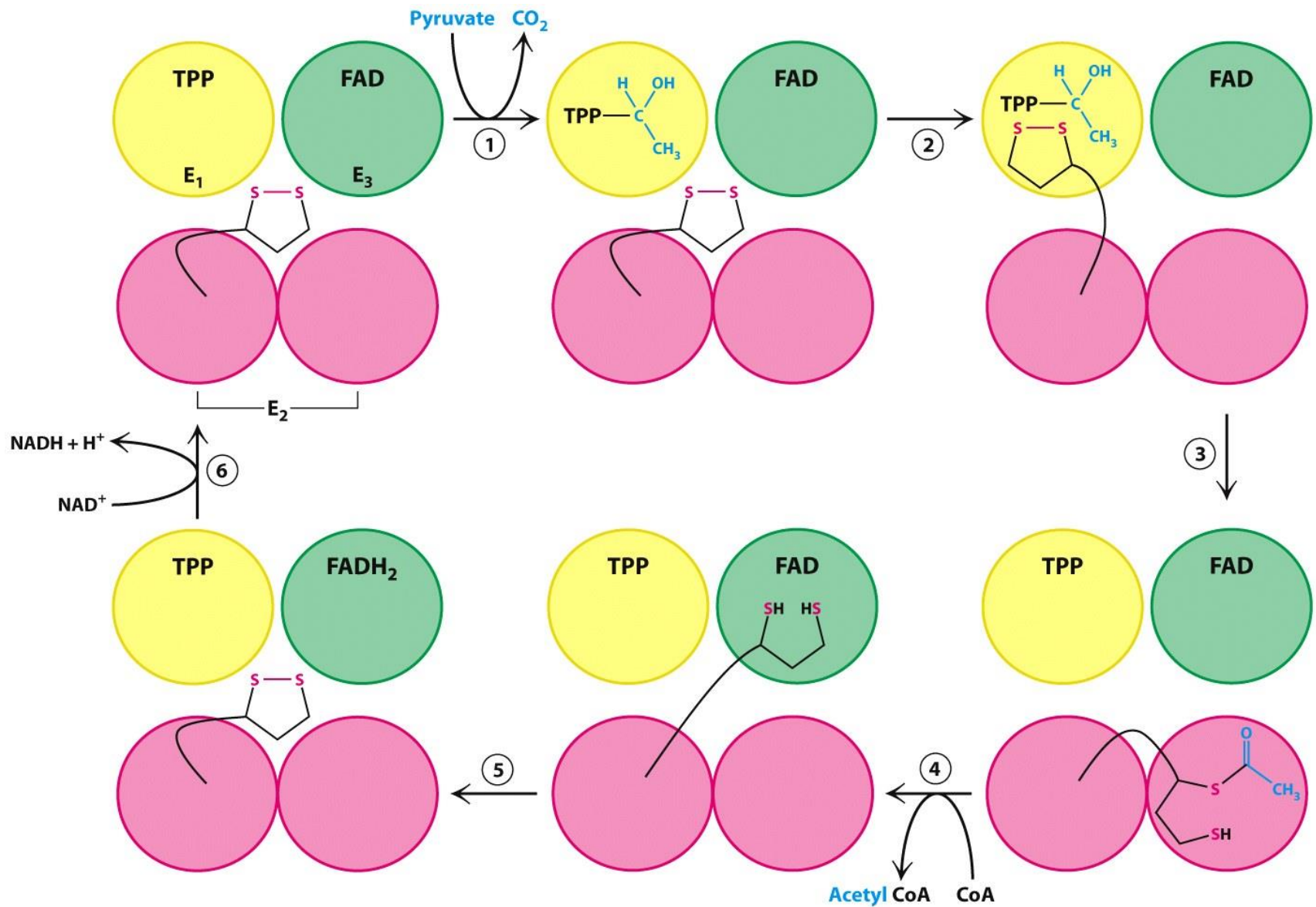
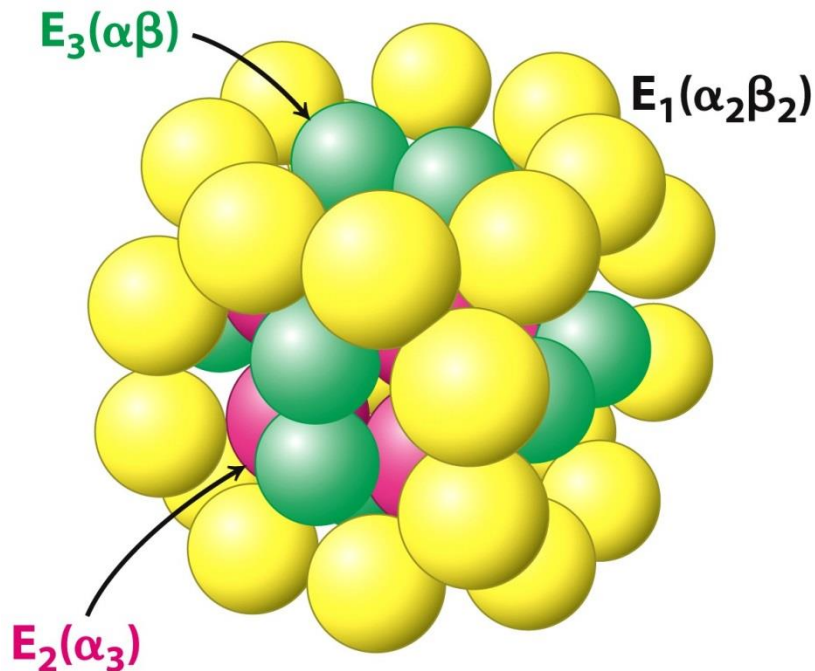


Figure 17.9
Biochemistry, Seventh Edition
 © 2012 W. H. Freeman and Company

LA PIRUVAT DESHIDROGENASA ES UN COMPLEX MULTIENZIMÀTIC

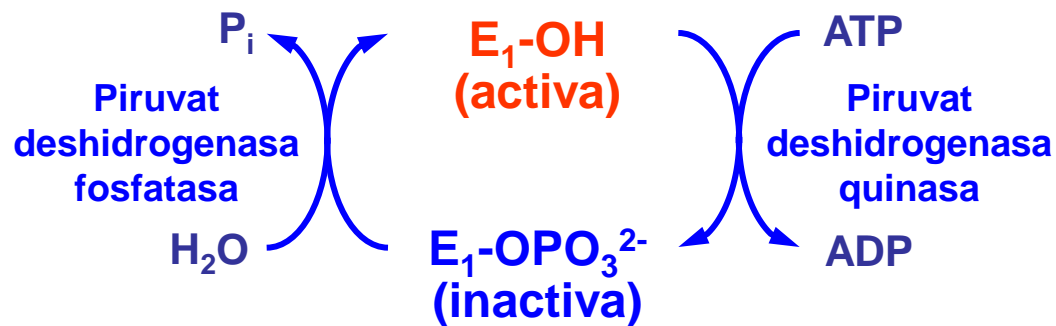
Està constituïda per **30** tetràmers ($\alpha_2\beta_2$) de l'enzim **E₁** (piruvat deshidrogenasa), **20** trímers (α_3) de l'enzim **E₂** (dihidrolipoil transacetilasa) i **12** dímers ($\alpha\beta$) de l'enzim **E₃** (dihidrolipoil deshidrogenasa). Les subunitats de l'enzim E₂ formen un nucli central, d'estructura dodecahèdrica, a la qual s'uneixen les molècules d'E₁ i E₃.



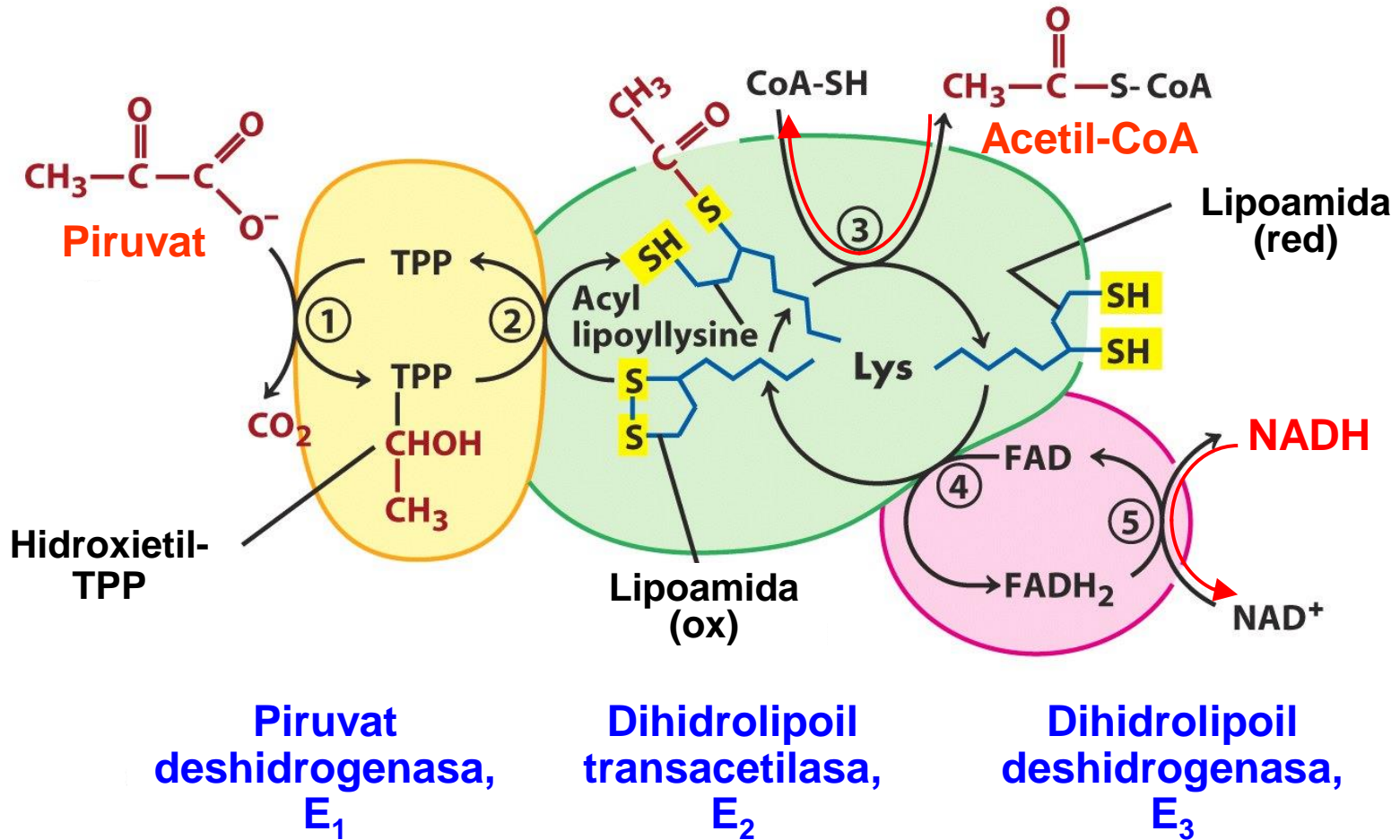
L'organització estructural del complex fa possible la catàlisi coordinada d'una reacció complexa. A més, la proximitat entre els centres actius augmenta la velocitat de la reacció global i redueix al mínim reaccions col·laterals.

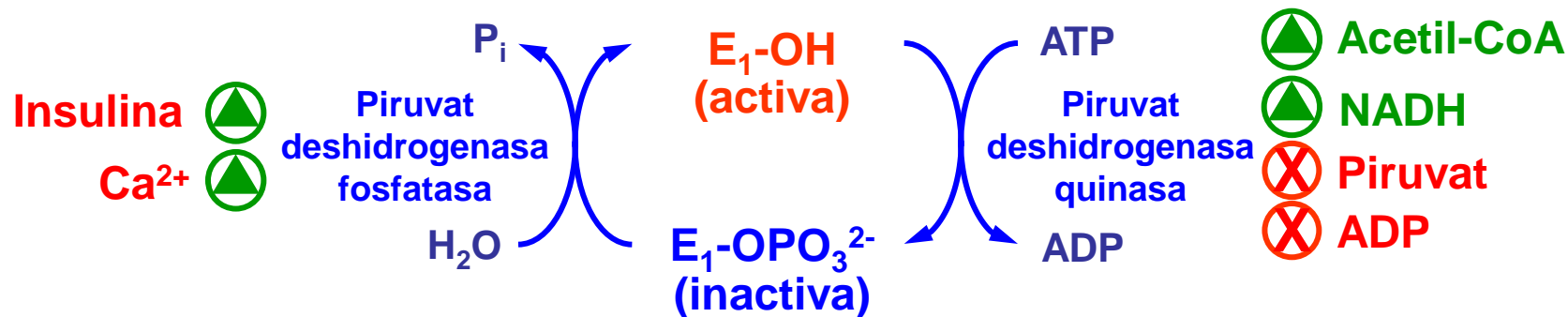
REGULACIÓ DEL COMPLEX PIRUVAT DESHIDROGENASA





1. Inhibició per producte: **acetil-CoA** i **NADH** (productes de les reaccions 3 i 5) competeixen amb el CoA i el NAD⁺ (substrats) per la unió al centre actiu dels enzims **E₂** i **E₃**, respectivament. Aquestes reaccions són **reversibles**. Per tant, elevades concentracions d'acetil-CoA i NADH reverteixen les reaccions, impedit la regeneració de la lipoamida i el FAD i, per tant, la reacció global.
2. Modificació covalent: fosforilació/desfosforilació del component piruvat deshidrogenasa (**E₁**) del complex.



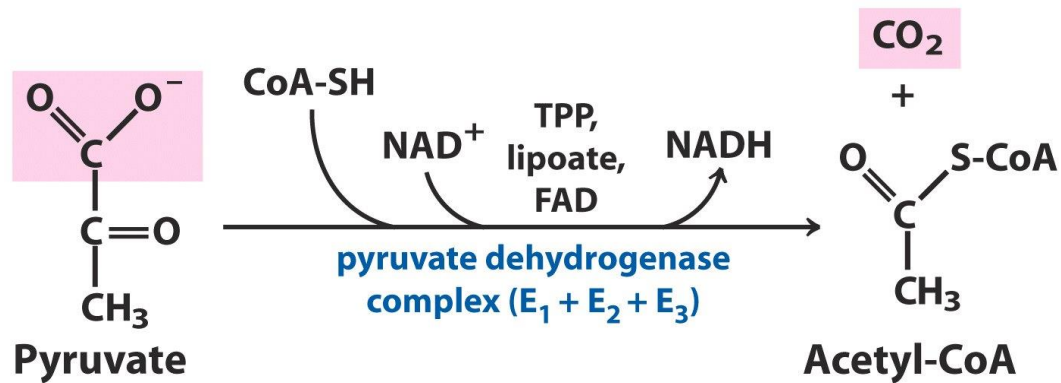
Inhibició per producte





-  **Acetil-CoA i NADH** (productes de la reacció) afavoreixen la fosforilació i inactivació d'E1 i per tant n'inhibeixen la reacció. El **piruvat** (substrat) inhibeix la reacció de fosforilació, per la qual cosa manté E1 en la seua forma activa (desfosforilada).
-  L'**ADP** inhibeix la fosforilació de l'enzim E1, per la qual cosa manté E1 en la seua forma activa (desfosforilada). Per tant, en condicions de baixa càrrega energètica s'activa la PDH. Per el contrari, en condicions d'alta càrrega energètica s'inhibeix la PDH.
-  La **insulina** activa la piruvat deshidrogenasa fosfatasa i afavoreix la desfosforilació i activació de E1. Per tant, la insulina activa la PDH.
-  El **Ca²⁺** activa la piruvat deshidrogenasa fosfatasa en múscul esquelètic i cardíac i afavoreix la desfosforilació i activació del component E1. Per tant, el calci activa la PDH (com també el cicle de Krebs) i faciliten l'obtenció de l'energia necessària per a la contracció muscular).

REGULACIÓ DEL COMPLEX PIRUVAT DESHIDROGENASA




Acetil-CoA (P)  E2 (IP), E1 (MC)

NADH (P)  E3 (IP), E1 (MC)

Piruvat (S)  E1 (MC)

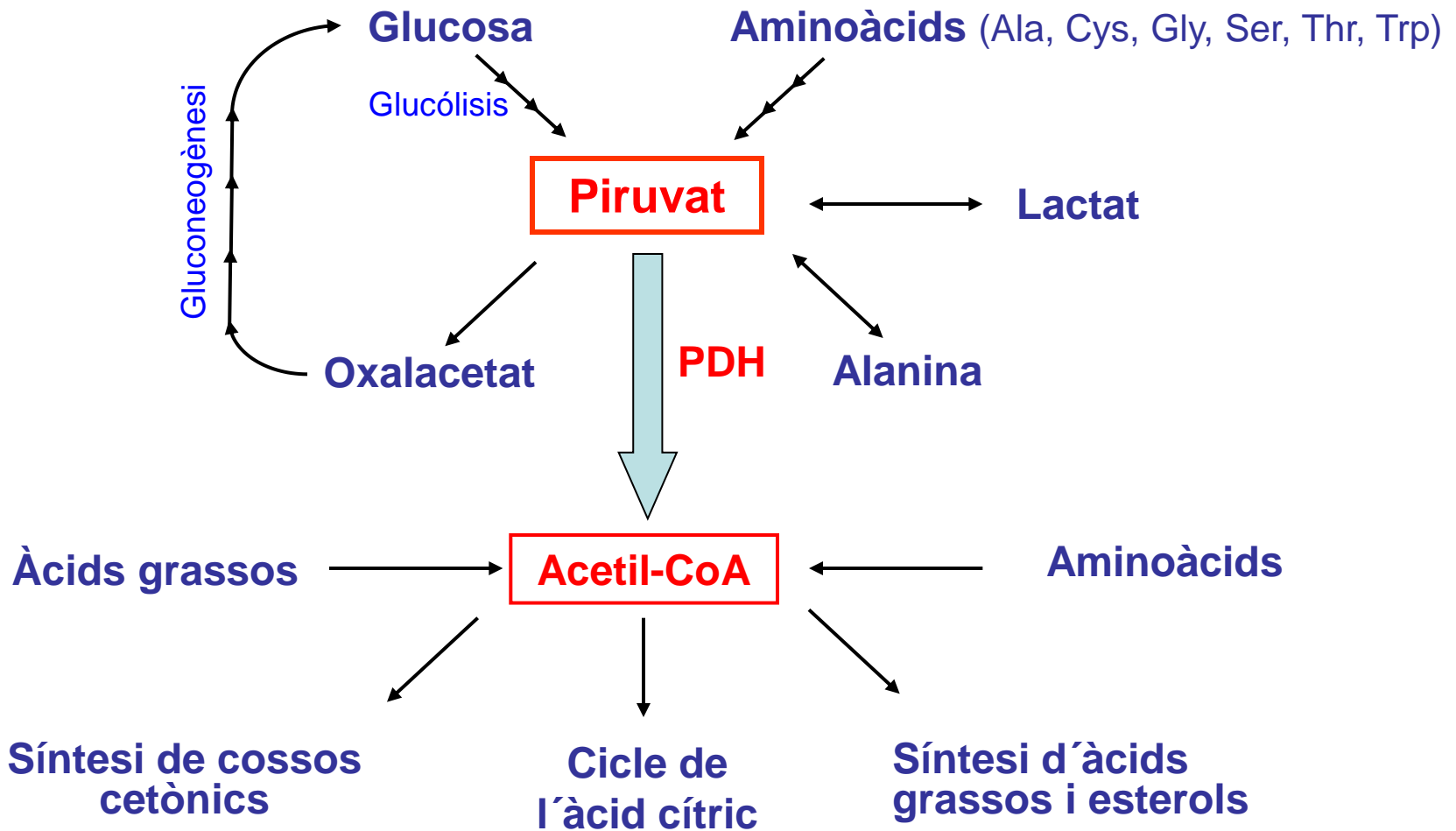
ADP (baixa ϵ)  E1 (MC)

Ca²⁺ (demanda ϵ)  E1 (MC)

Insulina (alta Glu)  E1 (MC)

IP: Inhibició per producte;
MC: modificació covalent.

Transformació de l'excés de glucosa en greix (fetge)



La reacció de la PDH suposa una cruïlla metabòlica clau en la connexió entre el metabolisme glucídic i el metabolisme lipídic, la qual cosa justificaria el seu sofisticat mecanisme de catàlisi i la complexitat de la seua regulació.

TEMA 16.

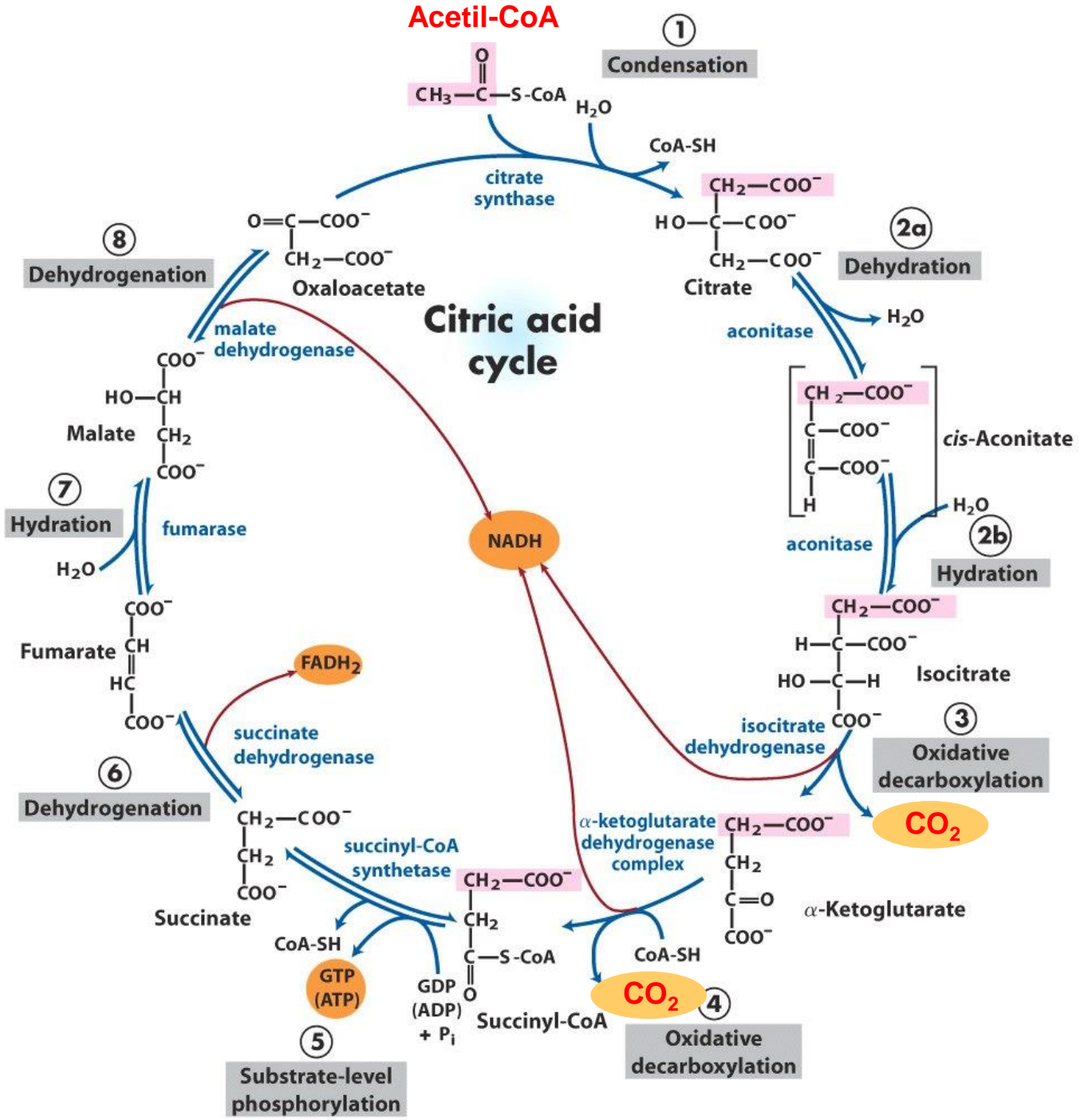
CICLE DE L'ÀCID CÍTRIC

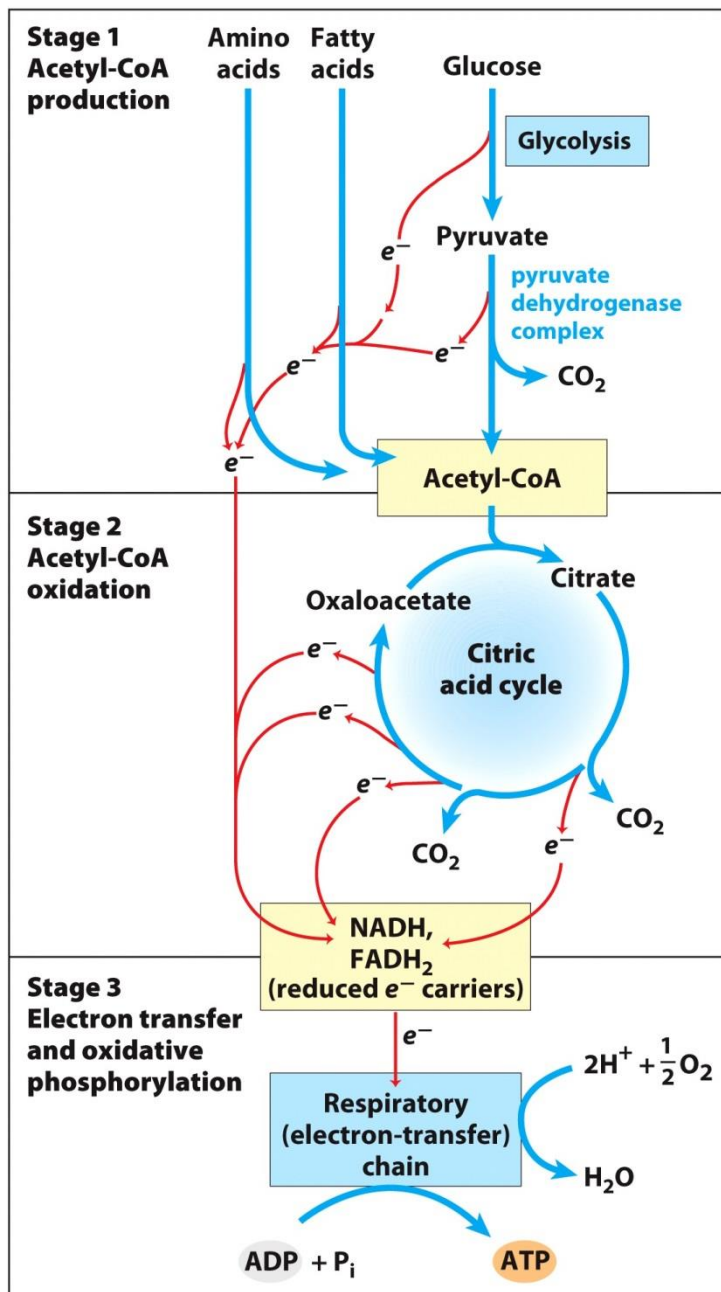
CICLE DELS ÀCIDS TRICARBOXÍLICS (TCA) O CICLE DE KREBS



Hans Krebs, 1900–1981

Unnumbered 16.p633
Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company





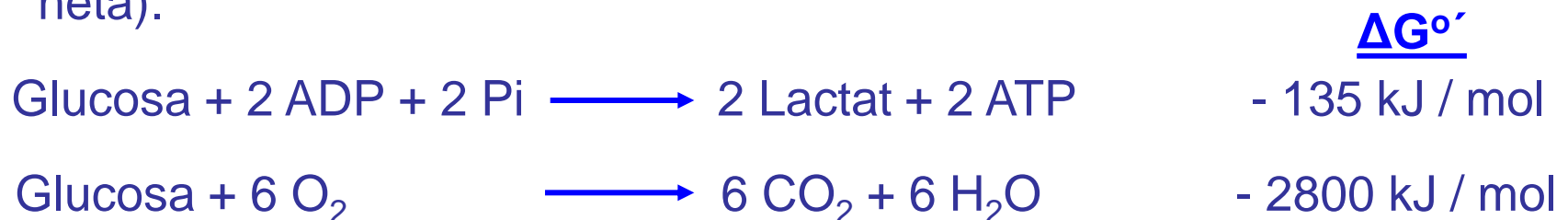
Orige de l'acetyl-CoA:

- Oxidació glucosa (glucòlisi + PDH)
- β -oxidació àcids grassos
- Degradació d'alguns aminoàcids

Vía central en l'oxidació de TOTS els combustibles

Figure 16-1
 Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
 © 2013 W. H. Freeman and Company

- ✚ És la ruta central en el metabolisme de combustibles, via final comuna en l'oxidació de TOTS els combustibles.
- ✚ El cicle de l'àcid cítric permet l'oxidació completa dels 2 àtoms de carboni de l'acetil-CoA fins a CO₂.
- ✚ En el cas de la glucosa, la seua oxidació s'inicia en la glucòlisi i continua en la reacció de la PDH, però es completa en el cicle de Krebs. Al final del procés, els seus 6 àtoms de carboni s'oxiden fins a 6 molècules de CO₂.
- ✚ Tots els enzims del cicle es localitzen en la **MATRIU MITOCONDRIAL** (com la PDH i els enzims implicats en l'oxidació d'àcids grassos i aminoàcids). Per tant, TOT L'ACETIL CoA ES GENERA EN LA MATRIU MITOCONDRIAL.
- ✚ L'oxidació completa de la glucosa fins a CO₂ és moltíssim més exergònica que la seua transformació en lactat (sense oxidació neta).



Estrategia del cycle de l'acid cítric

Primera fase (4 reaccions): els 2 àtoms de carboni de l'acetil-CoA s'oxiden fins a CO₂.

Segona fase (4 reaccions): regeneració de l'oxalacetat.

UNA SOLA MOLÈCULA D'OXALACETAT PODRIA SER UTILITZADA PER A L'OXIDACIÓ D'INFINITES MOLÈCULES D'ACETIL-CoA

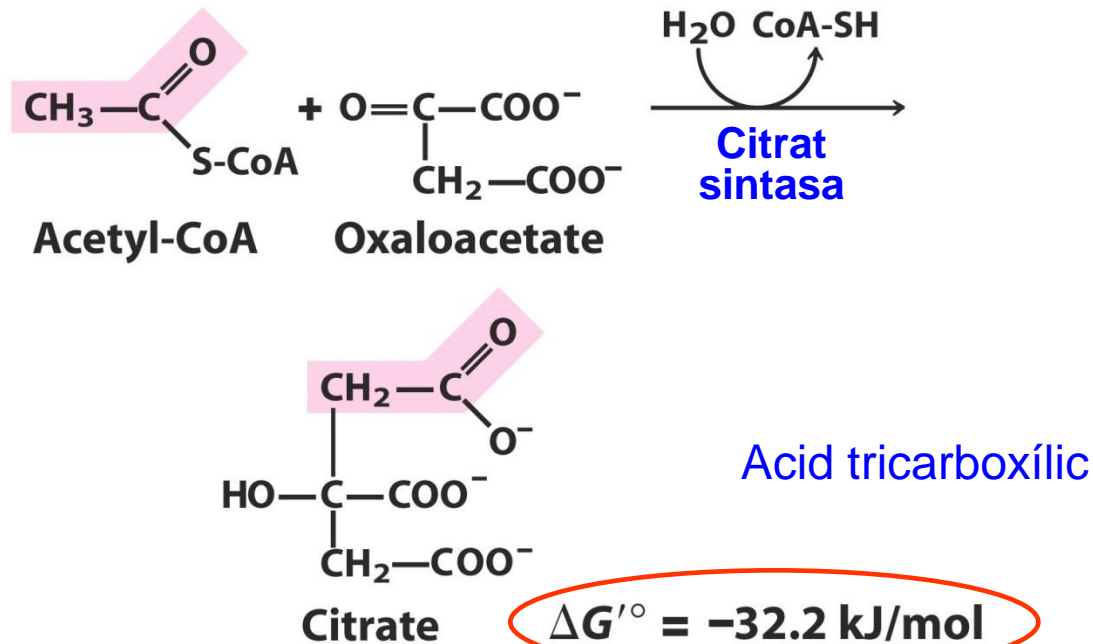
- ✚ L'oxidació dels àtoms de carboni allibera una gran quantitat d'energia lliure, que s'utilitza en la síntesi d'1 molècula de **GTP** i 4 molècules de coenzims reduïts (**3 NADH i 1 FADH₂**) per cada molècula d'acetil CoA.
- ✚ Els coenzims reduïts (NADH i FADH₂) són divises energètiques, ja que quan transferisquen els seus electrons a l'oxigen donaran lloc a la síntesi d'ATP.

Balanc global:



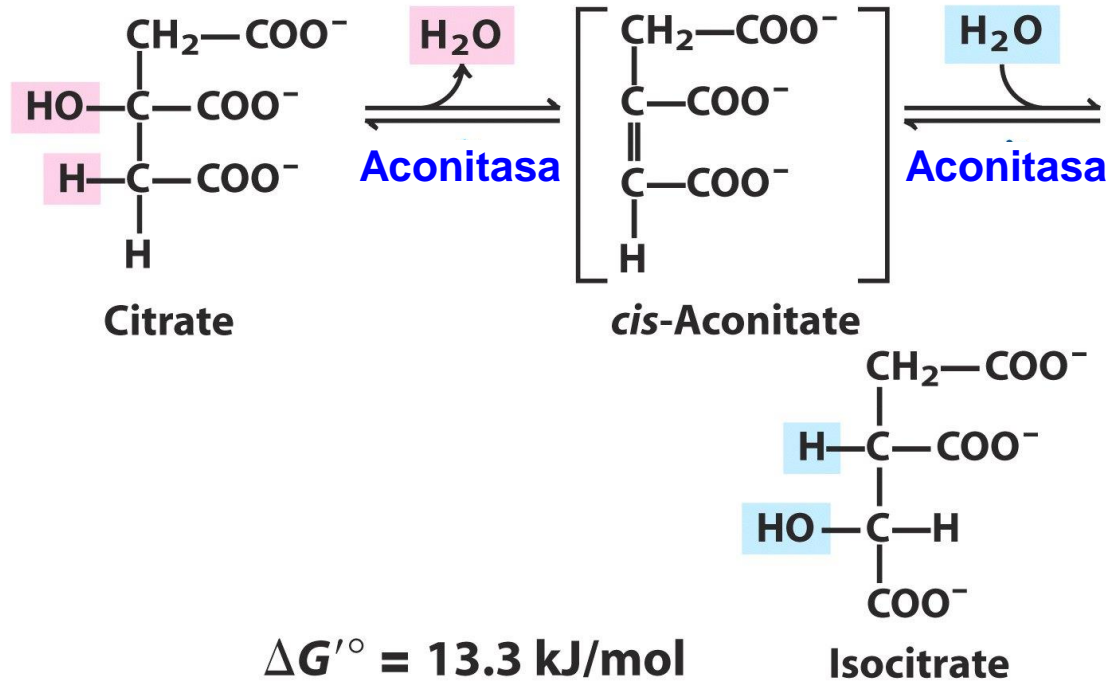
REACCIONS CICLE DE L'ÀCID CÍTRIC

1. Condensació de l'acetil amb el oxalacetat: citrat sintasa.



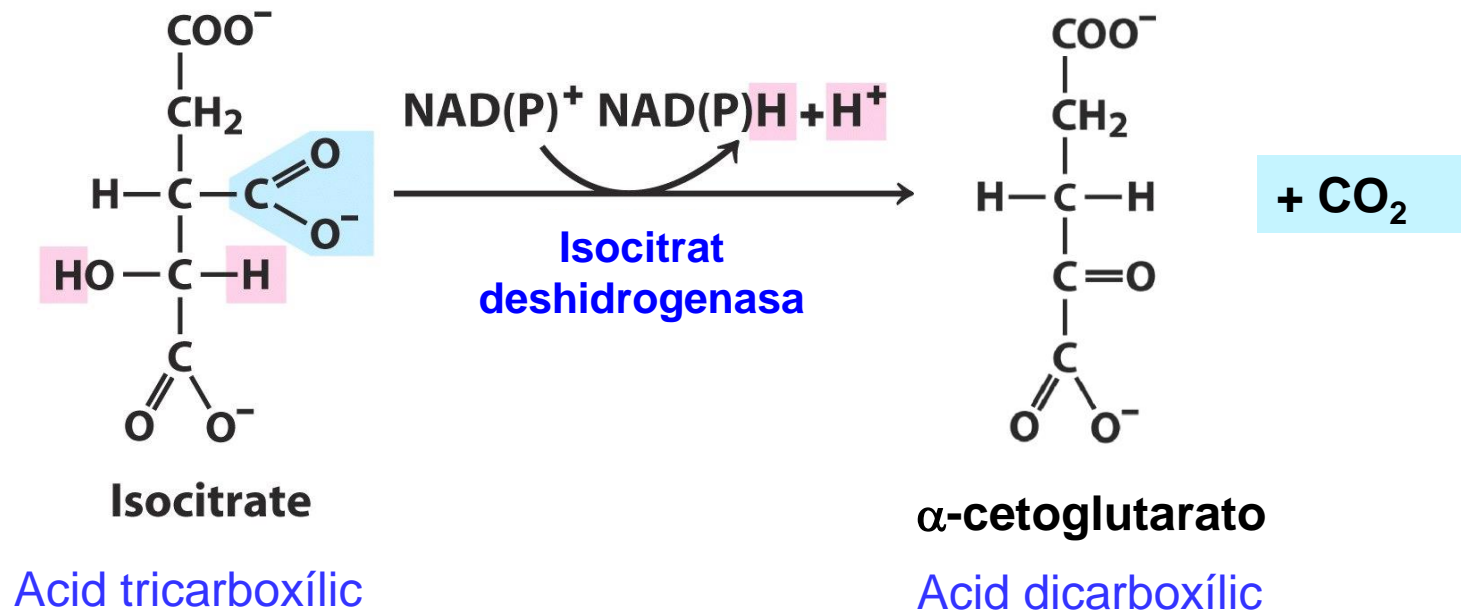
- **Irreversible** (molt exergònica): impulsada per l'hidròlisi del enllaç tioèster de l'acetil-CoA (per això, la PDH produeix acetil-CoA en lloc d'acetat).
- Reacció “decisiva” i **enzim generador de flux**.

2. Isomerització del citrat a isocitrat: aconitasa.



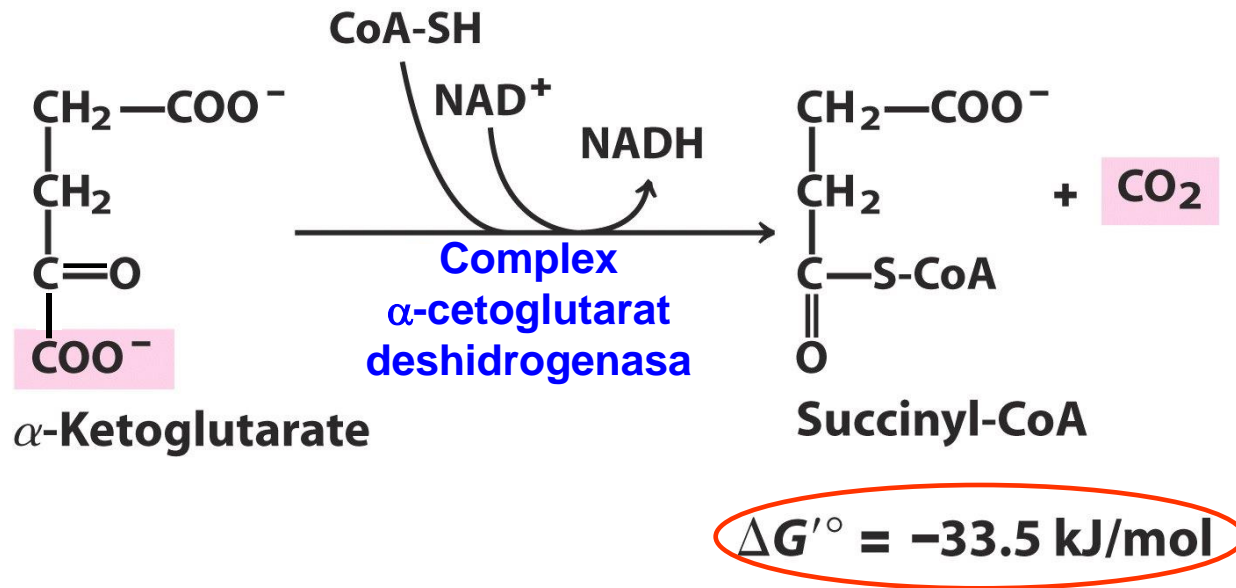
Acid tricarboxílic

3. Descarboxilació oxidativa de l'isocitrat



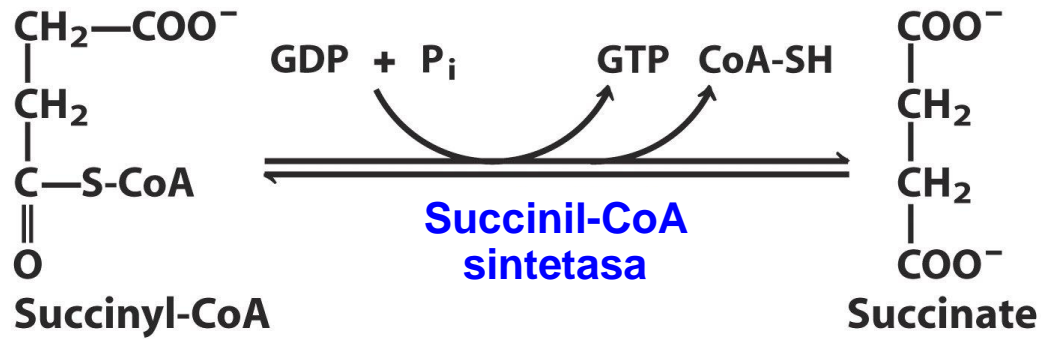
- **Irreversible** (molt exergònica).
- **Descarboxilació oxidativa**: un àtom de carboni es perd en forma de CO₂ (descarboxilació) i l'isocitrat es deshidrogena (oxidació). El H⁺ i els 2 e⁻ es transfereixen al NAD⁺, per formar NADH.

4. Descarboxilació oxidativa del α -cetoglutarat



- **Irreversible** (molt exergònica).
- **Descarboxilació oxidativa**: un àtom de carboni es perd en forma de CO_2 y l' α -cetoglutarat es deshidrogena. El H^+ i els 2 e^- es transfereixen al NAD^+ , per formar NADH (igual a la de la PDH).
- Es genera un compost amb gran energia lliure d'hidròlisi (tioèster).

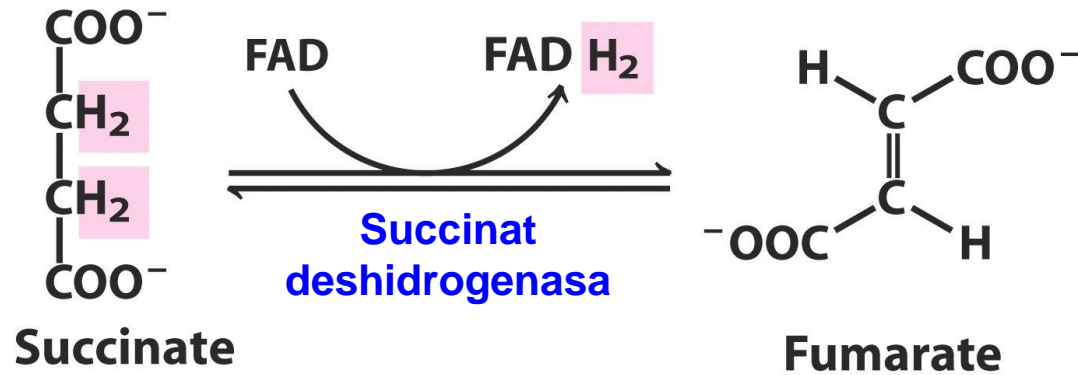
5. Fosforilació a nivell de substrat



$$\Delta G'^{\circ} = -2.9 \text{ kJ/mol}$$

- **Fosforilació a nivell de substrat**: s'acopla la hidròlisi del enllaç tioèster del succinil CoA amb la síntesi de GTP a partir de GDP.

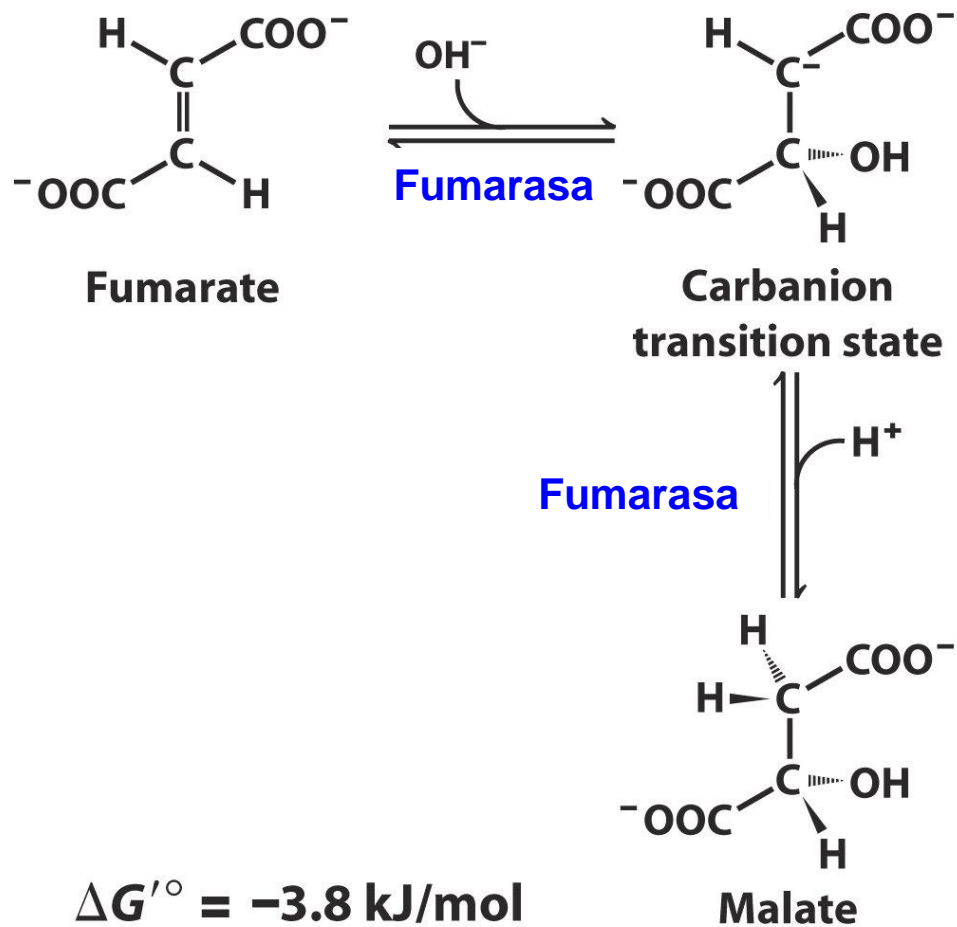
6. Deshidrogenació del succinat



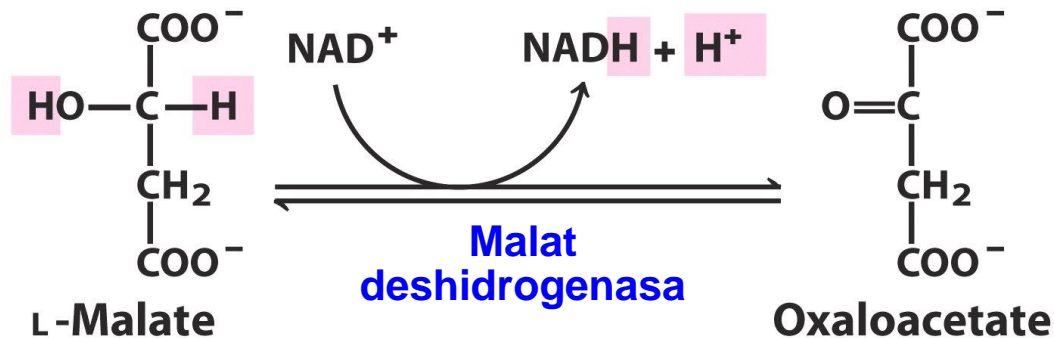
$$\Delta G'^{\circ} = 0 \text{ kJ/mol}$$

- **Deshidrogenació** del succinat. El H⁺ i els 2 e⁻ es transfereixen al FAD, per formar FADH₂.

7. Hidratació del fumarat



8. Deshidrogenació del malat



$$\Delta G'^{\circ} = 29.7 \text{ kJ/mol}$$

- **Deshidrogenació** del malat. 1 H⁺ i 2 e⁻ es transfereixen al NAD⁺, per formar NADH.
- Endergònica en condicions estàndard, pero **reversible en condicions fisiològiques** (baixes concentracions d'oxalacetat).

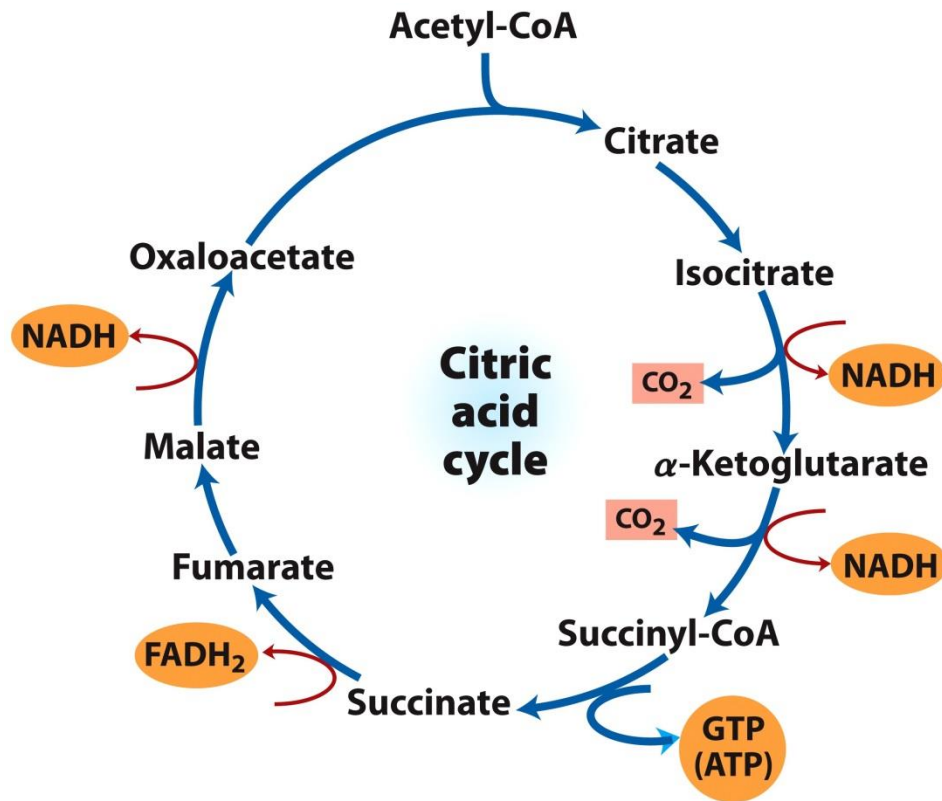


Figure 16-14
Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

- 2 reaccions de **descarboxilació oxidativa**: els 2 àtoms de carboni de l'acetil CoA s'eliminen en forma de 2 molècules de **CO₂**. A més, s'hi produeix **deshidrogenació** (oxidació) i transferència d'electrons al NAD⁺ per formar **NADH**.
- 2 reaccions addicionals de **deshidrogenació**, amb producció de **NADH i FADH₂**.
- Una reacció de **fosforilació a nivell de substrat**, amb síntesi d'1 molècula de **GTP**.

Nucleósid difosfat quinasa: **GTP + ADP** \rightleftharpoons **GDP + ATP**

¡¡ EL CICLE DE L'ÀCID CÍTRIC NOMÉS POT FUNCIONAR EN CONDICIONS AERÒBIQUES !!

Encara que l'oxigen no participa en el cicle, el seu funcionament requereix la reoxidació de NADH i FADH₂ mitjançant la transferència dels seus electrons fins a l'oxigen.

INTERMEDIARIS DEL CICLE DE L'ÀCID CÍTRIC COM A PRECURSORS BIOSINTÈTICS

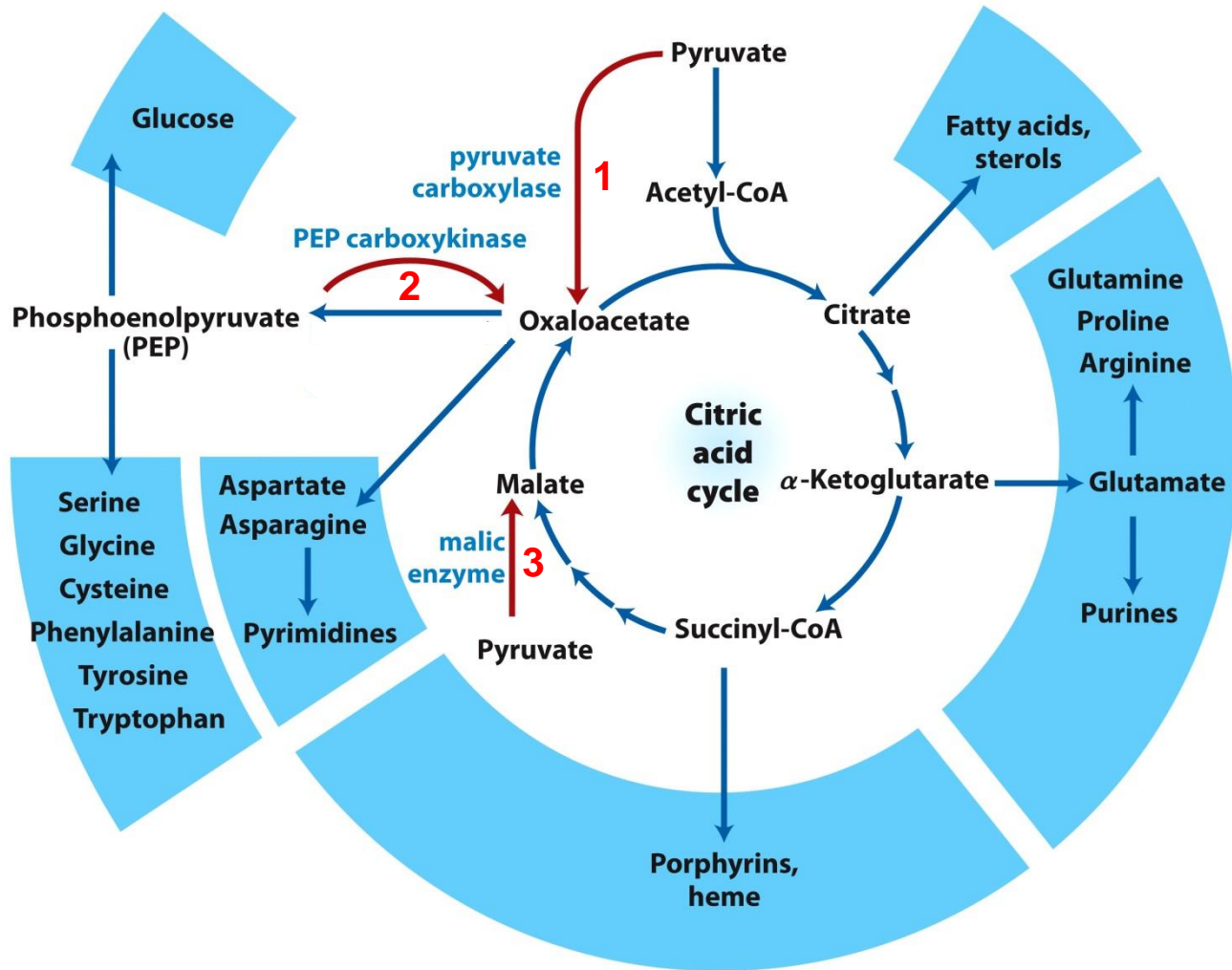


Figure 16-16
Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

El cicle de l'àcid cítric es una via anfibòlica (catabòlica i anabòlica)

REACCIONS ANAPLEROTIQUES

Permeten la reposició d'intermediaris del cicle de Krebs per compensar les pèrdues que es produeixen en reaccions biosintètiques. Per tant, el seu objectiu és mantenir relativament constant la concentració d'intermediaris per permetre el funcionament normal del cicle de Krebs.

Nº	Enzima	Reacció	Tejido	Observacions
1	Piruvat carboxilasa	$\text{Piruvat} + \text{HCO}_3^- + \text{ATP} \longrightarrow \text{Oxalacetat} + \text{ADP} + \text{P}_i$	Fetge Ronyó	Primera reacció de la gluconeogènesi, produeix oxalacetat en la matriu mitocondrial.
2	PEP carboxiquinasa (PEPCK)	$\text{PEP} + \text{CO}_2 + \text{GDP} \longrightarrow \text{Oxalacetat} + \text{GTP}$	Cor Múscul	L'isoenzim hepàtic catalitza la reacció inversa en la gluconeogènesi.
3	Enzim málic	$\text{Piruvat} + \text{HCO}_3^- + \text{NADPH} \longrightarrow \text{Malat} + \text{NADP}^+$	Tots	Pot funcionar en sentit contrari per produir NADPH (reaccions biosintètiques).

Altres reaccions anaplerotiques: rutes de degradació d'aminoàcids que produeixen diferents intermediaris del cicle de Krebs (α -cetogluarat, succinil-CoA, fumarat u oxalacetat). Ej. aminoàcids glucogènics.

VARIACIONS D'ENERGIA LLIURE DE LES REACCIONS DEL CICLE DE L'ÀCID CÍTRIC

Reaction	Enzyme	$\Delta G^{\circ'}$ (kJ · mol ⁻¹)	ΔG (kJ · mol ⁻¹)
1	Citrate synthase	-31.5	Negative
2	Aconitase	~5	~0
3	Isocitrate dehydrogenase	-21	Negative
4	α -Ketoglutarate dehydrogenase multienzyme complex	-33	Negative
5	Succinyl-CoA synthetase	-2.1	~0
6	Succinate dehydrogenase	+6	~0
7	Fumarase	-3.4	~0
8	Malate dehydrogenase	+29.7	~0

Table 21-2

© John Wiley & Sons, Inc. All rights reserved.

REGULACIÓ DEL CICLE DE L'ÀCID CÍTRIC

- 1. Control per disponibilitat de substrats:** acetil-CoA i, especialment, oxalacetat, en la reacció de la citrat sintasa.

La citrat sintasa té un elevat coeficient d'elasticitat (ϵ), és a dir, posseeix una $K_M \gg [oxalacetat]$, per la qual cosa la velocitat de la reacció (i per tant del cicle de Krebs) és directament proporcional a la concentració intramitocondrial d'oxalacetat.

- 2. Inhibició per producte o per intermediaris que es troben més endavant al llarg del cicle.**

- Citrat i succinil-CoA inhibeixen la citrat sintasa (en competir amb oxalacetat i acetil-CoA per la unió en el centre actiu).
- El succinil-CoA inhibeix la α -cetoglutarat deshidrogenasa (en competir amb el CoA).
- El NADH inhibeix isocitrat i α -cetoglutarat deshidrogenases. El NADH també influeix sobre la disponibilitat d'acetil-CoA (en inhibir la PDH) i oxalacetat (desplaça l'equilibri de la malat deshidrogenasa). Per tant, una relació intramitocondrial $[NADH]/[NAD^+]$ alta inhibeix el cicle de Krebs.

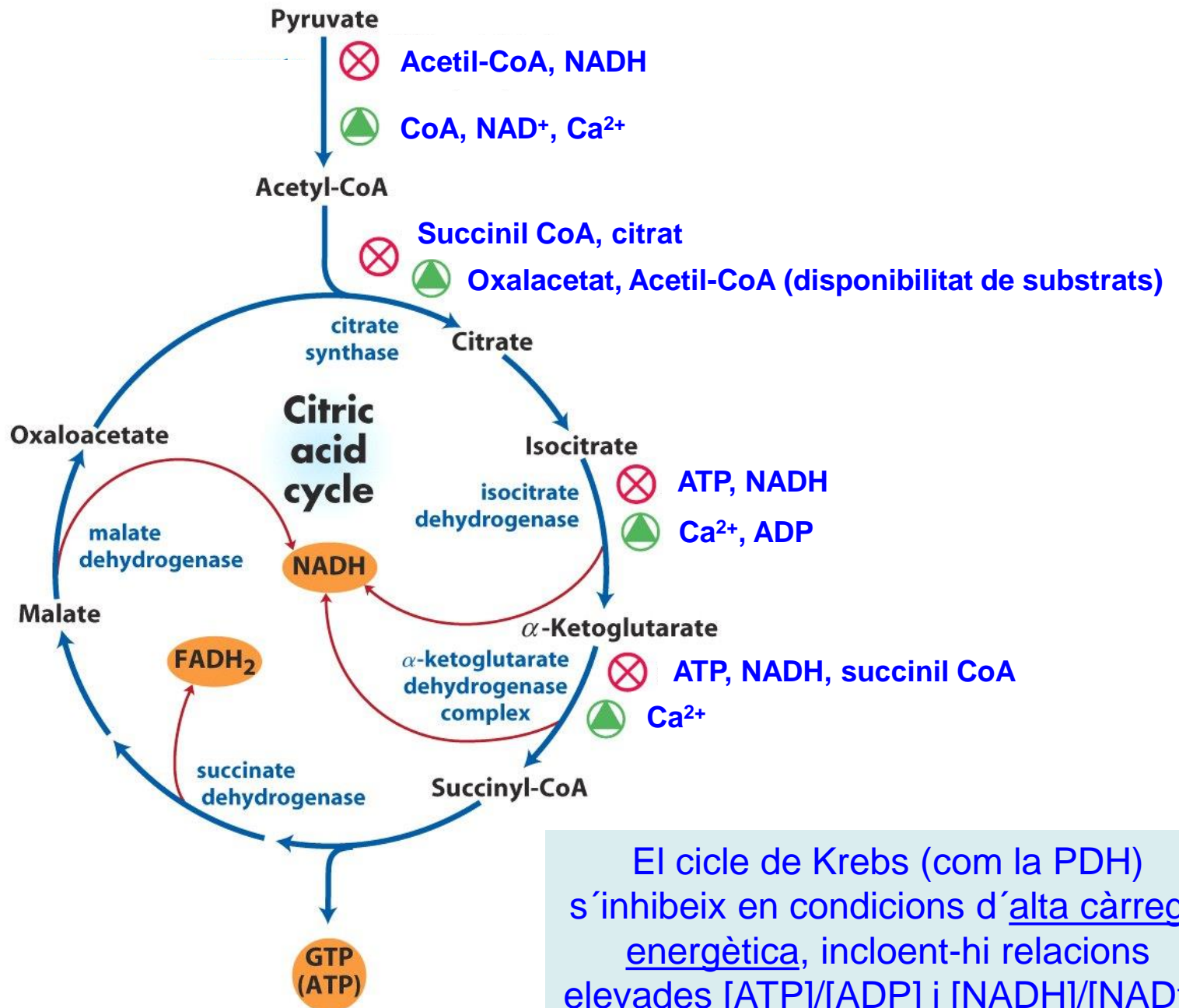
3. Efectes al·lostèrics.

- ATP: efector al·lostèric negatiu de la isocitrat i α -cetoglutarat deshidrogenases. ADP: efector al·lostèric positiu de la isocitrat deshidrogenasa. Càrrega energètica mitocondrial: el cicle de Krebs s'inhibeix en condicions d'alta càrrega energètica (relació [ATP]/[ADP] elevada) i viceversa.

(En condicions d'alta càrrega energètica, la inhibició del cicle produeix la acumulació de citrat, indicador d'alta càrrega energètica. L'excés de citrat pot sortir al citosol, on inhibeix a la PFK1 i, per tant, a la glucòlisi).

- Ca^{2+} : efector al·lostèric positiu de la isocitrat i α -cetoglutarat deshidrogenases. Per tant, el Ca^{2+} activa el cicle de Krebs.

Durant la contracció muscular s'activen tant la PDH com el cicle de Krebs, per produir l'energia necessària en aquest procés.



El cicle de Krebs (com la PDH) s'inhibeix en condicions d'alta càrrega energètica, incloent-hi relacions elevades [ATP]/[ADP] i [NADH]/[NAD⁺].

REGULACIÓ DEL CICLE DE KREBS (RECOPILOCIÓ)

Citrat Sintasa (enzim generador de flux)

⊗ Citrat (P) i succinil-CoA (I)

- Citrat (P) competeix amb l'oxalacetat (S)
- Succinil-CoA (I) competeix amb l'acetil-CoA (S)

Isocitrat deshidrogenasa

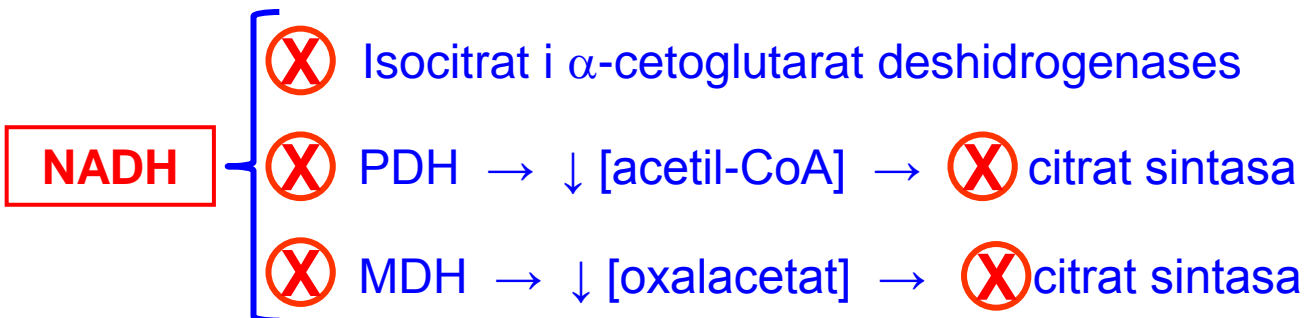
⊗ NADH (P) (competeix amb NAD⁺, S)

⊗ ATP ⊕ Ca²⁺

α-cetoglutarat deshidrogenasa

⊗ NADH (P) (competeix amb NAD⁺, S)

⊗ ATP ⊕ Ca²⁺

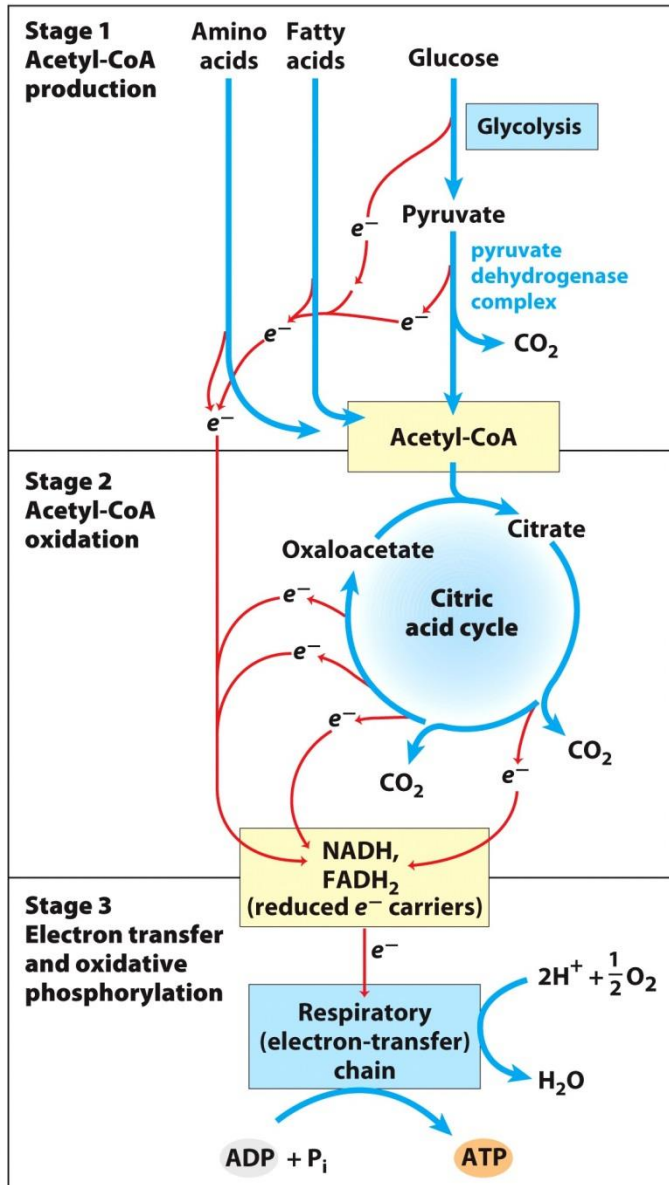


TEMA 17.

TRANSPORT ELECTRÒNIC I FOSFORILACIÓ OXIDATIVA

1. Panoràmica general i aspectes termodinàmics.
2. Localizació subcel·lular: la mitocondria.
3. Grups funcionals de la cadena de transport electrònic.
4. Cadena de transport electrònic mitocondrial.
5. Acoblament energètic entre el transport d'electrons i la fosforilació oxidativa.
6. Síntesi d'ATP: fosforilació oxidativa.
7. Sistemes de transport mitocondrials.
8. Regulació de la fosforilació oxidativa.
9. Rendiment energètic de la fosforilació oxidativa.

1. PANORÀMICA GENERAL I ASPECTES TERMODINÀMICS



Oxidació nutrients: fase 1 (producció d'acetil-CoA) i fase 2 (oxidació de l'acetil-CoA en el cicle de Krebs). S'hi produeix NADH i FADH₂.

FOSFORILACIÓ OXIDATIVA

Síntesi d'ATP (fosforilació del ADP) acoblada al transport d'electrons (procedents de la **oxidació dels nutrients**) des de coenzims reduïts (NADH o FADH₂) fins a l'oxígen, acceptor final dels electrons (cadena de transport electrònic).

Potencials de reducció estàndard i variació d'energia lliure en la cadena de transport electrònic

TABLE 19-2 Standard Reduction Potentials of Respiratory Chain and Related Electron Carriers

Redox reaction (half-reaction)	E'° (V)
$2\text{H}^{+} + 2e^{-} \longrightarrow \text{H}_2$	-0.414
$\text{NAD}^{+} + \text{H}^{+} + 2e^{-} \longrightarrow \text{NADH}$	-0.320
$\text{NADP}^{+} + \text{H}^{+} + 2e^{-} \longrightarrow \text{NADPH}$	-0.324
$\text{NADH dehydrogenase (FMN)} + 2\text{H}^{+} + 2e^{-} \longrightarrow \text{NADH dehydrogenase (FMNH}_2)$	-0.30
$\text{Ubiquinone} + 2\text{H}^{+} + 2e^{-} \longrightarrow \text{ubiquinol}$	0.045
$\text{Cytochrome } b (\text{Fe}^{3+}) + e^{-} \longrightarrow \text{cytochrome } b (\text{Fe}^{2+})$	0.077
$\text{Cytochrome } c_1 (\text{Fe}^{3+}) + e^{-} \longrightarrow \text{cytochrome } c_1 (\text{Fe}^{2+})$	0.22
$\text{Cytochrome } c (\text{Fe}^{3+}) + e^{-} \longrightarrow \text{cytochrome } c (\text{Fe}^{2+})$	0.254
$\text{Cytochrome } a (\text{Fe}^{3+}) + e^{-} \longrightarrow \text{cytochrome } a (\text{Fe}^{2+})$	0.29
$\text{Cytochrome } a_3 (\text{Fe}^{3+}) + e^{-} \longrightarrow \text{cytochrome } a_3 (\text{Fe}^{2+})$	0.35
$\frac{1}{2}\text{O}_2 + 2\text{H}^{+} + 2e^{-} \longrightarrow \text{H}_2\text{O}$	0.8166

Table 19-2
Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

$$\Delta G^{\circ} = -n F \Delta E_0'$$

El transport d'electrons de la cadena respiratòria ocorre a favor de potencials de reducció ($\Delta E > 0$) i, per tant, allibera energia lliure ($\Delta G < 0$).

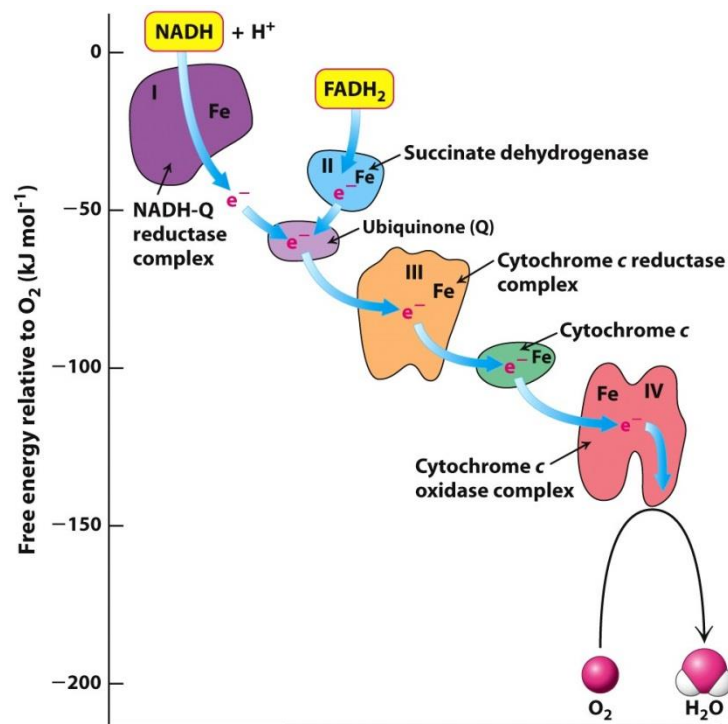


Figure 18.6
Biochemistry, Seventh Edition
© 2012 W. H. Freeman and Company

La transferència d'electrons des del NADH o el FADH₂ fins a l'O₂ és un procés molt exergònic (allibera una gran quantitat d'energia lliure)

- NADH i FADH₂ (succinat) posseeixen potencials de reducció estàndard baixos (E_o' = - 0,32 i + 0,03 V, respectivament) i, per tant, una gran tendència a cedir els electrons.
- El O₂ poseeix un potencial de reducció estàndard molt positiu (el major) (E_o' = + 0,82 V) i, per tant, una gran tendència a acceptar els electrons: l'oxígen és l'acceptor final dels electrons en la cadena de transport electrònic.



$$\Delta G^{\circ'} = - n F \Delta E_{o'} \quad ; \quad \Delta E_{o'} = E_{o'} (\text{acceptor}) - E_{o'} (\text{donador})$$

$$\Delta G^{\circ'} (\text{NADH}) = - 2 \times 96,48 \text{ kJ/V.mol} \times (0,82 - (- 0,32)) \text{ V} = - 220 \text{ kJ/mol}$$

$$\Delta G^{\circ'} (\text{FADH}_2) = - 2 \times 96,48 \text{ kJ/V.mol} \times (0,82 - (+ 0,03)) \text{ V} = - 152 \text{ kJ/mol}$$

(succinat)

L'alliberament d'energia lliure durant la transferència d'electrons a l'oxigen s'acobla amb la síntesi d'ATP a partir d'ADP i Pi (fosforilació oxidativa)

Síntesi ATP: + 30,5 kJ/mol (condicions estàndard).

- NADH \rightarrow O₂: - 220 kJ/mol. 7 ATP (màxim)
- Succinat (FADH₂) \rightarrow O₂: - 152 kJ/mol. 5 ATP (màxim)

El rendiment energètic real en la transferència d'electrons des del NADH i el succinat (FADH₂) és \approx 2,5 i 1,5 ATP, respectivament (35-40 % eficiència).

L'oxidació completa de la glucosa fins a CO₂ és un proces molt exergònic (allibera una gran quantitat d'energia lliure)

		<u>ΔG° (kJ / mol)</u>
1. Glucólisi (10 reaccions)		- 76,5
2. PDH (2x)	2 x (- 33,4)	- 66,8
3. Cicle de l'ácid cítric (2x)	2 x (- 50,3)	- 100,6
4. 10 NADH \longrightarrow O ₂	10 X (- 220)	- 2200,0
5. 2 FADH ₂ \longrightarrow O ₂	2 X (- 150)	- 300,0
	TOTAL	\approx - 2800 kJ/mol

L'energia s'allibera de forma gradual, però la màxima quantitat d'energia s'obté durant la cadena de transport electrònic.

2. LOCALIZACIÓ SUBCEL·LULAR: LA MITOCONDRIA

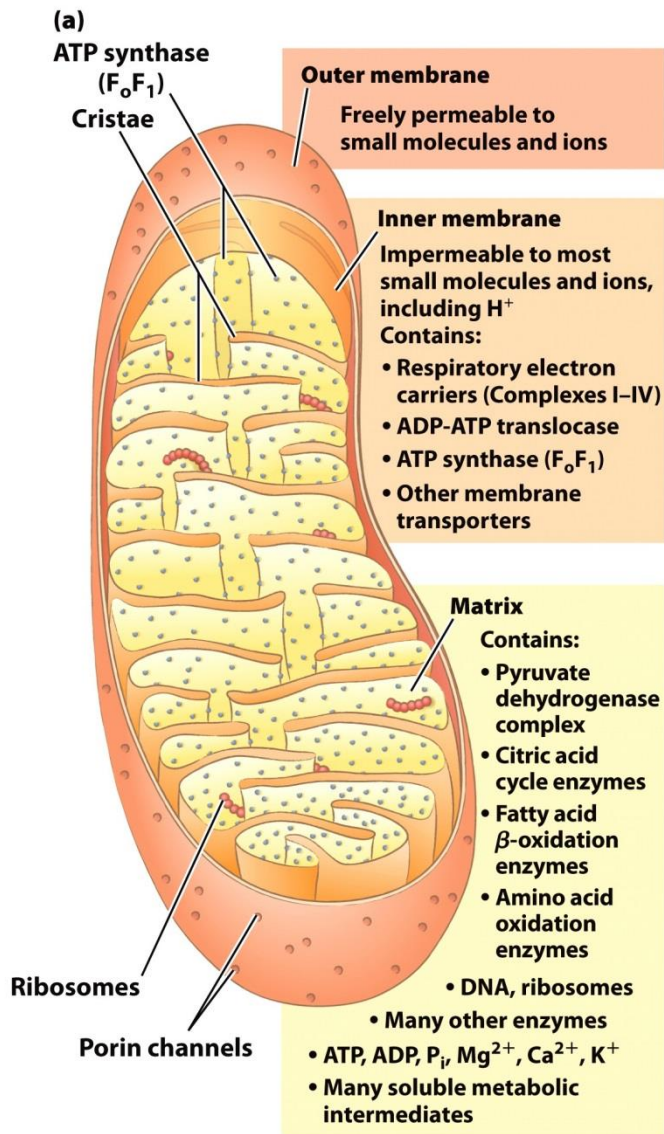


Figure 19-2
Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

MEMBRANA EXTERNA

Lliurement **permeable** a petites molècules i ions (fins a 5-10 kDa).

MEMBRANA INTERNA

• **Impermeable** a la majoria de petites molècules i ions, incloent-hi H^+ . Permeable a O_2 , CO_2 i H_2O . 75 % proteïnes. Crestes (major superfície).

- Complexos I-IV cadena de transport electrònic;
- ATP sintasa (complex V);
- ATP/ADP translocasa;
- Altres transportadors de membrana.

MATRIU MITOCONDRIAL

- Complex piruvat deshidrogenasa;
- Enzims del cicle de l'acid cítric;
- Enzims β -oxidació àcids grassos;
- Enzims oxidació aminoàcids.

Fonts d'electrons de la cadena de transport electrònic

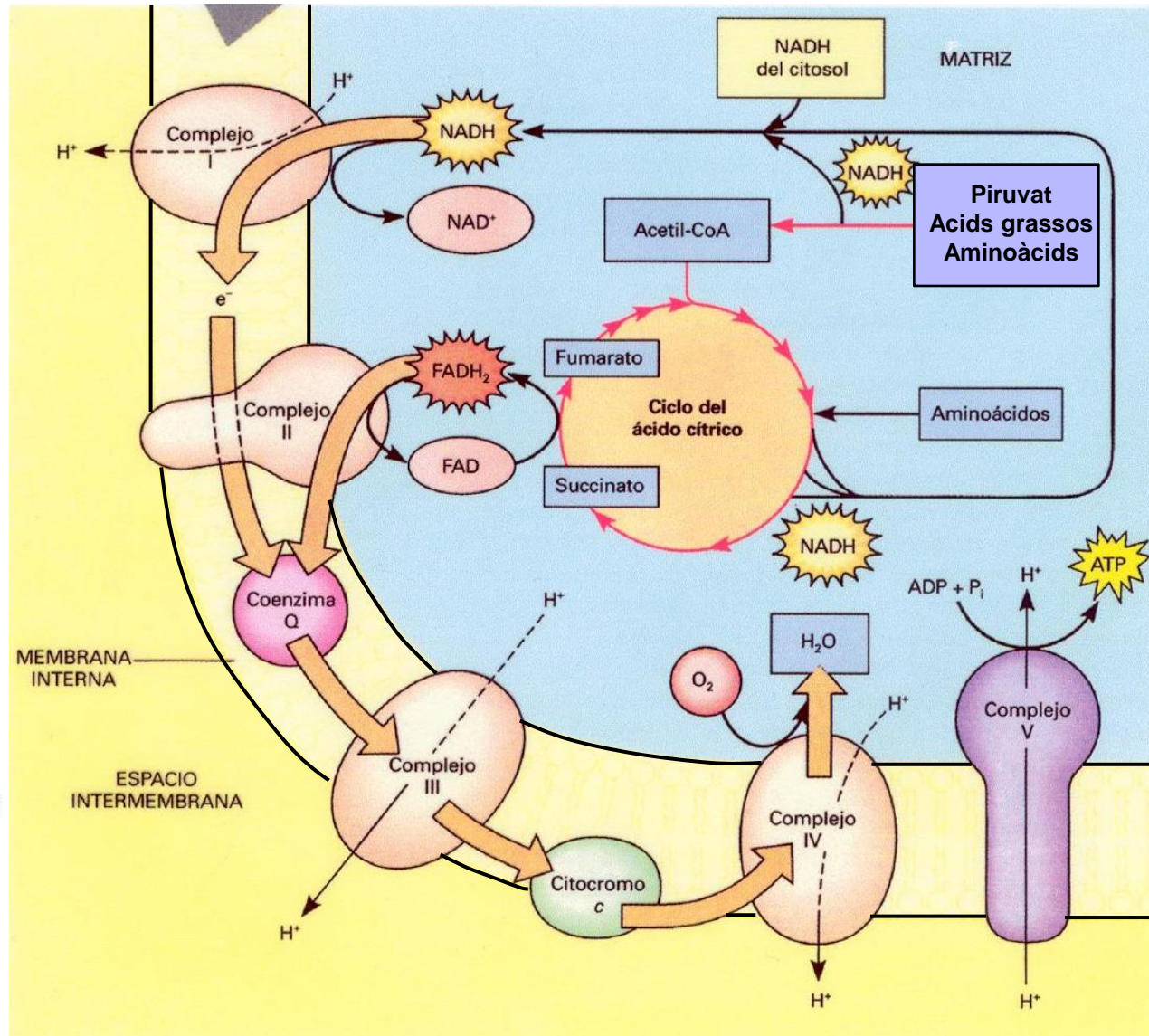
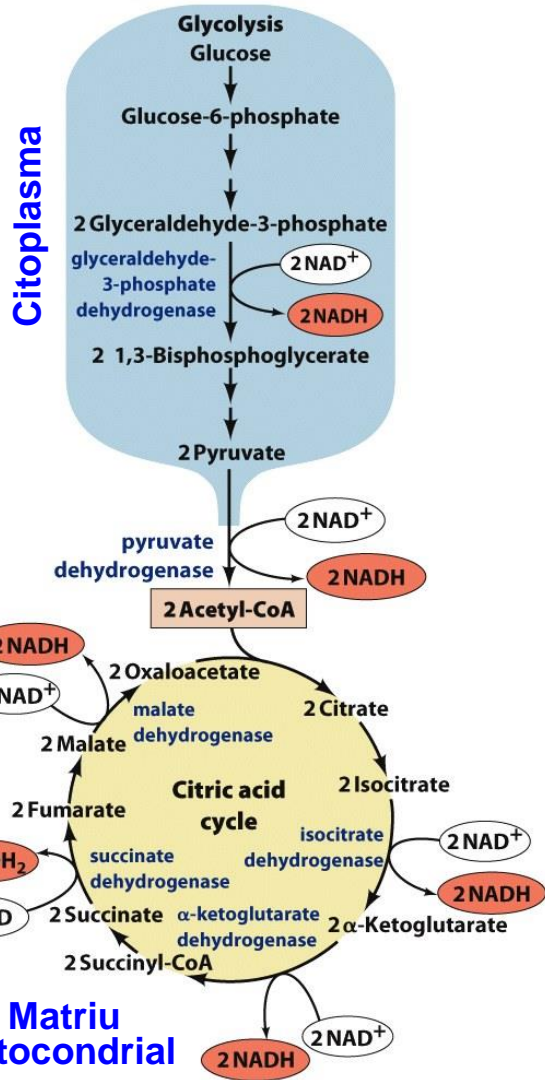


Figure 22-1
 © John Wiley & Sons, Inc. All rights reserved.

3. GRUPS FUNCIONALS DE LA CADENA DE TRANSPORT ELECTRÒNIC

3.1. CITOCROMS: Proteïnes que contenen un grup hemo (Fe).

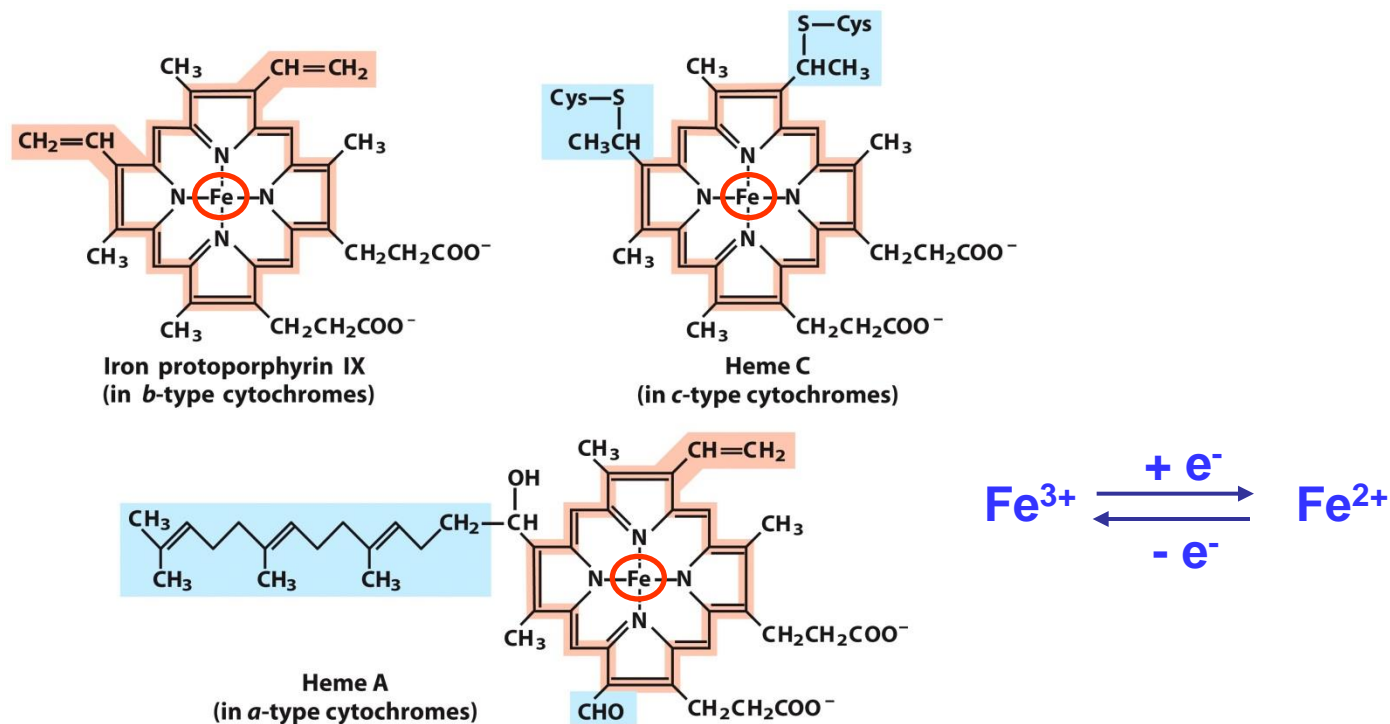
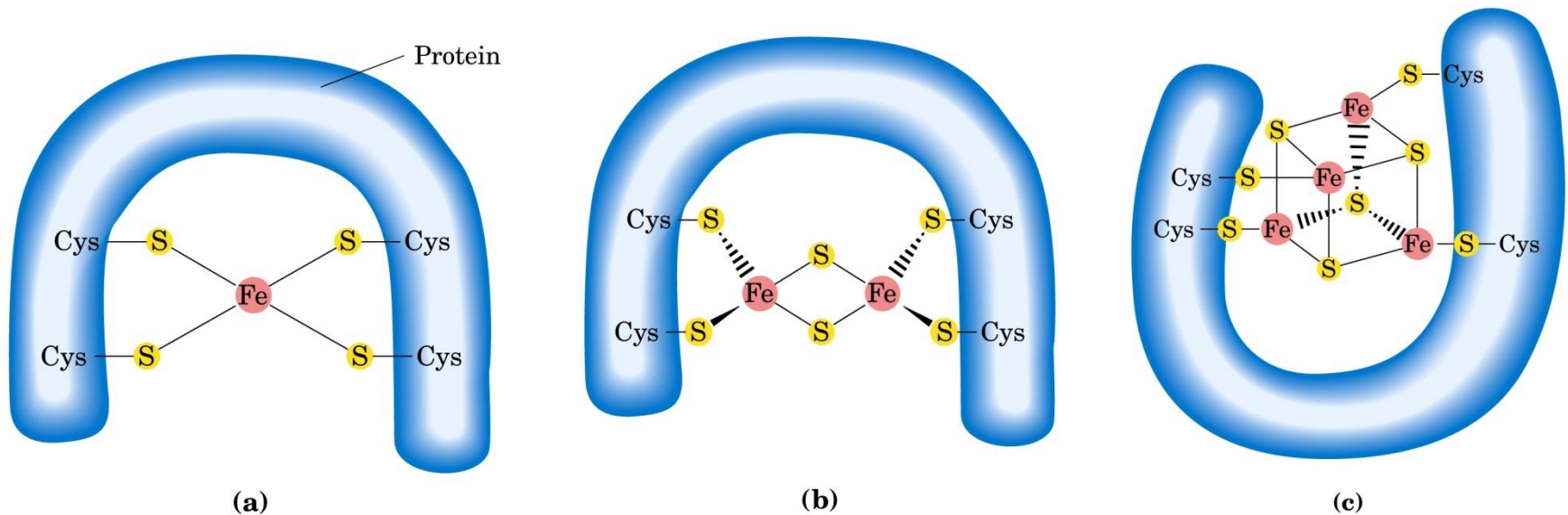


Figure 19-4a
Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

- La capacitat de transportar e⁻ dels citocroms resideix en l'àtom de Fe del grup hemo (el potencial de reducció varia segons la seua estructura o la proteïna en la qual es troba);
- Participen en reaccions de transferència d'1 e⁻ (complexos II / III / IV, cit. C).

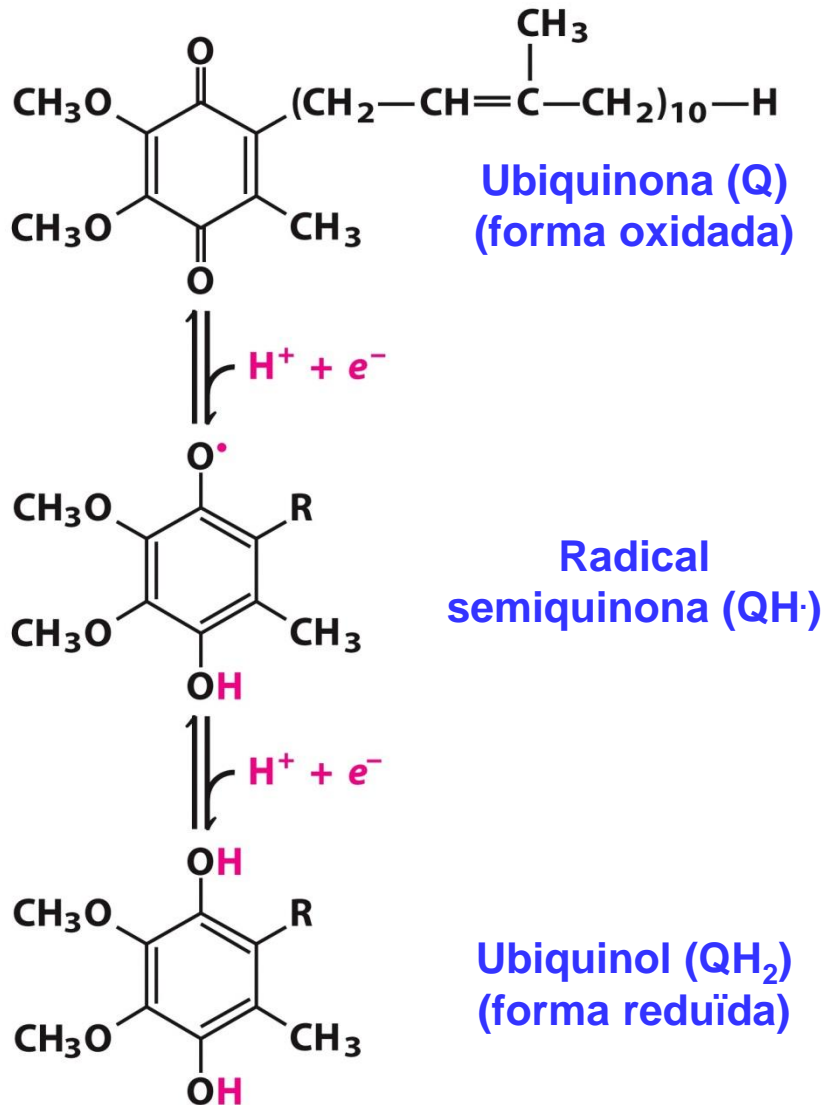
3.2. PROTEÏNES FERROSULFURADES

Proteïnes que contenen àtoms de ferro associats amb àtoms de sofre inorgànic, amb àtoms de sofre de residus de Cys o tots dos.



- Participen en reaccions de transferència d'1 e⁻ (complexos I / II / III).

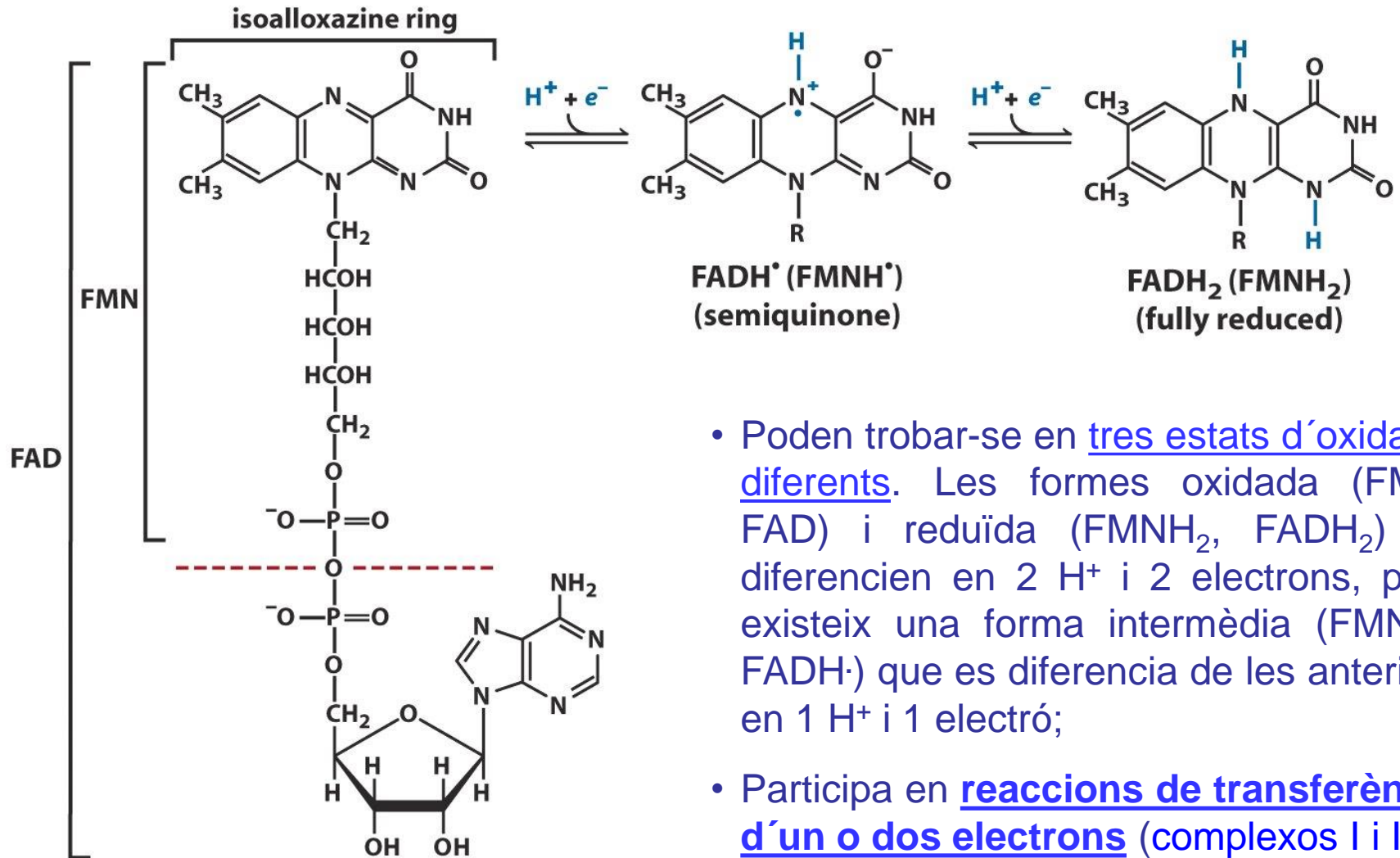
3.3. UBIQUINONA O COENZIM Q



NO ÉS UNA PROTEÏNA!!!

- Pot trobar-se en tres estats d'oxidació diferents. Les formes oxidada (Q) i reduïda (QH₂) es diferencien en 2 H⁺ i 2 electrons, però existeix una forma intermèdia (QH·) que es diferencia de les anteriors en 1 H⁺ i 1 electró;
- Participen en reaccions de transferència d'un o dos electrons: nexes d'unió entre donadors de 2 electrons i acceptors d'un sol electró;
- Elevada hidrofobicitat (10 isoprens), cosa que li permet difondre lliurement en la membrana mitocondrial interna, per intervenir el transport d'electrons entre diferents complexos (des dels complexos I/II fins al complex III).

3.4. FLAVOPROTEÏNES: proteïnes que contenen nucleòtids de flavina, **FMN** (Flavín **M**ono **N**ucleòtid) o **FAD** (Flavín-**A**denín **D**inucleòtid). El potencial de reducció varia segons la proteïna a la qual estiguen units.



Flavin adenine dinucleotide (FAD) and flavin mononucleotide (FMN)

- Poden trobar-se en tres estats d'oxidació diferents. Les formes oxidada (FMN, FAD) i reduïda (FMNH₂, FADH₂) es diferencien en 2 H⁺ i 2 electrons, però existeix una forma intermèdia (FMNH•, FADH•) que es diferencia de les anteriors en 1 H⁺ i 1 electró;
- Participa en reaccions de transferència d'un o dos electrons (complexos I i II)

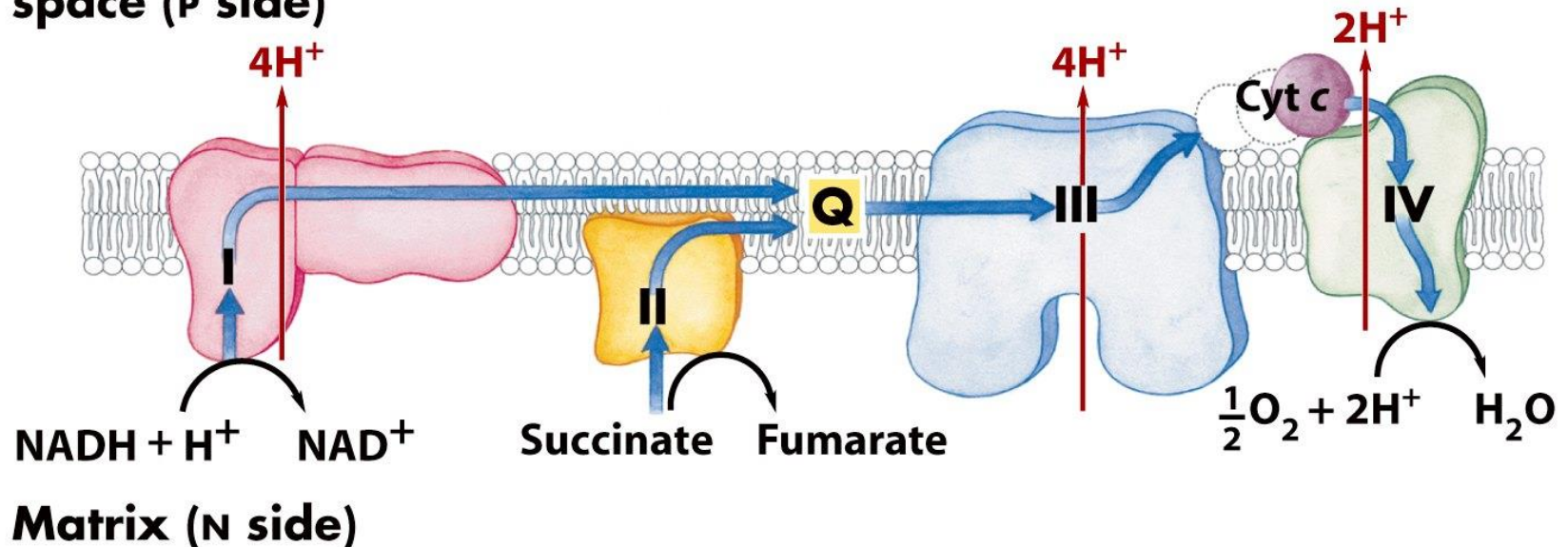
4. CADENA DE TRANSPORT ELECTRÒNIC

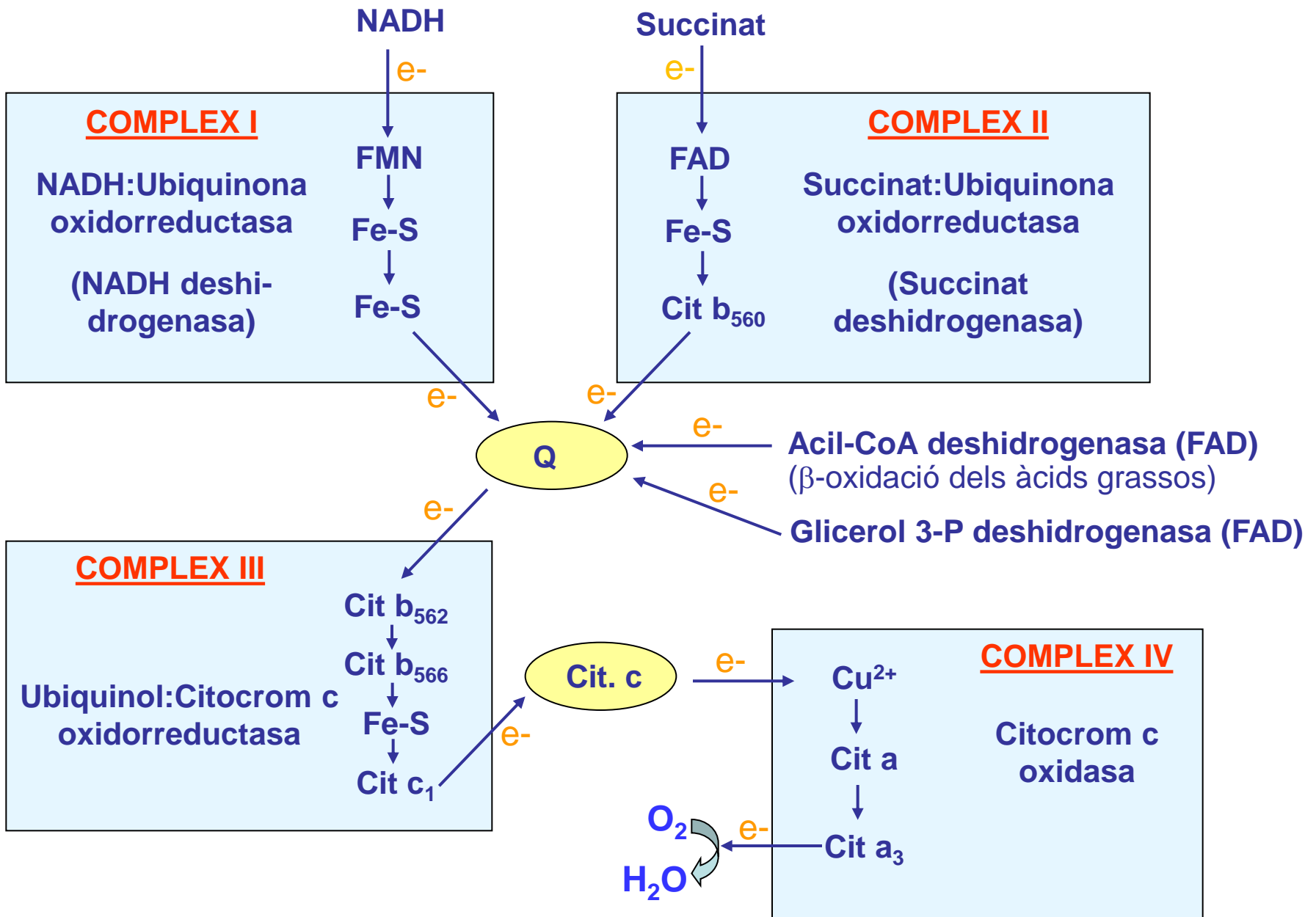
A. Complexos proteics supramoleculares integrats en la membrana mitocondrial interna (complexos I – IV), incloent-hi diferents transportadors d'electrons.

B. Transportadors mòbils:

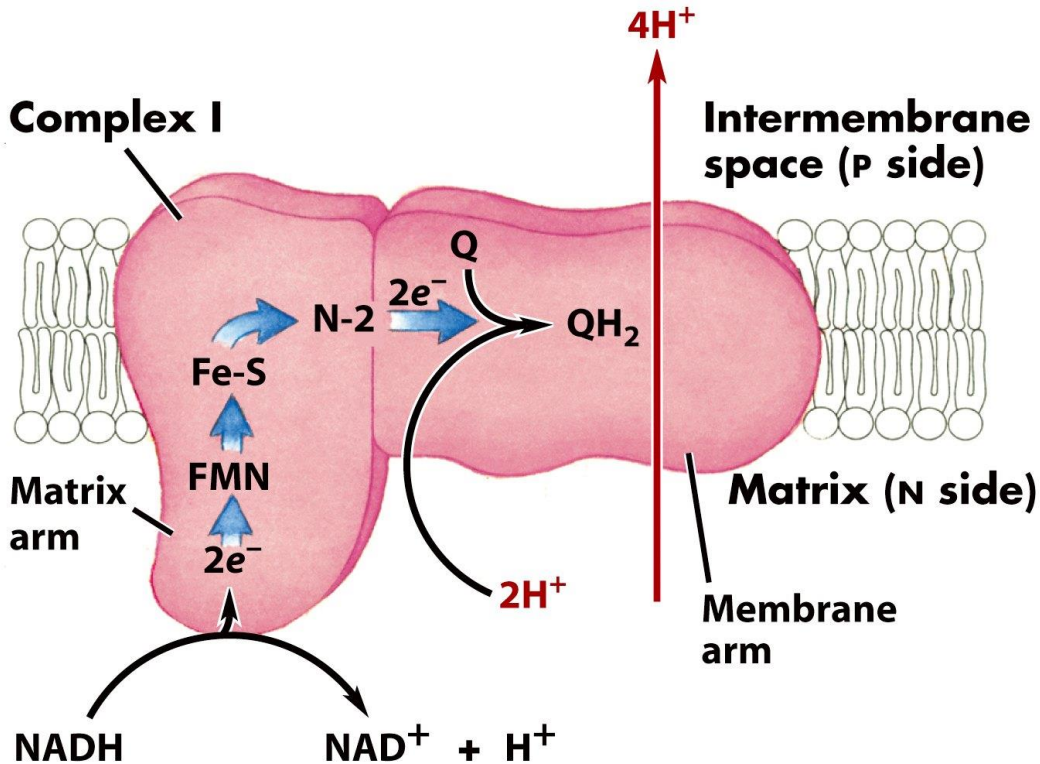
- Ubiquinona (Q): rep els e- dels complexos I i II i difon en la MMI per transportar els e- fins al complex III.
- Citocrom c: transporta e- des del complex III fins al complex IV.

**Intermembrane
space (P side)**





COMPLEX I (NADH:Ubiquinona oxidoreductasa)



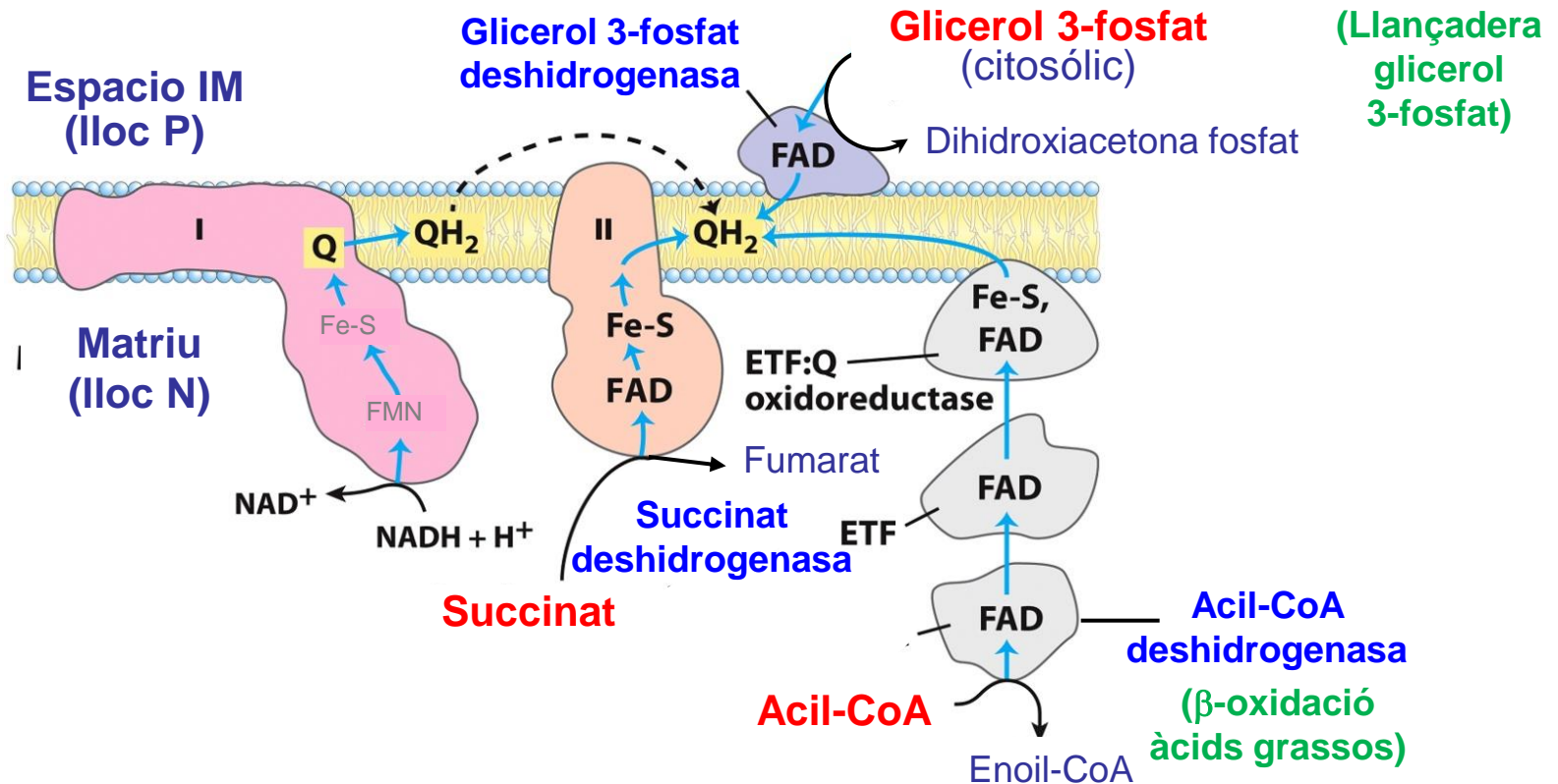
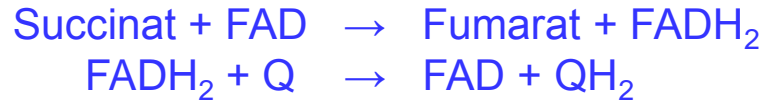
(1) Transferència exergònica d'un ió hidrur ($1 H^+$ i $2 e^-$) des del **NADH** (que s'oxida) i un H^+ de la matriu mitocondrial fins a la ubiquinona (**Q**), que es redueix

(2) Transferència endergònica de $4 H^+$ des de la matriu mitocondrial fins a l'espai intermembrana.

El complex I és una bomba de protons, que utilitza l'energia alliberada en la transferència d' e^- des del NADH a la ubiquinona per bombejar protons des de la matriu mitocondrial cap a l'espai intermembrana.

La disposició asimètrica de la bomba garanteix la transferència vectorial de H^+ (matriu-espai IM). L'espai IM es fa més Positiu (lloc P) y la matriu mitocondrial es fa més Negativa (lloc N). Es bombegen **$4H^+ / 2 e^-$ (1 NADH)**.

COMPLEX II (Succinat:Ubiquinona oxidorreductasa) i altres deshidrogenases flavíniques.



NO HI HA TRANSFERÈNCIA DE PROTONS !

COMPLEX III (Ubiquinol: Citocrom c oxidoreductasa)

CICLE Q

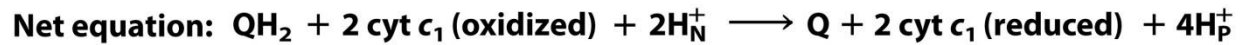
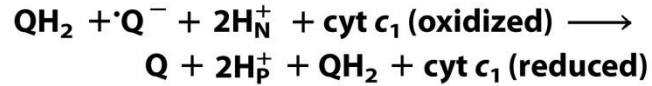
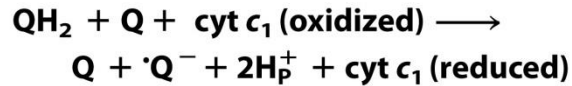
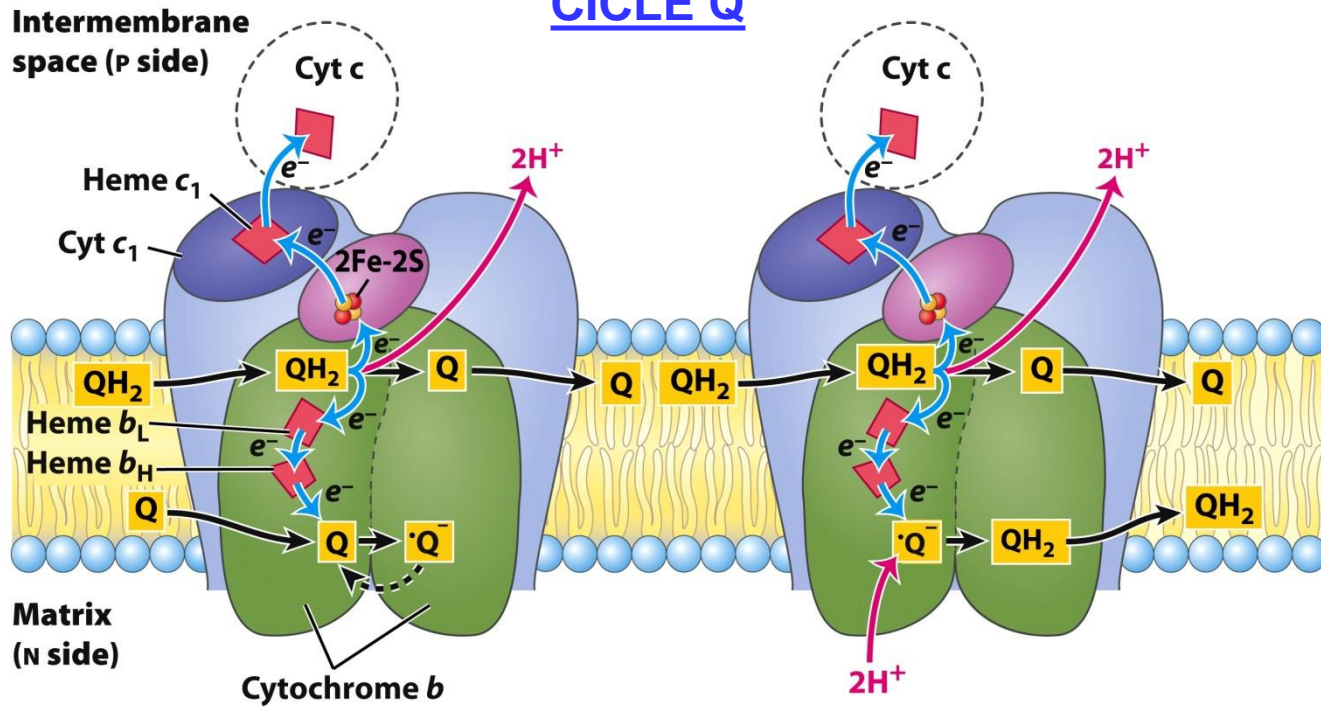
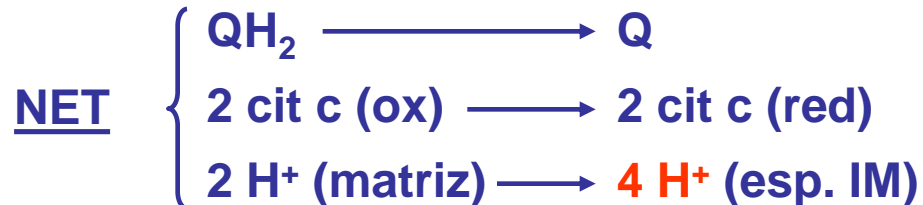


Figure 19-12
Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company



COMPLEJO IV (Citocrom c oxidasa)

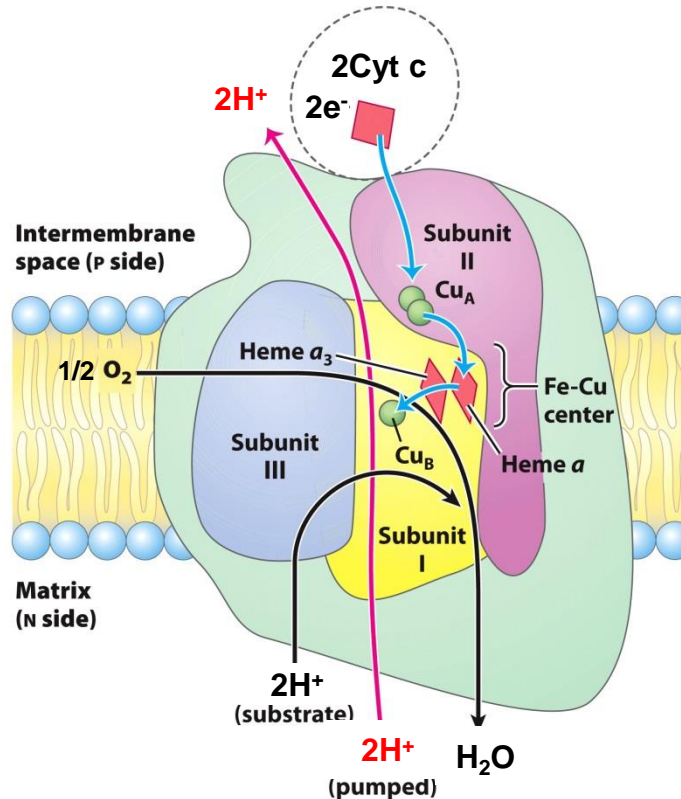


Figure 19-14
Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

El complex IV és també una **bomba de protons**, que utilitza l'energia alliberada en la transferència d' e^- des del citocrom c fins a l'oxigen per bombejar protons des de la matriu mitocondrial cap a l'espai intermembrana.

S'hi bombegen **$2 H^+ / 2 e^-$** (1 NADH = 2 cit c).

5. Acoblament energètic entre el transport d'electrons i la fosforilació oxidativa: la hipòtesi quimiosmòtica.

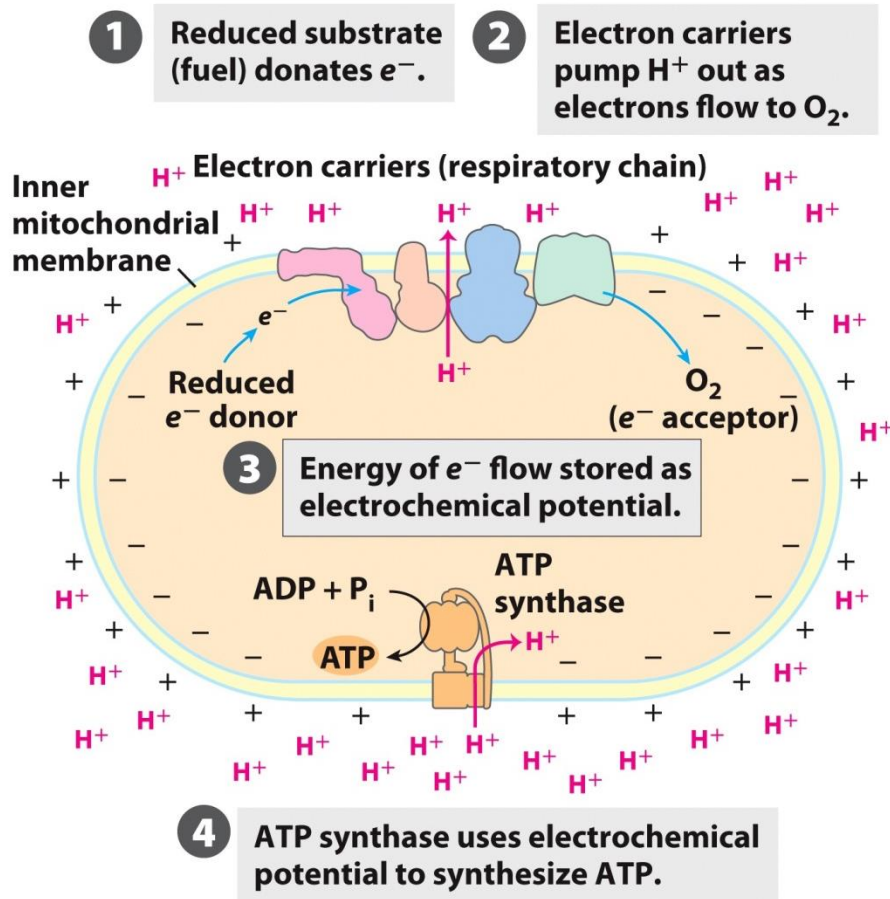
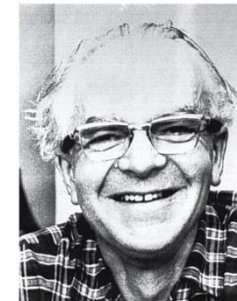


Figure 19-1
Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

HIPÒTESI QUIMIOSMÒTICA, (Mitchell, Premi Nóbel 1978).

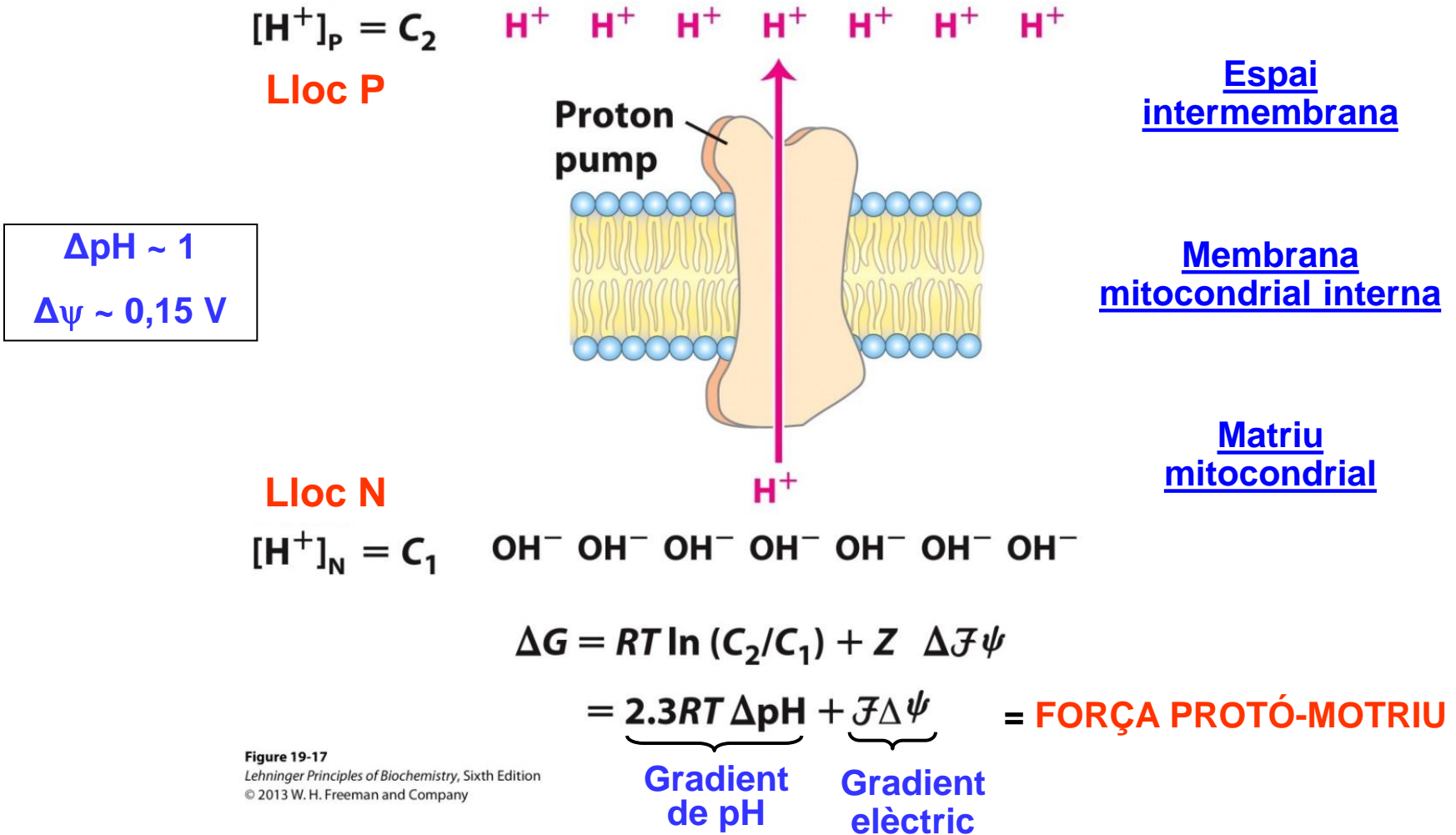
- L'energia alliberada en el transport d'electrons (energia química) es transforma en energia osmòtica (gradient electroquímic de protons).
- El retorn dels protons a la matriu mitocondrial a través de l'ATP sintasa (a favor de gradient) impulsa la **síntesi d'ATP**.



Peter Mitchell,
1920–1992

A. Generació d'un gradient electroquímic de protons: conseqüència de la sortida de protons des de la matriu mitocondrial a l'espai intermembrana.

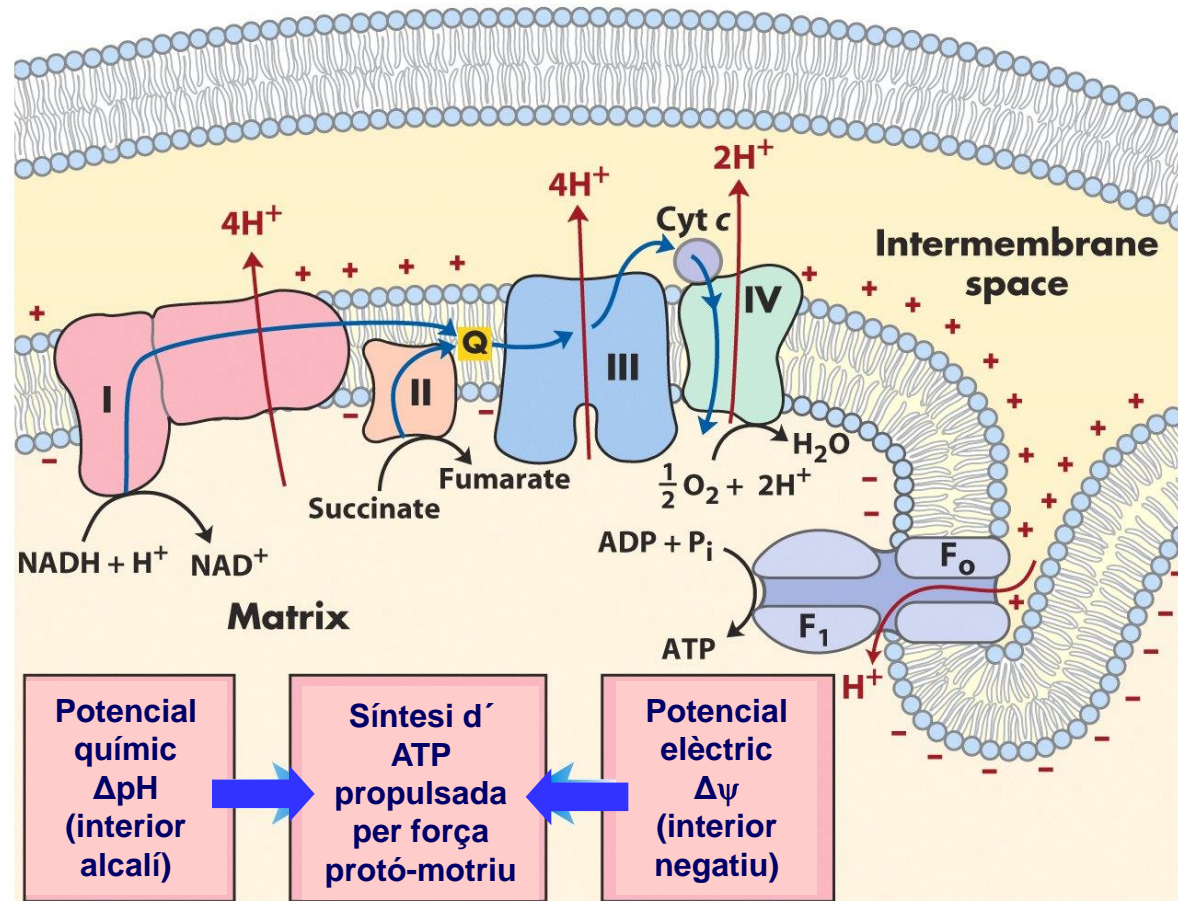
- Gradient químic ($[H^+] / pH$) (àcid en espai IM, bàsic en matriu mitocondrial).
- Gradient elèctric (càrrega) (positiu en espai IM, negatiu en matriu mitocondrial).



B. Dissipació del gradient electroquímic de protons

➤ Els protons tenen la tendència termodinàmica a tornar a la matriu mitocondrial, a favor de gradient, **PERÒ LA MEMBRANA MITOCONDRIAL INTERNA ÉS IMPERMEABLE ALS PROTONS.**

➤ El retorn dels protons a la matriu mitocondrial ocorre a través del **complex V (ATP sintasa)**, que utilitza l'energia alliberada en la dissipació del gradient (energia osmòtica) per sintetitzar ATP a partir d'ADP i P_i .



CÀLCUL DE LA FORÇA PROTÓ-MOTRIU

$$\Delta G = R T \ln \frac{[H^+]_P}{[H^+]_N} + z \underset{\substack{\text{Carrega} \\ \text{protó}}}{F} \underset{\substack{\text{Cte. de} \\ \text{Faraday}}}{\Delta \psi} = 2,3 R T \log \frac{[H^+]_P}{[H^+]_N} + z F \Delta \psi =$$

$$2,3 R T \underbrace{(\text{pH}_N - \text{pH}_P)}_{\Delta \text{pH} \sim 1} + z F \underbrace{\Delta \psi}_{\sim 0,15 \text{ V}} =$$

$$(2,3 \times 8,315 \text{ J/mol.K} \times 298 \text{ K} \times 1) + (1 \times 96500 \text{ J/V mol} \times 0,15 \text{ V}) =$$

$$\underbrace{5600 \text{ J/mol}}_{\text{Grdt. pH}} + \underbrace{14475 \text{ J/mol}}_{\text{Grdt. elèctric}} = 20 \text{ kJ/mol} \text{ (Força protó-motriu)}$$

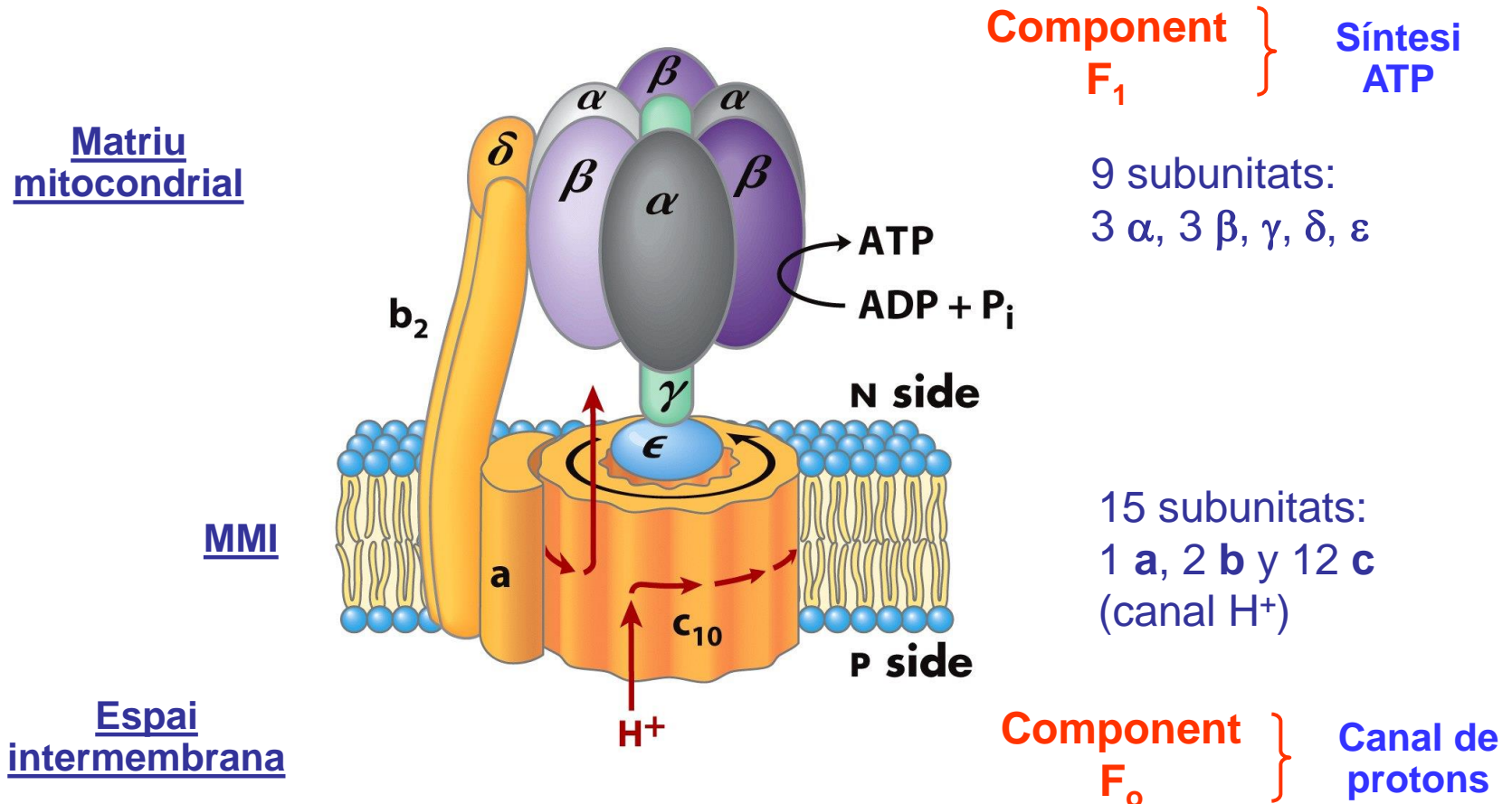
El gradient elèctric contribueix més que el gradient de pH a la força protó-motriu

Per cada parell d'e- transportats des del **NADH** a l'O₂ es bombegen **10 H⁺**. L'energia química alliberada durant la transferència d'e- (-220 kJ/mol) es transforma en una energia osmòtica (força protó-motriu) de **10** x 20 kJ/mol = 200 kJ/mol.

(S'HI CONSERVEN 200 DELS 220 kJ/mol ALLIBERATS)

6. SÍNTESI D'ATP: FOSFORILACIÓ OXIDATIVA

COMPLEX V (ATP SINTASA): Complex proteic, situat en la membrana mitocondrial interna (MMI) que catalitza la síntesi d'ATP a partir de ADP i Pi acoblada al flux de protons des de l'espai intermembrana a la matriu mitocondrial (dissipació del gradient electroquímico).



L'energia del gradient protònic es converteix en moviment rotacional (unitats c), que indueix canvis conformacionals en les subunitats β (a través de la subunitat γ).

MECANISME DE SÍNTESI D'ATP

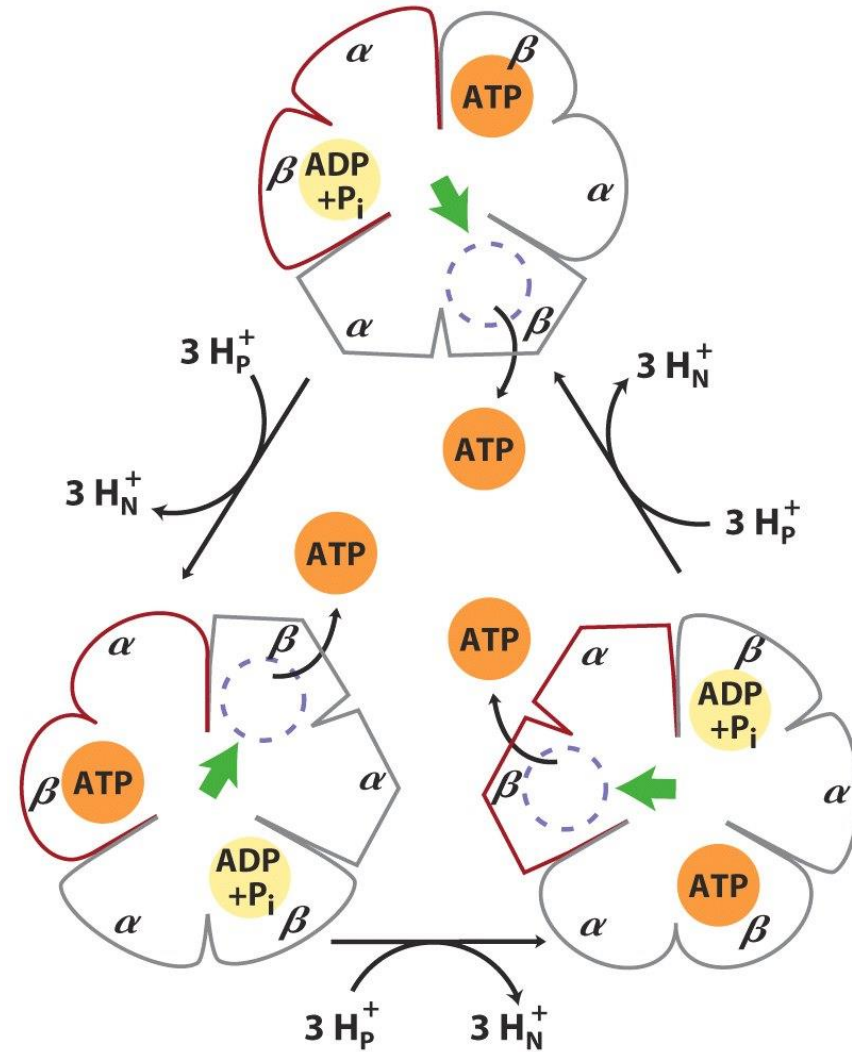
Les subunitats β del component F1 poden trobar-se en 3 conformacions diferents:

β -ADP: gran afinitat per ADP i el P_i . És la conformació que **uneix ADP i P_i** .

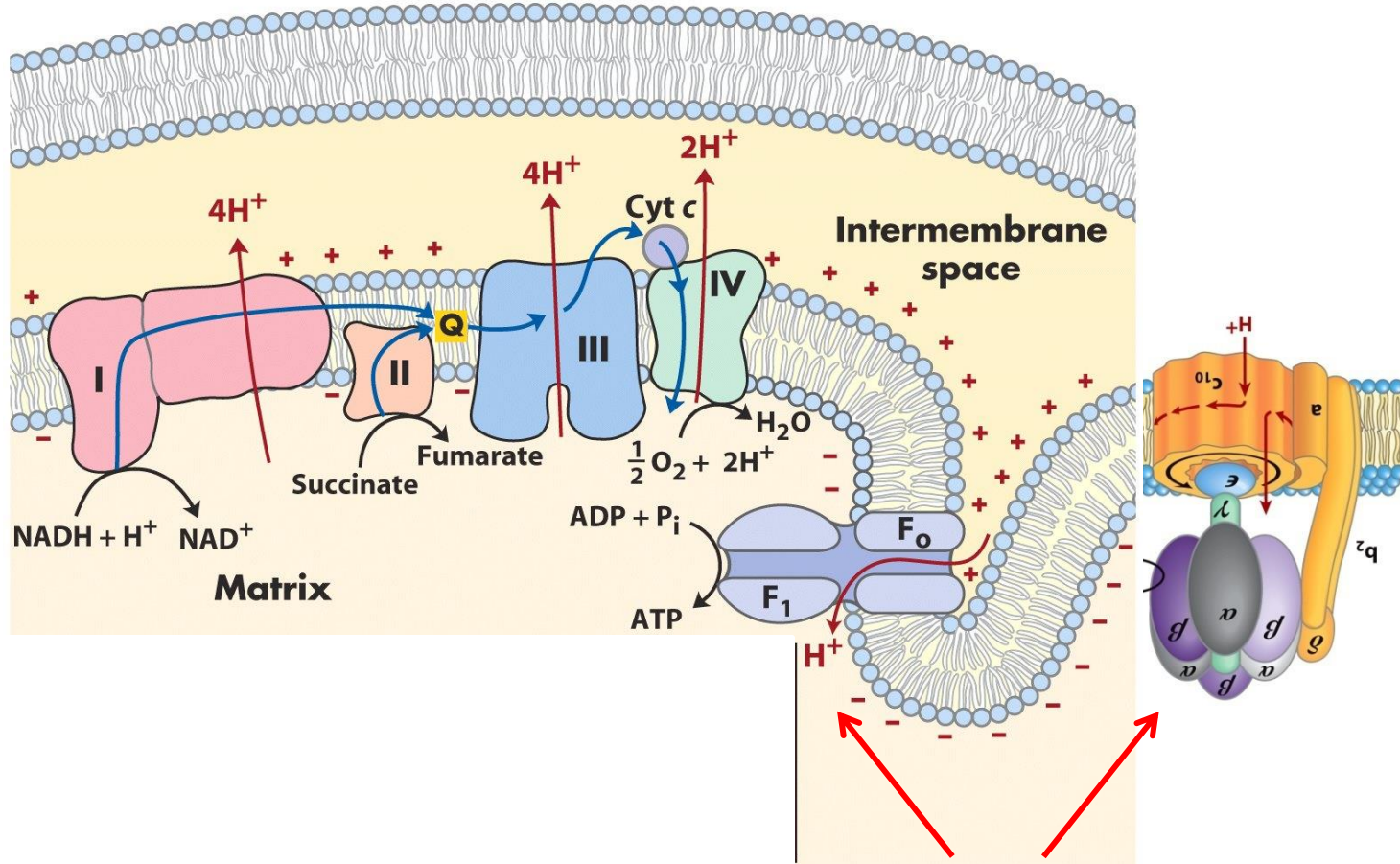
β -ATP: gran afinitat per ATP. És la conformació que catalitza la **síntesi d'ATP** a partir d'ADP i P_i . L'ATP es manté fortament unit.

β -buida: baixa afinitat per ADP, P_i o ATP. **L'ATP s'allibera**.

La subunitat γ del component F1 interacciona amb les subunitats β . El pas dels protons fa girar a la subunitat ϵ i amb això la subunitat γ . La interacció d'aquesta última amb les subunitats β canvia la seua conformació en l'ordre β -ADP, β -ATP i β -buida fins que torna a la conformació β -ADP. **Cada canvi conformacional requereix del flux de 3 protons.**

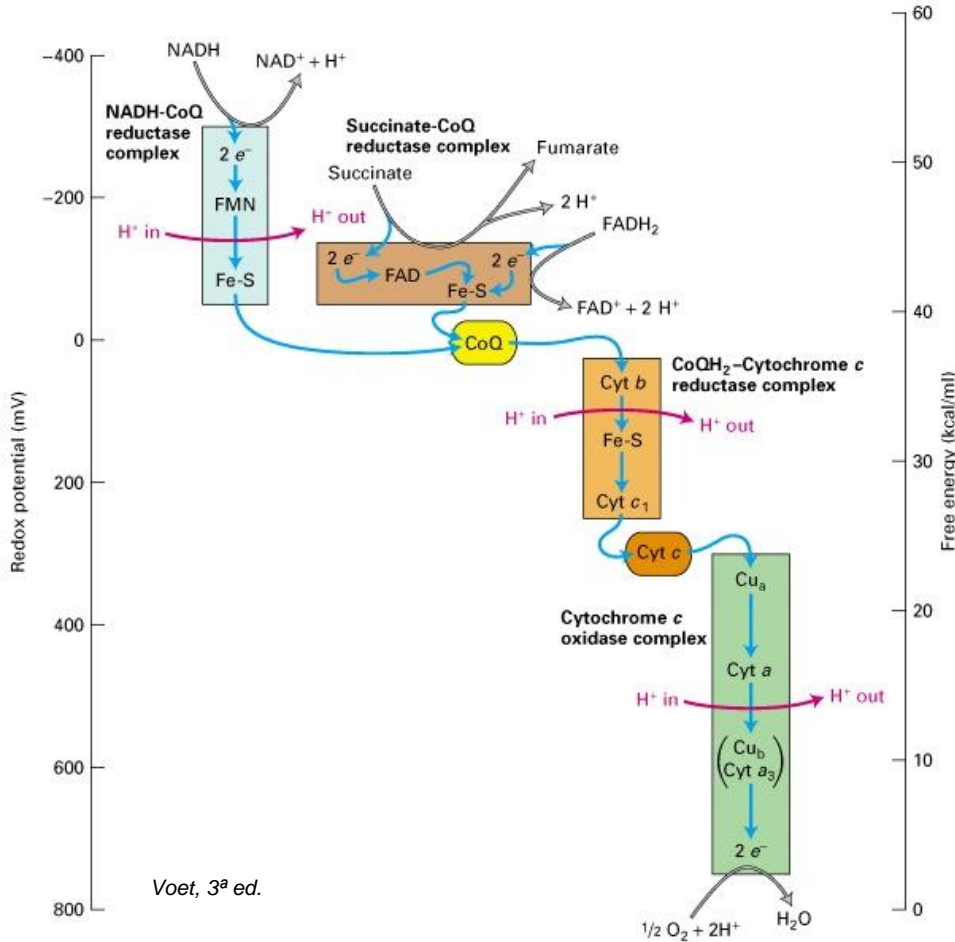


La síntesi d'1 molècula d'ATP requereix el transport de 3 H^+ des de l'espai IM fins a la matriu mitocondrial



Complex V (ATP sintasa)

Cadena de transport electrònic: recopilació



La seqüència de reaccions d'oxidoreducció que es produeix entre els diferents grups prostètics dels complexos enzimàtics i els transportadors d'electrons de la cadena respiratòria ocorre a favor dels potencials de reducció i, per tant, amb una variació d'energia lliure negativa.

Segons la **TEORIA QUIMIOOSMÒTICA** :

1) Aquesta energia és utilitzada pels complexos enzimàtics de la cadena respiratòria per impulsar la transferència de protons des de la matriu mitocondrial a l'espai intermembrana i generar-hi el gradient electroquímic.

2) L'energia electroquímica inherent al gradient electroquímic de protons és utilitzada per a promoure la síntesi d'ATP quan aquests protons flueixen a l'interior del mitocondri a través del canal protònic de l'ATP sintasa.

<http://www.youtube.com/watch?v=XI8m6o0gXDY>

7. SISTEMES DE TRANSPORT MITOCONDRIALS

Permeten l'intercanvi de molècules entre el citosol i la matriu mitocondrial.

La membrana mitocondrial externa és molt permeable. No obstant això, la membrana mitocondrial interna és impermeable a la majoria de molècules polars. PER TANT: es requereixen transportadors en la MMI.

↗ **PIRUVAT**: generat en la glucòlisi, ha d'entrar en la matriu mitocondrial per a la seua oxidació a través de la PDH i el cicle de Krebs.

↗ **NADH citosòlic**: generat en la glucòlisi.

↗ **ADP i Pi**: substrats per la síntesi d'ATP. Es generen majoritàriament en el citosol (consum d'ATP reaccions biosintètiques) i han d'accedir al mitocondri per a la síntesi d'ATP.

↗ **ATP**: es sintetitza en la mitocondria (fosforilació oxidativa) i ha de sortir al citosol per al seu consum en reaccions biosintètiques.

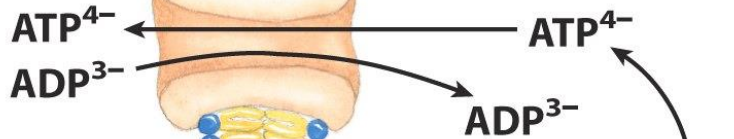
Lloc P

Lloc N

Intermembrane space

Matrix

Translocasa de nucleòtids d'adenina (antiport)



CONSUMEIX PART DEL GRADIENT ELÈCTRIC

ATP sintasa



El transport d'ATP, ADP i Pi consumeix, de forma neta, 1 H^+ del gradient electroquímic.

Translocasa de fosfat (simport)



CONSUMEIX PART DEL GRADIENT DE pH

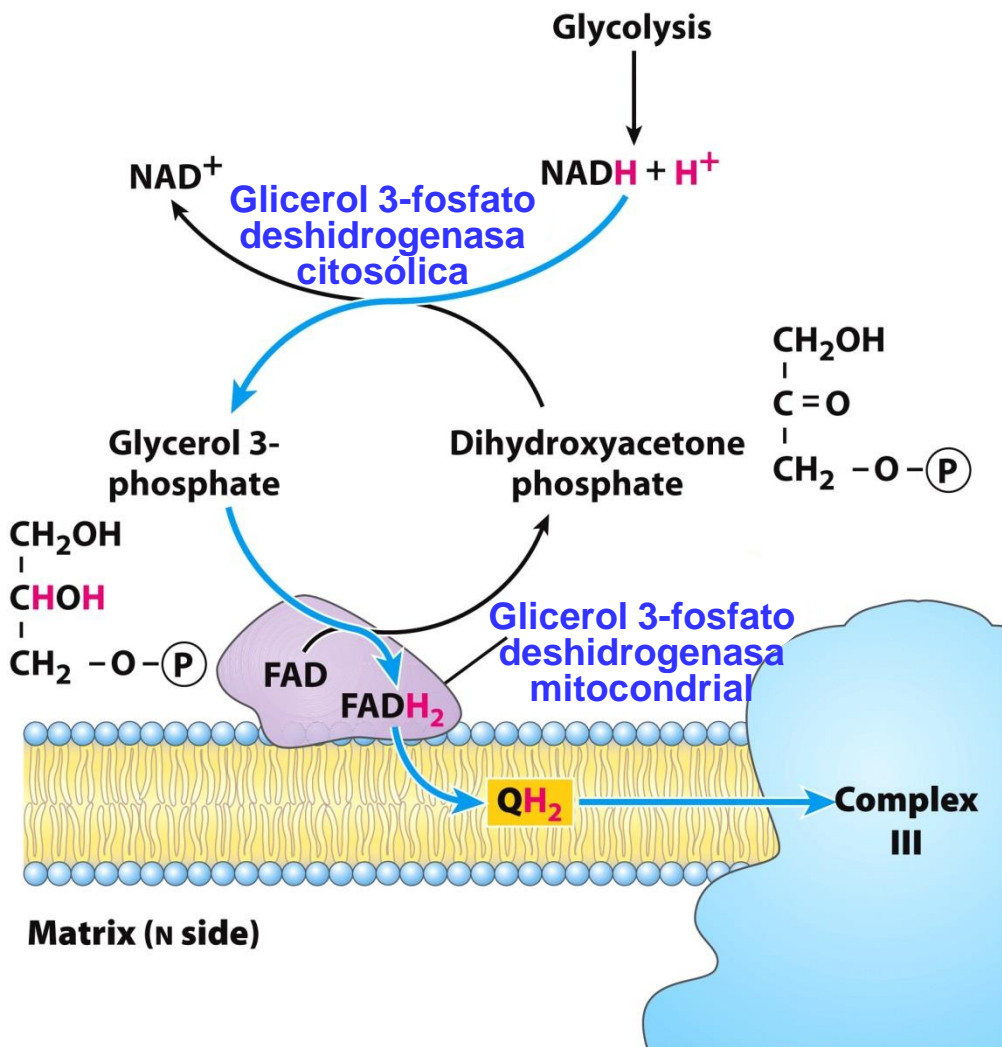


ES NECESITA BOMBEJAR $\approx 4 \text{H}^+$ PER SINTETITZAR 1 ATP

- Transportador dicarboxilat: succinat / fumarat / malat
- Transportador tricarboxilat: citrat / isocitrat
- Transportador glutamat / aspartat

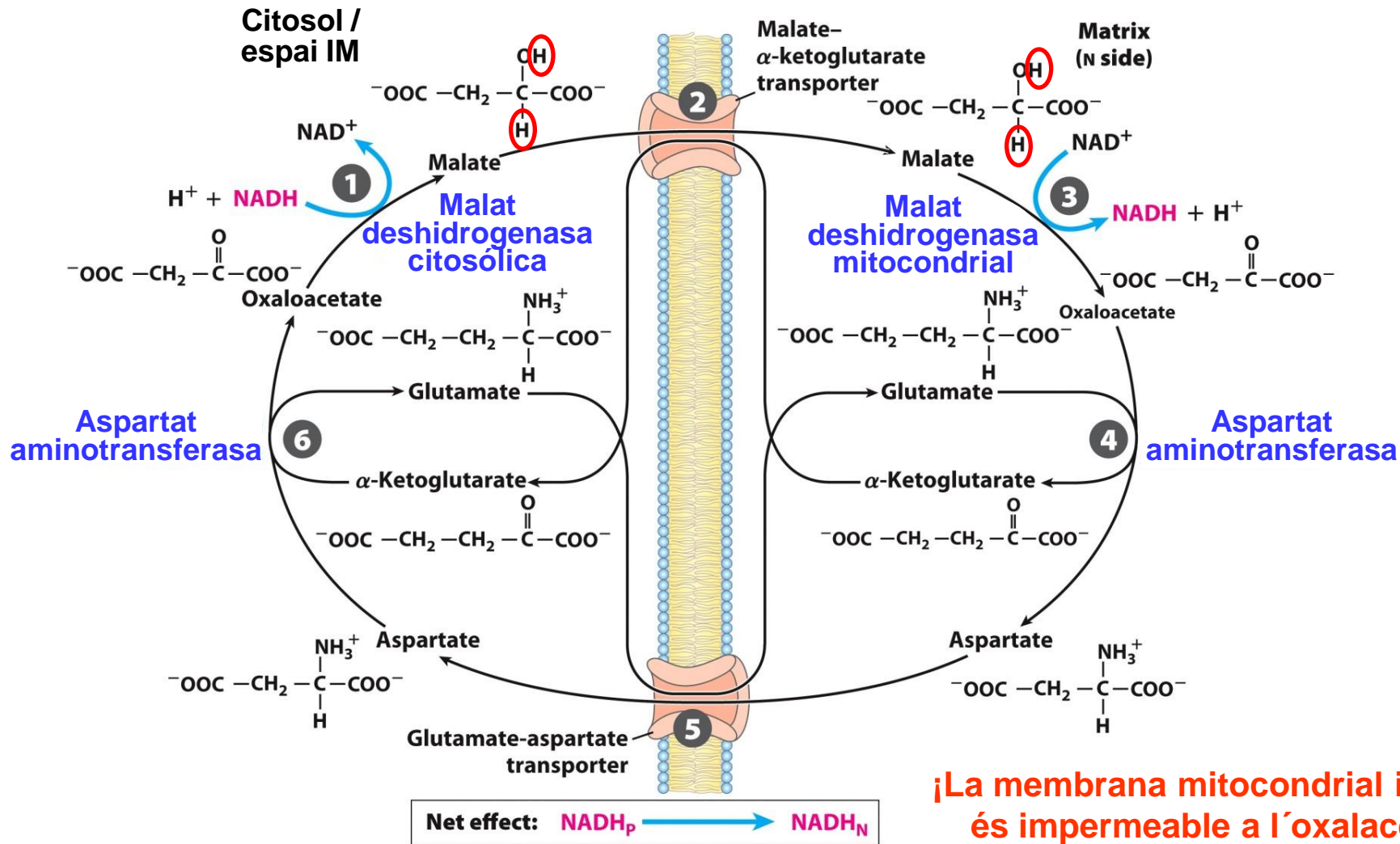
TRANSPORT D'ELECTRONS DES DEL CITOSOL FINS A LA Matriu MITOCONDRIAL

A. LLANÇADERA DEL GLICEROL 3-FOSFAT



- Cervell / múscul esquelètic;
- No requereix transportador.
- Eficiència: 1.5 molècules d'ATP / parell d'electrons. Els electrons no passen pel complex I, per la qual cosa només s'hi bombegen 6 H⁺ (6 / 4 = 1.5).

B. LLANÇADERA DEL MALAT / ASPARTAT



- Cor, fetge, ronyó;
- Eficiència: 2.25 molècules d'ATP / parell d'electrons. Els electrons arriben al complex I, per la qual cosa s'hi bombegen 10 H⁺, però 1 H⁺ torna a la matriu (9 / 4 = 2.25).

8. REGULACIÓ DE LA FOSFORILACIÓ OXIDATIVA

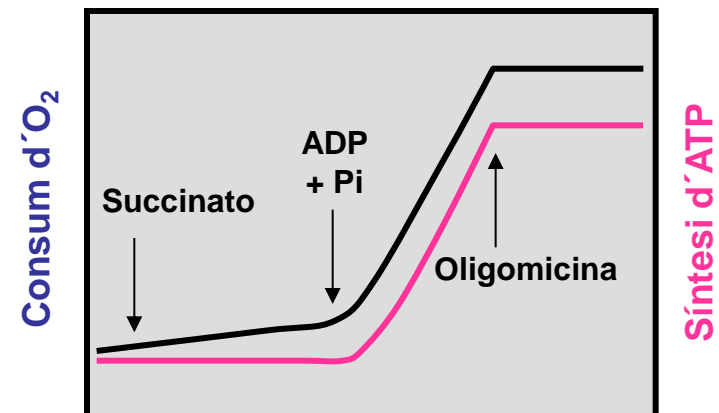
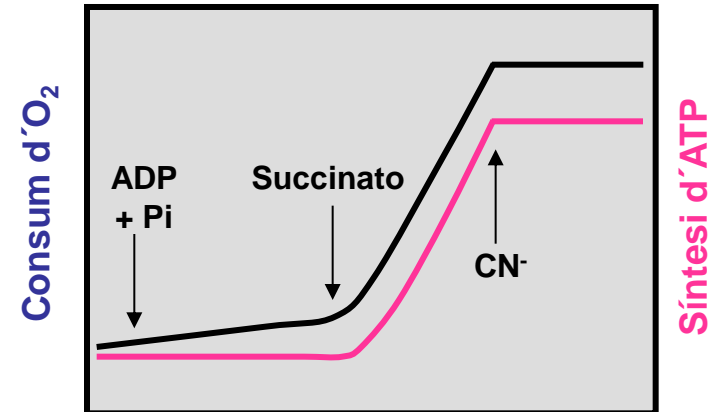
- Control per disponibilitat de substrats:

ADP i Pi
O₂
Substrat oxidable

La respiració (consum d'oxígen) està fortament acoblada a la síntesi d'ATP (**CONTROL RESPIRATORI**).

➤ La síntesi d'ATP requereix el flux d'electrons a l'oxigen, i per tant l'oxidació de combustibles. No se sintetitza ATP en absència d'un substrat oxidable (ex. succinat). Inhibidors del transport d'e⁻ a l'O₂ (ex. CN⁻) inhibeixen no només el consum de O₂ sinó també la síntesi d'ATP.

➤ L'oxidació de combustibles i el consum d'oxigen requereixen la síntesi d'ATP. No s'oxiden combustibles si no se sintetitza ATP, és a dir, quan hi ha demanda d'ATP (relació [ATP]/[ADP] baixa). Inhibidors de la síntesi d'ATP (ex. oligomicina) també inhibeixen el consum d'O₂.

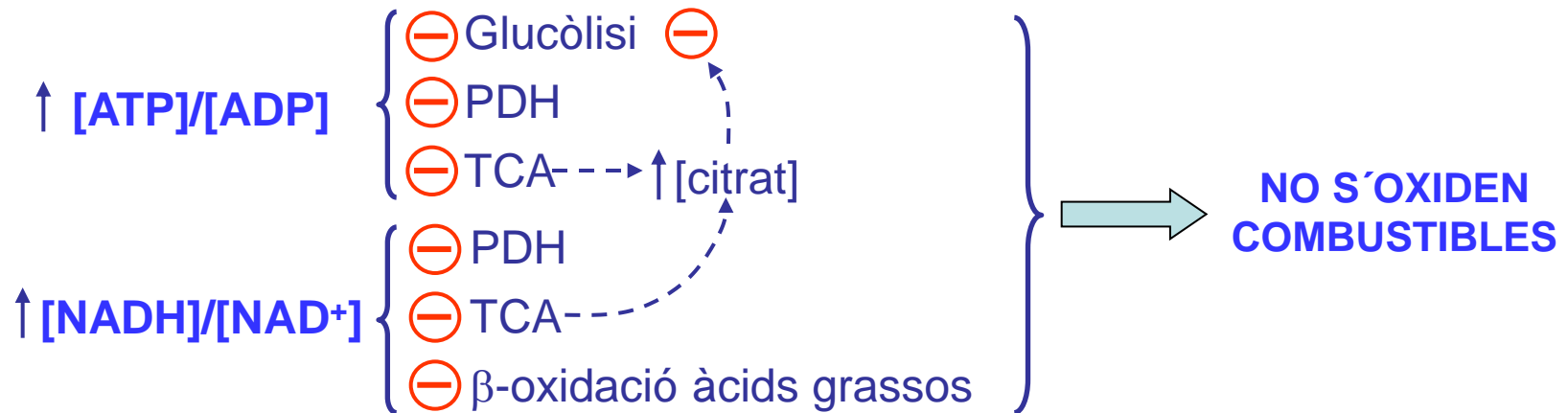


A. REPÒS

$[ATP] / [ADP] = 4-10$ \longrightarrow Càrrega energètica alta

- Les baixes concentracions d'ADP provoquen que la fosforilació oxidativa funcione a baixa velocitat \longrightarrow NO HI HA SÍNTESI D'ATP.

- Sense síntesi d'ATP, no hi ha transferència d'electrons a l'oxigen, per la qual cosa no es consumeix NADH. El quocient $[NADH]/[NAD^+]$ augmenta.



B. ACTIVITAT FÍSICA

- Consum d'ATP \longrightarrow $\uparrow [ADP]$
- Respiració accelerada \longrightarrow $\uparrow [O_2]$ } \oplus Fosforilació oxidativa (SÍNTESI D'ATP)

- La fosforilació oxidativa requereix de la transferència d'e- a l'O₂ \longrightarrow
S'OXIDEN COMBUSTIBLES

9. RENDIMENT ENERGÈTIC DE LA FOSFORILACIÓ OXIDATIVA

Relació P/O: nombre de molècules d'ATP sintetitzades per parell d'e- transportats a l'O₂. La síntesi d'1 molècula d'ATP requereix el bombeig de 4 H⁺ des de la matriu a l'espai intermembrana.

- ✚ El transport d'un parell d'e- des de 1 molècula de NADH fins a l'O₂ produeix el bombeig de 10 H⁺. Per tant, cada molècula de NADH rendeix $10/4 = \underline{2,5 \text{ ATP}}$ (relación P/O = 2,5).
- ✚ El transport d'un parell d'e- des d'1 molècula de succinat (FADH₂) fins a l'O₂ produeix el bombeig de 6 H⁺. Per tant, cada molècula de succinat (FADH₂) rendeix $6/4 = \underline{1,5 \text{ ATP}}$ (relación P/O = 1,5).
- La síntesi de GTP en el cicle de Krebs requereix GDP. El GDP³⁻ deu, per tant, entrar en el mitocondri, mentre que el GTP⁴⁻ ha de sortir al citosol, per al seu ús en reaccions biosintètiques. Aquest transport consumeix part del gradient electroquímic, reduint el rendiment energètic ($\times \frac{3}{4} = 0.75$).
- El transport de NADH (electrons) des del citosol a la matriu mitocondrial en la llançadera del malat/aspartat també consumeix part del gradient electroquímic (retorn d'1 H⁺ a la matriu) i en redueix el rendiment energètic.

BALANÇ ENERGÈTIC OXIDACIÓ COMPLETA DE LA GLUCOSA

Reacció	Coenzims reduïts	PRODUCCIÓ D'ATP
<u>Gucòlisi</u>		
Hexoquinasa		- 1
Fosfofructoquinasa 1 (PFK1)		- 1
Gliceraldehíd 3-P deshidrogenasa	2 NADH	2 x 2,25 = 4.5
Fosfoglicerat quinasa		2
Piruvat quinasa		2
<u>Producció d'acetil-CoA (2x)</u>		
Complex piruvat deshidrogenasa	2 NADH	2 x 2,5 = 5
<u>Cicle de l'àcid cítric (2x)</u>		
Isocitrat deshidrogenasa	2 NADH	2 x 2,5 = 5
α -cetoglutarat deshidrogenasa	2 NADH	2 x 2,5 = 5
Succinil CoA sintetasa		2 x 0.75 (GTP) = 1.5
Succinat deshidrogenasa	2 FADH ₂	2 x 1,5 = 3
Malat deshidrogenasa	2 NADH	2 x 2,5 = 5
<u>TOTAL</u>		31

Algunes consideracions sobre el balanç energètic

- El balanç correspon a l'oxidació completa d'1 molècula de glucosa. Aquest balanç inclou la glucòlisi, l'oxidació del piruvat fins a acetil-CoA (reacció de la PDH), l'oxidació de l'acetil-CoA fins a CO_2 (cicle de Krebs) i la transferència dels electrons des del NADH o el FADH_2 fins a l'oxigen (cadena de transport electrònic).
- La glucòlisi produeix 2 molècules de piruvat; per tant, el balanç corresponent a la reacció de la PDH i les reaccions del cicle de Krebs apareixen multiplicades per 2.
- En el cas del **NADH**, els electrons s'incorporen al complex I, per la qual cosa durant el seu transport a l'oxigen (passant pels complexos I, III i IV) es produeix el bombeig de 10 protons i, per tant, 2.5 molècules d'ATP. En el cas del succinat (**FADH_2**), els electrons arriben al coenzim Q, que els porta fins al complex III (NO passen pel complex I). Per tant, es bombegen només 6 protons i s'hi produeixen 1.5 molècules d'ATP.
- En l'oxidació d'**1 molècula d'acetil-CoA** en el cicle de Krebs es produeixen 3 molècules de NADH ($3 \times 2.5 = 7.5$ ATP), 1 de FADH_2 (1.5 ATP) i 1 GTP (0.75 ATP), per a un total de 9.75 molècules d'ATP.
- En el cas del NADH generat en la glucòlisi (citosol), la seua equivalència en molècules d'ATP depèn del fet que el transport dels electrons utilitzi la llançadora del glicerol-3-fosfat (1.5 ATP) o la del malat/aspartat (2.25 ATP). És aquesta última la que es mostra en aquest balanç.

Desacoblament entre fosforilació oxidativa i síntesi d'ATP

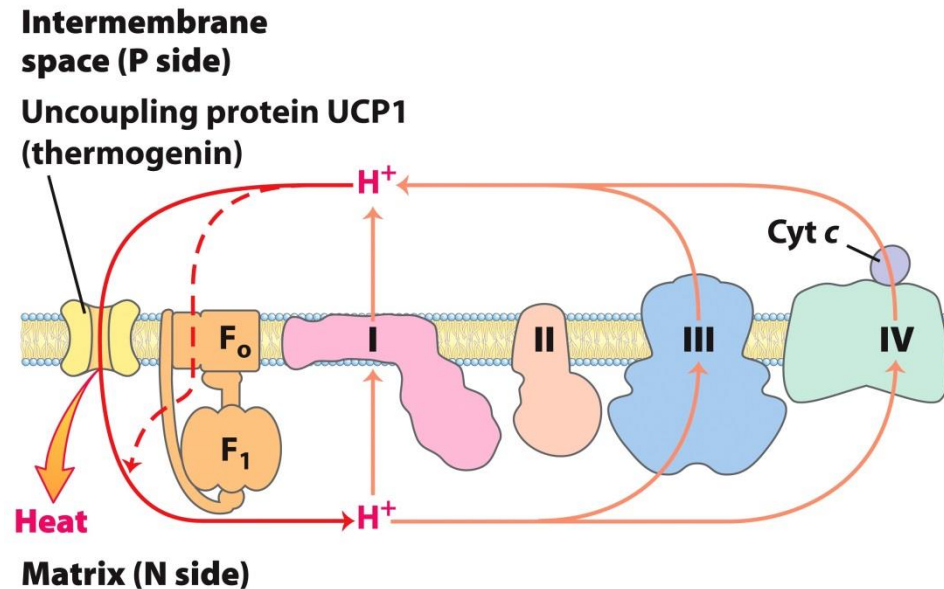


Figure 19-36
Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

- La membrana mitocondrial de les cèl·lules del teixit adipós marró conté grans quantitats d'una proteïna desacoblant ("Uncoupling protein 1", UCP1), també denominada termogenina, que permet el transport de protons des de l'espai intermembrana fins a la matriu mitocondrial evitant el pas pel complex V. Com a conseqüència, el gradient de protons es dissipa majoritàriament en forma de calor, sense síntesi d'ATP.
- Aquest desacoblament és una forma de mantenir la temperatura corporal en animals que hibernen, en alguns animals nounats (incloent-hi els éssers humans) i en mamífers adaptats al fred, tots ells amb quantitats significatives de teixit adipós marró.

