

# QUÍMICO INTERNO RESIDENTE FORMACIÓN SANITARIA ESPECIALIZADA



**BIOQUÍMICA**  
**RESUMEN Y ALGUNOS ASPECTOS DE INTERÉS.**  
**CICLO DEL ÁCIDO CÍTRICO, FOSFORILACIÓN**  
**OXIDATIVA, METABOLISMO DEL GLUCÓGENO, VÍA DE**  
**LAS PENTOSAS FOSFATO Y GLUCONEOGÉNESIS.**

## 1. CICLO DEL ÁCIDO CÍTRICO.

En el capítulo anterior consideramos la vía glicolítica en la que la glucosa se convierte en piruvato. En condiciones aeróbicas, la etapa siguiente es la generación de energía por descarboxilación oxidativa del piruvato para formar acetil-CoA. Esta unidad de acetilo activado se oxida entonces completamente hasta  $\text{CO}_2$  por medio del ciclo del ácido cítrico, serie de reacciones que también se conocen con el nombre de ciclo de los ácidos tricarboxílicos o ciclo de krebs. El ciclo del ácido cítrico es la vía final común para la oxidación de las moléculas combustibles: aminoácidos, ácidos grasos y azúcares. La mayoría de las moléculas oxidables entran en el ciclo como acetil-CoA. El ciclo también suministra intermediarios para la biosíntesis. En eucariotas, las reacciones del ciclo del ácido cítrico se producen en el interior de la mitocondria, al contrario que las reacciones de la glicolisis, que se producen en el citosol.

### FORMACIÓN DEL ACETIL-COA A PARTIR DEL PIRUVATO.

La descarboxilación oxidativa del piruvato para formar acetil-Coa, que se produce en la matriz mitocondrial, es el eslabón entre la glicolisis y el ciclo del ácido cítrico.



Este encauzamiento irreversible del producto de la glicolisis hacia el ciclo del ácido cítrico está catalizado por el complejo piruvato deshidrogenasa. Este gran complejo multienzimático es un dispositivo muy integrado de tres tipos de enzimas.

### VISIÓN GENERAL DEL CICLO DEL ÁCIDO CÍTRICO.

Un compuesto de cuatro carbonos (oxalato) se condensa con una unidad acetilo de dos carbonos para dar lugar a un ácido tricarboxílico de seis carbonos (citrato). Un isómero del citrato se descarboxila después oxidativamente. El compuesto resultante de cinco carbonos ( $\alpha$ -cetoglutarato) también se descarboxila oxidativamente para producir un compuesto de cuatro carbonos (succinato). El oxalacetato se regenera a partir del succinato. Dos átomos de carbono entran en el ciclo como una unidad de acetilo y dos átomos de carbono dejan el ciclo en forma de dos moléculas de  $\text{CO}_2$ . el grupo acetilo está más reducido que el  $\text{CO}_2$ , por lo que es evidente que deben existir algunas reacciones de oxidación-reducción en el ciclo del ácido cítrico. De hecho existen cuatro reacciones de este tipo. Tres iones hidruro (por tanto, seis electrones) son transferidos a tres moléculas de NAD, mientras que un par de átomos de hidrógeno (por tanto, dos electrones) se transfieren al flavina adenina dinucleótido FAD. Estos transportadores de electrones producen 9 moléculas de ATP cuando son oxidados por el  $\text{O}_2$  en la cadena de transporte electrónico.

### EL OXALACETATO SE CONDENSA CON EL ACETIL-COA PARA FORMAR CITRATO.

El ciclo comienza con la unión de una unidad de cuatro carbonos, el oxalacetato, con una unidad de dos carbonos, el grupo acetilo del acetil-Coa. Se

forma citrato. Esta reacción, es una condensación aldólica seguida de una hidrólisis, y es catalizada por la citrato sintasa. El oxalacetato se condensa primeramente con el acetil-coa para formar citril-coa, que luego se hidroliza hasta citrato y coa.

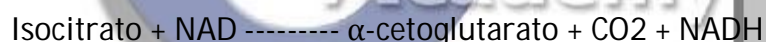
### **EL CITRATO SE ISOMERIZA A ISOCITRATO.**

El citrato debe isomerizarse a isocitrato para permitir que la unidad de seis carbonos sea sometida a la descarboxilación oxidativa. La isomerización del citrato se consigue mediante una etapa de deshidratación seguida por una de hidratación. El resultado es un intercambio de un H por un OH. El enzima que cataliza ambas etapas se llama aconitasa porque el cis-aconitato es un intermedio.

La aconitasa contiene átomos de hierro no enlazados a ningún grupo hemo. Sus cuatro átomos de hierro están complejados con cuatro sulfuros inorgánicos y cuatro azufres de cisternas. Esta agrupación Fe-S se une al citrato y participa en su deshidratación y rehidratación. Las proteínas con agrupaciones Fe-S se denominan proteínas hierro-azufre o proteínas con hierro no hemo.

### **EL ISOCITRATO SE OXIDA Y DESCARBOXILA HASTA ALFA-CETOGLUTARATO.**

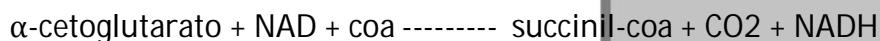
Llegamos ahora a la primera de las cuatro reacciones de oxidación-reducción del ciclo del ácido cítrico. La descarboxilación oxidativa del isocitrato está catalizada por la isocitrato deshidrogenasa:



La velocidad de formación de este compuesto es vip para determinar la velocidad media del ciclo.

### **POR DESCARBOXILACIÓN OXIDATIVA DEL ALFA-CETOGLUTARATO SE FORMA SUCCINIL-COA..**

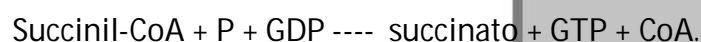
La conversión del isocitrato en alfa-cetoglutaratato va seguida de una segunda descarboxilación oxidativa, reacción que forma succinil-coa a partir del alfa-cetoglutaratato.



Esta reacción está catalizada por el complejo alfa-cetoglutaratato deshidrogenasa, un conjunto organizado que consta de tres tipos de enzimas.

### **A PARTIR DEL SUCCINIL-COA SE GENERA UN ENLACE FOSFATO DE ALTA ENERGÍA.**

La escisión del enlace tioéster del succinil-Coa se acopla a la fosforilación del GDP.



Esta reacción fácilmente reversible está catalizada por la succinil-Coa sintetasa. Ésta es la única etapa del ciclo del ácido cítrico que proporciona directamente un enlace fosfato de alta energía.

### **EL OXALACETATO SE REGENERA POR OXIDACIÓN DEL SUCCINATO.**

La etapa final del ciclo del ácido cítrico la constituyen una serie de reacciones de compuestos de cuatro carbonos. El succinato se convierte en oxalacetato en tres etapas: una oxidación, una hidratación y una segunda reacción de oxidación. El oxalacetato queda regenerado por consiguiente para otra vuelta del ciclo a la vez que se acumula energía en forma de FADH<sub>2</sub> Y NADH.

Succinato----- fumarato ----- malato ----- oxalacetato.

El succinato se oxida a fumarato mediante la succinato deshidrogenasa. El aceptor del hidrógeno es el FAD, el FAD es el aceptor de hidrógeno en esta reacción porque el cambio de energía libre es insuficiente para reducir al NAD.

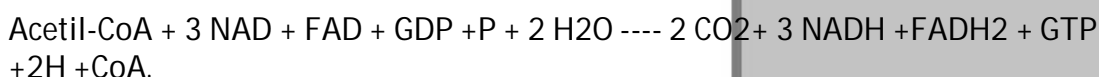
La succinato deshidrogenasa, al igual que la aconitasa, es una ferro-sulfo-proteína. Difiere de los demás enzimas en que es una parte integrante de la membrana interna mitocondrial. De hecho, la succinato deshidrogenasa está directamente unida a la cadena de transporte electrónico.

La siguiente etapa del ciclo es la hidratación del fumarato para formar malato. La fumarasa cataliza la reacción.

Finalmente, el malato se oxida para formar oxalacetato. Esta reacción está catalizada por la malato deshidrogenasa.

### **ESTEQUIOMETRÍA DEL CICLO**

La reacción neta del ciclo del ácido cítrico es:



Las reacciones que dan esta estequiometría se resumen a continuación:

1. En la condensación de una unidad de acetilo con oxalacetato entran en el ciclo dos átomos de carbono. Por las descarboxilaciones sucesivas catalizadas por la isocitrato deshidrogenasa y la alfa-cetoglutarato deshidrogenasa salen del ciclo otros dos carbonos en forma de CO<sub>2</sub>. como se comentará en breve, los dos átomos de carbono que salen del ciclo son diferentes de los que han entrado en la misma vuelta.
2. En las descarboxilaciones oxidativas del isocitrato y del alfa-cetoglutarato se reducen dos moléculas de NAD, en la oxidación del succinato se reduce una molécula de FAD y en la oxidación del malato se reduce otra de NAD.

3. A partir del enlace tioéster altamente energético del succinil-Coa se genera un enlace fosfato de alta energía (GTP).
4. se consumen 2 moléculas de agua: una en la síntesis del citrato, por la hidrólisis del citril-Coa y la otra en la hidratación del fumarato.

El NADH Y FADH<sub>2</sub> formados en el ciclo se oxidan mediante la cadena de transporte electrónico. La transferencia de electrones desde estos transportadores al oxígeno, el aceptor final de electrones, conduce al bombeo de protones a través de la membrana interna mitocondrial. Se crea entonces una fuerza protomotriz que potencia la generación de ATP. La estequiometría es de 2.5 ATP por cada NADH y 1.5 ATP por cada FADH<sub>2</sub>. nótese que solo se forma de modo directo un enlace fosfato de alta energía por cada unidad de acetilo que entra en el ciclo del ácido cítrico. En cambio, cuando se oxidan tres NADH y un FADH<sub>2</sub> mediante la cadena de transporte electrónico, se generan otros nueve enlaces fosfato altamente energético.

El oxígeno molecular no participa directamente en el ciclo del ácido cítrico. Sin embargo, el ciclo opera únicamente bajo condiciones aeróbicas porque el NAD Y FAD pueden ser regenerados en la mitocondria solamente por transferencia de electrones hasta el oxígeno molecular. La glicolisis tiene ambas modalidades, aeróbica y anaeróbica, mientras que el ciclo del ácido cítrico es estrictamente aeróbico. Recuérdese que la glicolisis puede tener lugar bajo condiciones anaeróbicas porque el NAD se regenera durante la conversión de piruvato en lactato.

### **EL COMPLEJO PIRUVATO DESHIDROGENASA ES UN ENSAMBLAJE MULTIMERICO DE TRES CLASES DE ENZIMAS.**

La descarboxilación oxidativa del piruvato hasta acetil-Coa está catalizada por el complejo piruvato deshidrogenasa, un conjunto organizado de tres tipos de enzimas. La reacción neta catalizada por este complejo es:



La tiamina pirofosfato (TPP), la lipoamida y el FAD sirven como cofactores catalíticos, además del CoA y el NAD, los cofactores estequiométricos.

Hay cuatro etapas en la conversión del piruvato en acetil-Coa. Primero, el piruvato se descarboxila después de combinarse con el TPP.



El nitrógeno positivamente cargado del anillo del TPP actúa entonces como un pozo de electrones para estabilizar la formación de una carga negativa, necesaria para la descarboxilación.

En la segunda etapa, el grupo hidroxietilo ligado al TPP se oxida hasta formar un grupo acetilo y se transfiere al mismo tiempo a la lipomada.

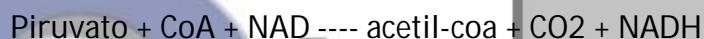
En la tercera, el grupo acetilo se transfiere desde la acetil-lipoamida hasta el Coa para formar acetil-coa.

En la cuarta, la forma oxidada de la lipoamida es regenerada por la dihidrolipoilo deshidrogenasa.

La integración estructural de tres clases de enzimas hace posible la catálisis coordinada de una reacción compleja. La gran proximidad de un enzima a otro aumenta la velocidad de la reacción total y reduce al mínimo las reacciones colaterales.

### **ANALOGÍAS ENTRE SISTEMAS MULTIENZIMÁTICOS: EL COMPLEJO ALFA-CETOGLUTARATO DESHIDROGENASA.**

La descarboxilación oxidativa del alfa-cetoglutarato recuerda estrechamente la del piruvato:



Participan los mismos cofactores: TPP, lipoamida, Coa, FAD y NAD. De hecho, la descarboxilación oxidativa del alfa-cetoglutarato está catalizada por un complejo enzimático estructuralmente similar al complejo de la piruvato deshidrogenasa.

Son complejos multienzimáticos homólogos.

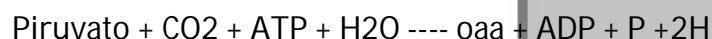
### **EL BERIBERI SE DEBE A UN DÉFICIT DE TIAMINA.**

El beriberi, una enfermedad neurológica y cardiovascular, está causado por una deficiencia dietética de tiamina (llamada también vitamina B1). El TPP es el grupo prostético de tres enzimas importantes: la piruvato deshidrogenasa, la alfa-cetoglutarato y la transcetolasa. Esta última transfiere unidades decarbonadas desde un azúcar a otro. El aspecto común de las reacciones enzimáticas que utilizan TPP es la transferencia de una unidad activada de aldehído.

### **EL CICLO DEL ÁCIDO CÍTRICO ES UNA FUENTE DE PRECURSORES BIOSINTÉTICOS.**

Hasta ahora se ha abordado la función del ciclo del ácido cítrico como la vía degradativa más importante para la generación de ATP. El ciclo de ácido cítrico también suministra intermediarios para la biosíntesis. Por ejemplo, la mayoría de los átomos de carbono de las porfirinas provienen del succinil-Coa. Muchos aminoácidos derivan del alfa-cetoglutarato y del Oaa. Es importante advertir ahora que los intermediarios del ciclo del ácido cítrico deben ser repuestos cuando se utilizan para la biosíntesis. Supongamos que el oxalacetato se convierte en aminoácidos para la síntesis de proteínas. A menos que se forme oaa de novo, el ciclo del ácido cítrico dejará de operar porque el acetil-coa no puede entrar en él sino se condensa con el oaa. Los mamíferos carecen de la maquinaria enzimática capaz de convertir el acetil-coa en oaa u otro intermediario el ciclo. El oaa debe

formarse por carboxilación del piruvato, una reacción catalizada por la piruvato carboxilasa.



La síntesis del oaa por la carboxilación del piruvato es un ejemplo de reacción anaplerótica (del griego "rellenar").

### **EL CICLO DEL GLIOXILATO PERMITE A LAS PLANTAS Y BACTERIAS CRECER EN ACETATO.**

Muchas bacterias y plantas son capaces de crecer nutriéndose de acetato o de otros compuestos que produzcan acetil-Coa. Estos seres utilizan una vía metabólica que transforma unidades acetilo, de dos carbonos, en unidades de cuatro carbonos (succinato) para producir energía o para la biosíntesis. Esta secuencia de reacciones, se conocen como ciclo del glioxilato o ciclo glioxílico. Una diferencia clave entre los dos ciclos es que en el glioxílico entran dos moléculas de acetil-coa por vuelta, y en cítrico sólo una. El ciclo del glioxilato, al igual que el cítrico, empieza con la condensación el acetil-coa y oaa para formar citrato que luego se isomeriza a isocitrato. Éste, en vez de descarboxilarse, es escindido por la isocitrato liasa en succinato y glioxilato. Las etapas siguientes regeneran oaa a partir del glioxilato. Un nuevo astil-coa se condensa con el glioxilato para formar malato, en una reacción catalizada por la malato sintasa, que recuerda a la citrato sintasa. Finalmente, el malato se oxida a oaa, igual que en el ciclo del ácido cítrico.

En las plantas estas reacciones tienen lugar en unos orgánulos denominados glioxisomas.

### **EN LAS BACTERIAS LA ISOCITRATO DESHIDROGENASA SE DESACTIVA POR FOSFORILACIÓN DE SU CENTRO ACTIVO.**

En algunas bacterias y en las plantas el isocitrato tiene dos destinos principales. Cuando se necesita energía, se descarboxila oxidativamente para formar alfa-cetoglutarato. Por el contrario, cuando la energía es abundante, el isocitrato se rompe en succinato y glioxilato. En este punto crucial de ramificación el ciclo del ácido cítrico y el del glioxilato compiten por el isocitrato.

En momentos de plenitud, la isocitrato deshidrogenasa se desconecta mediante fosforilación, lo cual sirve para dirigir el isocitrato hacia la vía del glioxilato para formar intermediarios biosintéticos. El mecanismo de desactivación es sencillo: la fosforilación de la seina en el centro activo bloquea directamente el ensamblaje del isocitrato. La quinasa que fosforila la isocitrato deshidrogenasa y la fosfasa que elimina el grupo fosfato del enzima modificado están situadas en la misma cadena polipeptídica. De hecho, estas reacciones opuestas están catalizadas por el mismo centro activo. Sus velocidades están controladas de forma recíproca por varios metabolitos. Por ejemplo, el AMP activa a la fosfatasa e inhibe a la quinasa.

### **EL COMPLEJO PIRUVATO DESHIDROGENASA SE REGULA MEDIANTE FOSFORILACIÓN REVERSIBLE.**

En los animales la formación de acetil-Coa a partir de piruvato es una etapa irreversible crucial porque son incapaces de convertir el acetil-coa en glucosa. La descarboxilación oxidativa del piruvato a acetil-coa dirige a los átomos de carbono de la glucosa hacia dos destinos principales: oxidación a CO<sub>2</sub> en el ciclo del ácido cítrico, con la consiguiente generación de energía, o bien su incorporación a los lípidos. La fosforilación del componente piruvato deshidrogenasa por una quinasa específica interrumpe la actividad del complejo. Esta desactivación se invierte por acción de una fosfatasa específica.

El aumento de NADH, ATP y acetil-coa promueve la fosforilación y por consiguiente la desactivación del complejo. El piruvato activa a la deshidrogenasa porque inhibe a la quinasa, mientras que el Ca<sup>2+</sup> lo hace porque estimula la fosfatasa. Así pues, la piruvato deshidrogenasa se desconecta cuando la carga energética es elevada y los intermediarios biosintéticos son abundantes. Por el contrario, ciertas hormonas, como la vasopresina y los agonistas adrenérgicos, estimulan a la piruvato deshidrogenasa porque desencadenan un aumento en el nivel de calcio citosólico, que a su vez eleva el nivel de Ca mitocondrial. La insulina también acelera la conversión de piruvato en acetil-coa porque estimula la desfosforilación del complejo.

### **CONTROL DEL CICLO DEL ÁCIDO CÍTRICO.**

La síntesis de citrato a partir de oaa y acetil-coa, la entrada de unidades decarbonadas, es un punto de control importante en el ciclo. EL ATP es un inhibidor alostérico de la citrato sintasa. El efecto del ATP es disminuir la afinidad por el acetil-coa.

Un segundo punto de control es la isocitrato deshidrogenasa. Este enzima es estimulado alostéricamente por ADP, lo que aumenta su afinidad por los sustratos.

Un tercer lugar de control en el ciclo es la alfa-cetoglutarato deshidrogenasa. Es inhibida por el succinil-coa y el NADH, los productos de la reacción que cataliza. También es inhibida por una carga energética alta.

### **RESUMEN: CICLO DEL ÁCIDO CÍTRICO.**

El ciclo del ácido cítrico es la vía final común para la oxidación de las moléculas combustibles. También sirve de fuente de moléculas precursoras para la biosíntesis. La mayoría de moléculas entran en el ciclo como acetil-Coa. La descarboxilación oxidativa del piruvato es el eslabón entre la glicolisis y el ciclo del ácido cítrico. En los eucariotas, esta reacción y las del ciclo se producen en el interior de la mitocondria, a diferencia de la glicolisis que tiene lugar en el citosol.

El ciclo comienza con la condensación de oaa y acetil-coa para dar citrato que se isomeriza hasta isocitrato. La descarboxilación oxidativa de este intermediario produce alfa-cetoglutarato. La segunda molécula de CO<sub>2</sub> se desprende en la reacción siguiente, en la que el alfa-cetoglutarato se descarboxila oxidativamente hasta succinil-coa. El enlace tioéster del succinilcoa se rompe por



el P para producir succinato, y se genera simultáneamente un enlace fosfato de alta energía en forma de GTP. El succinato se oxida hasta fumarato, que se hidrata para formar malato. Finalmente el malato se oxida para regenerar oaa. Así pues, dos átomos de carbono en forma de acetyl-coa entran en el ciclo y dos átomos de carbono dejan el ciclo como CO<sub>2</sub>.

En las cuatro óxido-reducciones del ciclo se transfieren tres pares de electrones al NAD y un par al FAD. Estos transportadores de electrones reducidos son oxidados a continuación por la cadena de transporte electrónico para generar 9 ATP. Además, se forma directamente un enlace fosfato de alta energía en el ciclo del ácido cítrico. De aquí que se generen un total de 10 enlaces fosfato de alta energía por cada fragmento decarbonado que se oxida completamente hasta H<sub>2</sub>O y CO<sub>2</sub>.

El ciclo del ácido cítrico opera solamente en condiciones aeróbicas porque requiere el suministro de NAD Y FAD. Estos aceptores de electrones se regeneran cuando el NADH Y FADH<sub>2</sub> transfieren sus electrones al oxígeno a través de la cadena de transporte electrónico, con la consiguiente producción de ATP. En consecuencia, la velocidad del ciclo del ácido cítrico depende de las necesidades de ATP. La regulación de tres enzimas del ciclo es también importante para su control. Una carga energética elevada disminuye la actividad de la citrato sintasa, la isocitrato deshidrogenasa y la alfa-cetoglutarato deshidrogenasa. La formación irreversible de acetyl-coa a partir de piruvato deshidrogenasa está controlada estrictamente por fosforilación reversible. Estos mecanismos se complementan entre sí, reduciendo la velocidad de formación de acetyl.coa cuando la carga energética de la célula es alta y cuando los intermediarios biosintéticos son abundantes.

## 2. FOSFORILACIÓN OXIDATIVA.

En la fosforilación oxidativa, la síntesis de ATP está acoplada al flujo de electrones del NADH o del FADH<sub>2</sub> al O<sub>2</sub> mediante un gradiente de protones a través de la membrana interna mitocondrial. El flujo de electrones a través de tres complejos transmembranales orientados asimétricamente produce el bombeo de protones hacia el exterior de la matriz mitocondrial y genera un potencial de membrana. El ATP se sintetiza cuando los protones vuelven a la matriz a través de un conducto en el complejo sintetizador de ATP, conocido como ATP sintasa (también llamada FoF<sub>1</sub> ATPasa). La fosforilación oxidativa es un ejemplo de la transmisión de energía libre por gradiente de protones.

Los transportadores de electrones de la cadena respiratoria asociada a la membrana interna mitocondrial son flavinas, complejos hierro-azufre, quinonas, los grupos hemo de los citocromos e iones de cobre. Los electrones procedentes del NADH se transfieren al NADH-Q reductasa, el primero de los tres complejos. Esta reductasa también contiene centros Fe-S. Los electrones acaban en el QH<sub>2</sub>, la forma reducida de la ubiquinona Q. Este transportador hidrofóbico es extraordinariamente móvil, y transfiere sus electrones a la citocromo reductasa, un complejo que contiene citocromos b y c<sub>1</sub> y un centro Fe-S.

Este segundo complejo reduce al citocromo *c*, una proteína periférica de membrana, hidrosoluble. El citocromo *c*, al igual que *Q*, es un transportador móvil de electrones, que transfiere a éstos a la citocromo oxidasa. Este tercer complejo contiene los citocromos *a*, *a*<sub>3</sub> y dos iones cobre. El hierro hemínico y un ion cobre de esta oxidasa transfieren los electrones al O<sub>2</sub>, el aceptor final, para formar agua.

El flujo de electrones a través de cada uno de estos complejos permite el bombeo de protones desde la matriz al lado citosólico de la membrana interna mitocondrial.

La fuerza protomotriz generada consiste en un gradiente de pH (el lado del citosol es ácido) y un potencial de membrana. El retorno de los protones hacia la matriz mitocondrial a través de la ATP sintasa dirige la síntesis de ATP. Este complejo enzimático consiste en una unidad hidrofóbica *F*<sub>0</sub> que conduce los protones a través de la membrana y una unidad hidrofílica *F*<sub>1</sub> que cataliza la síntesis de ATP.

El flujo de dos electrones a través de la NADH-Q reductasa, la citocromo reductasa y la citocromo oxidasa genera un gradiente capaz de sintetizar 1, 0.5 y 1 moléculas de ATP, respectivamente. Por lo tanto, por cada NADH que se oxida en la matriz mitocondrial se forman 2.5 moléculas de ATP, mientras que cada FADH<sub>2</sub> oxidado sólo produce 1.5 ATP, debido a que sus electrones se incorporan a la cadena respiratoria a nivel de QH<sub>2</sub>, localizado detrás del primer centro de bombeo de protones, debido a la acción de la lanzadera glicerol fosfato.

La entrada de ADP a la matriz mitocondrial está acoplada a la salida del ATP gracias a la ATP-ADP translocasa, un transportador impulsado por el potencial de membrana. Cuando una molécula de glucosa se oxida completamente a CO<sub>2</sub> y agua se generan aproximadamente 30 moléculas de ATP.

Este proceso puede ser interrumpido por desacoplantes como el dinitrofenol, que disipa el gradiente de protones al transportar protones a través de la membrana mitocondrial.

### **3. METABOLISMO DEL GLUCÓGENO.**

El glucógeno, combustible almacenado de fácil movilización, es un polímero ramificado de residuos de glucosa. La mayoría de las unidades de glucosa presentes en el glucógeno están unidas por enlaces glucosídicos alfa-1,4. por aproximadamente diez residuos se forma una rama mediante un enlace glucosídico alfa-1,6. el glucógeno está presente en grandes cantidades en el músculo y en el hígado, donde se almacena en el citoplasma de las células en forma de gránulos hidratados. La mayor parte de las moléculas de glucógeno se degradan hasta glucosa-1P por acción de la fosforilasa. El enlace glucosídico entre el c1 de un residuo Terminal y el c4 del adyacente se rompe mediante el ortofosfato para dar glucosa-1P, que puede convertirse reversiblemente en glucosa-6P. El piridoxal fosfato, un derivado de la vit B<sub>6</sub>, participa en la ruptura fosforolítica del glucógeno. Los puntos de ramificación son degradados por la acción concertada de una oligosacárido transferasa y una alfa-1,6-glucosidasa. Este último enzima (conocido

también como enzima desramificante) cataliza la hidrólisis de los enlaces alfa-1,6 originando glucosa libre.

La síntesis de glucógeno sigue una vía diferente. La UDP-glucosa, el intermediario activado en la síntesis del glucógeno, se forma a partir de glucosa-1P y UTP. La glucógeno sintasa cataliza la transferencia de glucosa desde la UDP-glucosa hasta el grupo hidroxilo del C4 de un residuo Terminal, situado en la molécula de glucógeno en crecimiento. La síntesis de glucógeno es iniciada por la glucogenina, una proteína capaz de autoglicosilarse y que contiene un oligosacárido unido covalentemente a un residuo específico de tirosina. La glucógeno sintasa sólo es activa cuando esta asociada a la glucogenina, lo que sirve para limitar el tamaño de los gránulos de glucógeno. Un enzima ramificante convierte algunos de los enlaces alfa-1,4 en alfa-1,6, para aumentar el número de glucosas terminales, de modo que el glucógeno pueda degradarse con mayor rapidez.

La fosforilasa, un enzima dimérico, es regulado por eyectores alostéricos y por modificaciones covalentes reversibles. La fosforilasa b, que es normalmente inactiva, se convierte en fosforilasa a activa por fosforilación de un solo residuo de serina en cada subunidad. Esta reacción está catalizada por la fosforilasa quinasa.

En el músculo la forma b puede también ser activada por la unión de AMP, efecto antagonizado por el ATP, y por la glucosa-6P. En el hígado la forma a es inhibida por la glucosa. Los centros de unión al AMP y los de fosforilación están situados en la interfase de las subunidades.

La síntesis y degradación del glucógeno son controladas coordinadamente por varias cascadas amplificadoras de reacciones. La glucógeno sintasa permanece inactiva cuando la fosforilasa es activa y viceversa. La adrenalina y el glucagón estimulan la degradación del glucógeno e inhiben su síntesis por incremento del nivel citosólico de AMP cíclico, el cual activa a la proteína quinasa a. La fosforilasa quinasa se vuelve más activa, mientras que la glucógeno sintasa resulta menos activa, cuando ambas son fosforiladas por la PKA. Los niveles elevados de  $Ca^{2+}$  citosólico actúan directamente sobre la fosforilasa quinasa, activándola. Este enzima contiene calmodulina como una de sus subunidades integrantes. Así pues, la contracción muscular y las hormonas que movilizan el calcio provocan la degradación del glucógeno.

La síntesis de glucógeno decrece a causa de la adrenalina y aumenta a causa de la insulina.

#### 4. VÍA DE LAS PENTOSAS FOSFATO Y GLUCONEOGENESIS.

La vía de las pentosas fosfato genera NADPH y ribosa-5-fosfato en el citosol. El NADPH se utiliza en las biosíntesis reductoras y la ribosa-5-fosfato se usa en las síntesis de RNA, DNA y coenzimas nucleotídicos. La vía de las pentosas fosfato comienza con la deshidrogenación de glucosa-6-fosfato para formar una lactona, que se hidroliza para dar 6-fosfogluconato y éste a su vez por descarboxilación oxidativa produce ribulosa-5P. El NADP es el aceptor electrónico en ambas

oxidaciones. La última etapa es la isomerización de la ribulosa-5P (una cetosa) hasta ribosa-5P (una aldosa). Una modalidad diferente de la vía se activa cuando las células necesitan mucho más NADPH que ribosa-5P. En estas condiciones, la ribosa-5P se convierte en gliceraldehído-3P y en fructosa-6P por la transcetolasa y la transaldolasa. Estas enzimas establecen una conexión reversible entre la vía de las pentosas fosfato y la glicólisis. Son intermediarios en estas interconversiones la xilulosa-5P, la sedoheptulosa-7P y la eritrosa-4P. De esta forma, pueden generarse doce NADPH por cada glucosa-6P que se oxida completamente a CO<sub>2</sub>.

Solamente la rama no oxidativa de la vía es activa cuando se necesita sintetizar mucha más ribosa-5P que NADPH. En estas condiciones, la fructosa-6P y el gliceraldehído-3P (formado por la vía glicolítica) se convierten en ribosa-5P sin la formación de NADPH. Otra posibilidad es que la ribosa-5P formada en la rama oxidativa se convierta en piruvato a través de fructosa-6P y gliceraldehído-3P. En esta modalidad se generan ATP y NADPH, y cinco de los seis carbonos de la glucosa-6P aparecen en el piruvato. La interrelación entre las vías glicolítica y de pentosas fosfato controla los niveles de NADPH, ATP y de precursores de biosíntesis tales como ribosa-5P y piruvato.

La gluconeogénesis es la síntesis de glucosa a partir de fuentes no glicídicas, tales como lactato, aa y glicerol. Algunas de las reacciones que permiten convertir el piruvato en glucosa son comunes a la glicólisis. Sin embargo, la gluconeogénesis requiere cuatro nuevas reacciones para soslayar la irreversibilidad esencial de determinadas reacciones de la glicólisis. El piruvato se carboxila para dar oaa en la mitocondria y de nuevo se descarrila y fosforila a fosfoenolpiruvato en el citosol. En estas reacciones se consumen dos enlaces fosfato de alta energía y las mismas son catalizadas por la piruvato carboxilasa y la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa. La piruvato carboxilasa contiene biotina como grupo prostético. Las otras reacciones características de la gluconeogénesis son la hidrólisis de la fructosa-1,6 DP y de la glucosa-6P, catalizadas por fosfatasas específicas. Los principales materiales de partida para la gluconeogénesis en el hígado son el lactato y la alanina producidos en el músculo esquelético, a partir del piruvato.

La gluconeogénesis y la glicólisis se regulan de forma inversa, de modo que, cuando una vía es muy activa, la otra es relativamente inactiva. Los puntos clave de control son la fosfofructoquinas y la fructosa-1,6 BP. La fructosa-2,6BP, una molécula-sígnal intracelular, presente a concentraciones elevadas cuando abunda la glucosa, activa la glicólisis e inhibe la gluconeogénesis, modificando la actividad de estas enzimas. La piruvato quinasa y la piruvato carboxilasa se regulan mediante otros efectores, de modo que ambas no pueden presentar la actividad máxima al mismo tiempo. La regulación alostérica y la fosforilación reversible, que son procesos rápidos, se ven complementadas por el control transcripcional, que tiene lugar en cuestión de horas o de días.