

METABOLISMO

(Leer en paralelo con el Ppoint del tema para completar conceptos)

Definiciones de **metabolismo, anabolismo, catabolismo**. Catabolismo: mencionar 3 mecanismos de producción de energía: **fermentación, respiración, fotosíntesis**.

FERMENTACIÓN

Vía catabólica en la que un compuesto orgánico actúa sucesivamente como donador y aceptor de electrones. Es un proceso ANAEROBIO.

La energía se obtiene únicamente por FOSFORILACIÓN A NIVEL DE SUSTRATO

PRINCIPALES VIAS DE FERMENTACION

Cierto número de fermentaciones están basadas en la:

• **Vía glucolítica** (Embden-Meyerhof) que transcurre desde glucosa hasta piruvato.

Esta vía genera 2 moléculas de ATP por cada glucosa consumida, en un proceso conocido como **fosforilación a nivel de sustrato**.

Para equilibrar la fermentación y permitir el reciclaje de NAD^+ , el NADH debe ser reoxidado por el piruvato o un derivado. Los microbios han desarrollado una variedad de vías para este fin.

Estas vías son:

- fermentación láctica
- fermentación alcohólica
- fermentación propiónica
- fermentación ácido-mixta
- fermentación butilenglicólica
- fermentación butírica

Lugar donde se llevan a cabo la vía glucolítica y las diferentes fermentaciones: el citoplasma celular

-Fermentación láctica

Es la fermentación más simple. Una reacción en un solo paso catalizado por la piruvato reductasa ligada a NADH, reduce el piruvato a lactato. No se forma gas. Rendimiento neto de energía por glucosa: 2 ATP. Es utilizada por bacterias que intervienen en la fabricación de queso.

Puede ser homoláctica, cuando se forma sólo lactato, o heteroláctica, cuando sólo la mitad de glucosa se convierte en lactato y la otra mitad genera etanol y CO₂. Ganancia de energía: 1 ATP/glucosa.

-Fermentación alcohólica

El piruvato se convierte en CO₂ y acetaldehído, que después se reduce a etanol.

Esta fermentación es característica de las levaduras. Se utiliza en la fermentación de pan, vino y otras bebidas alcohólicas.

Rendimiento neto de energía por glucosa: 2 ATP.

-Fermentación propiónica

El piruvato es carboxilado para producir oxaloacetato, que se reduce para producir succinato. El succinato se descarboxila para dar CO₂ y propionato. Las bacterias que siguen esta vía también pueden realizar fermentación de lactato. El lactato primero es oxidado a piruvato, parte de él se reduce a propionato, y el resto se oxida a acetato y CO₂. Se utiliza en la fabricación de queso suizo cuyo aroma se debe al ácido propiónico y los agujeros al CO₂.

Rendimiento neto de energía por cada glucosa: 2 ATP.

-Fermentación ácido-mixta o fórmica

Es característica de las enterobacterias, especialmente *Escherichia coli*. Estos microorganismos llevan glucosa a piruvato, desdoblan piruvato en formato y acetilCoA y generan un ATP adicional a partir de éste. El formato (HCOOH) en medio ácido produce gas: CO₂ + H₂. Esta es una prueba diagnóstica importante que se practica en el ensayo de ROJO DE METILO.

Rendimiento neto de energía por glucosa: 3 ATP.

-Fermentación butilenglicólica o acetoínica

Es característica de las enterobacterias pertenecientes al género *Enterobacter*. Estos microorganismos llevan glucosa a piruvato, luego 2 piruvatos se condensan y forman butanodiol (butilenglicol). Expuesto al aire, parte del butilenglicol se convierte en acetoína (producto neutro) que se reconoce con la prueba de VOGES PROSKAUER.

Es una fermentación que genera gran cantidad de gas.

Rendimiento neto de energía por glucosa: 2 ATP.

-Fermentación butírica

Es típica de bacterias anaerobias estrictas. Glucosa lleva a piruvato y éste a acetilCoA. Dos grupos acetato se condensan y el acetoacetilCoA resultante puede descarboxilar a acetona, o reducirse a isopropanol, ác. butírico y butanol. Rendimiento neto de energía por glucosa: 2 ATP.

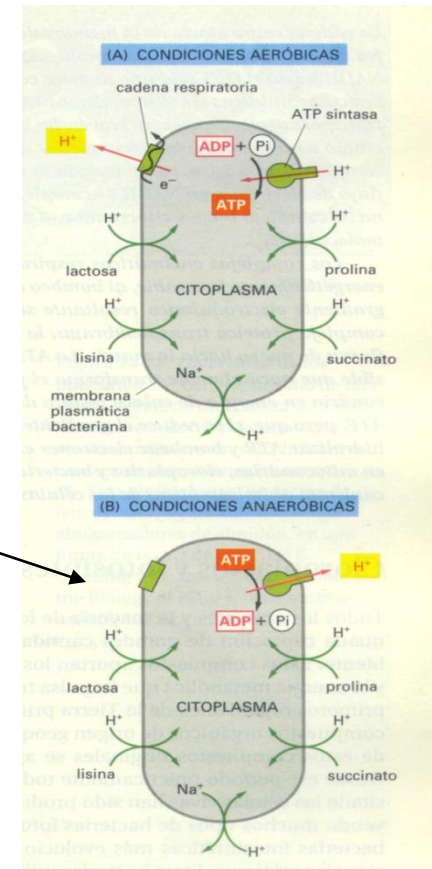
Existen ATPasa y fuerza protón motriz en organismos fermentadores?

Sí, como puede observarse en el gráfico inferior. Existe ATPasa que funciona en sentido inverso a lo que ocurre en organismos que hacen respiración:

-Hidrolizan ATP producido en fermentación y lo convierten en ADP + Pi. Esto genera un desplazamiento de H⁺ hacia el exterior y hace posible el gradiente electroquímico en membrana.

_ La fuerza protón motriz así creada hace posible los trabajos celulares tales como:

- * movimiento flagelar
- * transporte de iones a través de la membrana



Tomado de Alberts, Introducción a la biología celular. 2006. Ed. Medica Panamericana

RESPIRACIÓN

Proceso de oxidación de sustratos usando un aceptor final de electrones exógeno

Aeróbica	Anaeróbica
Proceso por el cual se oxida un compuesto usando O_2 como aceptor final de electrones	Cuando el aceptor final de electrones es diferente del O_2 (nitrato, sulfato, etc.)

Localización: la membrana citoplásmica de las bacterias.

No existen mitocondrias !!

Acabamos de analizar la fermentación de la glucosa por vía glucolítica, un proceso que ocurre en ausencia de aceptores exógenos de electrones. En la fermentación se libera una pequeña cantidad de energía porque:

- 1) Los átomos de carbono del compuesto inicial son oxidados sólo parcialmente,
- 2) La diferencia entre los potenciales de reducción (E_0) del donador primario de e^- y del aceptor final de e^- , es pequeña.

Si el donador primario pudiera oxidarse totalmente a CO_2 , usando un aceptor final de e^- , el rendimiento energético sería mayor. Esto ocurre en la RESPIRACION.

Si el aceptor final es O_2 , se trata de una respiración aerobia.

Si el aceptor final es distinto de O_2 , se trata de una respiración anaerobia.

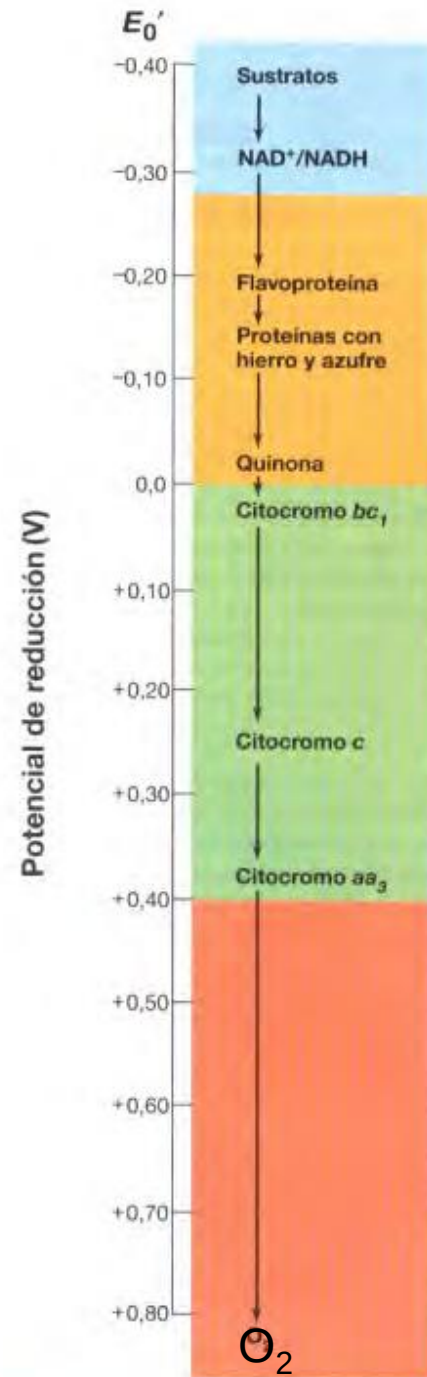
Respiración aerobia y

cadena de
transporte de
electrones

Respiración anaerobia

Idem con aceptor
final de electrones
distinto de O_2

Tomado de Brock, Biología de los
microorganismos. 10ª. Edición, Prentice-Hall



Respiración anaeróbica

- Los aceptores finales de electrones son diferentes del oxígeno:

- NO_3^-

- Fe^{+++}

- $\text{SO}_4^{=}$

- $\text{CO}_3^{=}$

- Fumarato

- Se libera menos energía cuando se usan estos aceptores de electrones en vez de O_2 . La fuerza electromotriz de protones también se realiza

Al estudiar la respiración aerobia veremos:

-**A)** El modo en que los e- son transferidos desde el compuesto orgánico hasta el aceptor final de e-, originando síntesis de ATP a expensas de la fuerza motriz de protones: **SISTEMAS TRANSPORTADORES DE ELECTRONES**

-**B)** Las vías bioquímicas implicadas en la transformación del carbono orgánico a CO_2 : **EL CICLO DEL ACIDO CITRICO**

-**A) SISTEMAS TRANSPORTADORES DE ELECTRONES**

En los microorganismos:

Ubicación: están asociados a membranas, generalmente la membrana citoplasmática.

Funciones: -aceptar e- de un donador y transferirlos a un aceptor

- conservar parte de la energía liberada durante el transporte de e- para la síntesis de ATP.

Transportadores de electrones: el flujo de e- sigue una ruta a través de:

- NADH deshidrogenasas: aceptan átomos de H_2 procedentes del NADH que se genera en distintas reacciones celulares y pasan esos átomos de H_2 a las flavoproteínas.

-flavoproteínas: aceptan átomos de H_2 y ceden e^- a las proteínas Fe/S.

-proteínas Fe/S: proteínas que no contienen grupos hemo. La ferredoxina es un ejemplo. Sólo transportan e^- que entregan a las quinonas.

-quinonas: son moléculas no proteicas altamente hidrofóbicas que actúan como aceptores de átomos de H_2 y como dadores de e^- .

-citocromos: proteínas que contienen un grupo hemo (es un anillo porfirínico con Fe). Sufren pérdida o ganancia de e^- por parte del átomo de Fe situado en el grupo hemo. Los distintos tipos de citocromos se designan por letras: citocromo *a*, citocromo *b*, citocromo *c*, citocromo *bc1*, dependiendo del tipo de grupo hemo que contengan.

Producción de energía: por fosforilación oxidativa. La producción de ATP está directamente ligada al establecimiento de una fuerza motriz de protones a través de la membrana.

FUERZA MOTRIZ DE PROTONES

Los transportadores de e^- presentados se orientan en la membrana de modo que durante el transporte tiene lugar una separación de protones y electrones a través de la membrana.

Los átomos de H_2 procedentes de transportadores como el NADH, se desdoblan en e^- y H^+ . Los e^- son transportados por la cadena de transporte y los segundos son bombeados fuera de la célula por lo que se genera una ligera acidez en la superficie externa de la membrana. Al final de la cadena de transporte, los e^- son recogidos por el aceptor final que se reduce: O_2 en respiración aerobia; NO_3^- , SO_4^{2-} , u otro en respiración anaerobia.

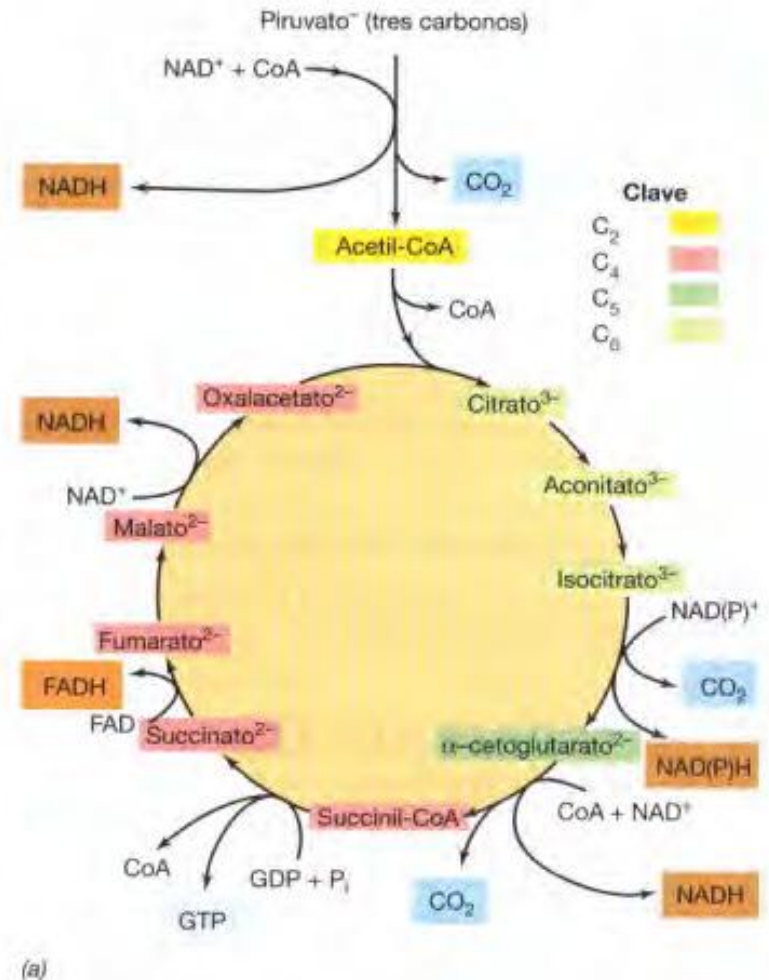
Cuando el O_2 se reduce a H_2O , necesita H^+ para completar la reacción. Estos H^+ derivan de la disociación del H_2O intracelular. Esto origina una acumulación de OH^- en la cara interna de la membrana. El resultado es la generación de un gradiente de pH o potencial electroquímico a través de la membrana, con la cara citoplasmática interna eléctricamente negativa y alcalina, y la cara externa de membrana con carga positiva y ácida. Esto le da a la membrana un cierto estado energético (como una batería) que puede ser conservado por la célula. Este estado de energía de la membrana se conoce como **fuerza motriz de protones** que se usa para realizar trabajos como transporte de iones, rotación del flagelo o síntesis de ATP. En esto es muy importante la enzima ATPasa.

-B) EL CICLO DEL ACIDO CITRICO

Qué ocurre con el C durante la respiración?

Las etapas iniciales de la respiración de la glucosa coinciden con la glucólisis hasta la producción de piruvato. En la respiración, piruvato es oxidado por completo a CO_2 . Esto se da en el **ciclo del ácido cítrico**.

Piruvato se descarboxila originando CO_2 , acetilcoenzima A y NADH. El grupo acetilo (de acetilCoA) se combina con oxalacetato formando ácido cítrico. A continuación, por descarboxilación de isocitrato y α -cetoglutarato, se generan 2 CO_2 , y los e^- liberados se transfieren a enzimas que contienen NAD^+ o FAD. Los e^- de NADH y FADH se transfieren al O_2 u otros aceptores finales de e^- mediante el sistema de transporte de e^- . La oxidación completa de glucosa genera mayor energía.



CICLO DEL ACIDO CITRICO Y BIOSINTESIS:

Además de tener una función catabólica muy importante, el ciclo del ácido cítrico también interviene en reacciones biosintéticas de la célula. Por ej.:

- alfa-cetoglutarato y oxalacetato**, son precursores de ciertos aminoácidos
- succinilcoenzima A**, contribuye a formar el anillo porfirínico (que contiene Fe) de los citocromos, la clorofila y otros compuestos tetrapirrólicos
- oxalacetato**, puede convertirse en fosfoenolpiruvato, un precursor de glucosa.
- acetilCoA**, es material necesario para la biosíntesis de ácidos grasos

FOTOSÍNTESIS

Es la conversión de la energía lumínica en energía química.

Los microorganismos que realizan fotosíntesis se llaman FOTOTROFOS

Uno de los procesos biológicos más importantes en la Tierra es la **fotosíntesis**. La mayoría de los organismos fototróficos es también **autotrofa**, es decir, capaces de crecer con CO_2 como única fuente de carbono. La luz es fuente de energía que se utiliza para reducir CO_2 y convertirlo en diversos compuestos orgánicos.

Existen algunos fototrofos que pueden utilizar compuestos orgánicos sencillos como fuente de C, se denominan **fotoheterotrofos**.

Reacciones de fase luminosa: la energía de la luz se conserva como energía química en forma de ATP. Para impulsar las reacciones, algunas bacterias obtienen poder reductor de donadores de e^- como H_2S , S^0 , $\text{S}_2\text{O}_3^{=}$, ó H_2 . Por el contrario, las plantas verdes, las algas y las cianobacterias usan H_2O como donador de e^- . Ese poder reductor permite convertir NADP^+ en NADPH . Cuando el dador de e^- es H_2O , se genera O_2 , y se dice que la **fotosíntesis es oxigénica**. Cuando el dador de e^- es distinto a H_2O , se dice que la **fotosíntesis es anoxigénica**.

Reacciones de fase oscura: esa energía química se usa para reducir CO_2 a compuestos orgánicos.

Función de bacterioclorofilaS y otros pigmentos fotosintéticos

La fotosíntesis requiere la presencia de pigmentos en la célula. Estos pueden ser:

PIGMENTOS FOTOSENSIBLES

Su presencia es necesaria para que se realice la fotosíntesis

CLOROFILA. Se encuentra en plantas, algas y cianobacterias. Es una porfirina como los citocromos, pero contiene un átomo de Mg en su estructura. La clorofila tiene radicales específicos unidos al anillo de porfirina y una molécula de alcohol de cadena lateral hidrofóbica, que permite que la clorofila se asocie a las membranas fotosintéticas. Existen variedades de clorofila de acuerdo a su espectro de absorción de la luz: **clorofila a** que se encuentra en cianobacterias y plantas superiores, **clorofila b**, etc.

BACTERIOCLOROFILAS: se encuentran en fototrofos anoxigénicos como **bacterias rojas y verdes**. Existe la **bacterioclorofila a** en bacterias rojas que absorbe entre 800 y 925 nm, y otras bacterioclorofilas que absorben en otras regiones del espectro.

Por qué los microorganismos tienen varias clases de clorofila que absorben luz a diferentes longitudes de onda? Sólo la luz que se absorbe puede usarse para producir energía; al tener diferentes pigmentos, 2 microorganismos no relacionados pueden ocupar el mismo hábitat.

CAROTENOIDES: pigmentos accesorios que intervienen en la captura y procesamiento de la energía luminosa. Los carotenoides cumplen principalmente una función fotoprotectora cuando la luz brillante que causa reacciones fotooxidativas perjudiciales para la célula, podría afectar el propio aparato fotosintético.

FICOBILIPROTEINAS: son los pigmentos captadores de luz más importantes en cianobacterias y algas rojas. Son cadenas tetrapirrónicas abiertas acopladas a proteínas. Si es de color rojo, se llaman ficoeritrinas; si son de color azul, son ficocianinas. El color depende de la longitud de onda a la cual absorben luz.

Se suelen presentar como agregados llamados **ficobilisomas**, unidos a las membranas fotosintéticas.

Ubicación de los pigmentos fotosintéticos

Los pigmentos clorofílicos y los componentes del aparato captador de luz se encuentran en el interior de la célula, en sistemas de membranas especiales, las **membranas fotosintéticas**.

En los organismos procariotas **no existen** cloroplastos, y los pigmentos están integrados en sistemas de membranas que se forman:

- 1) Por **invaginación de la membrana citoplasmática**, como ocurre en las bacterias rojas (cromatóforos)
- 2) Por la **membrana citoplasmática misma**, como en las heliobacterias
- 3) Estructuras especializadas rodeadas por membranas no unitarias llamadas **clorosomas**, como en las bacterias verdes. Los clorosomas funcionan como un sistema de antena gigante, pero no están asociados a proteínas. Funcionan como un circuito de estado sólido, absorbiendo intensidades extremadamente bajas de luz y transfiriendo la energía a la bacterioclorofila a en el centro de reacción localizado en la membrana citoplasmática.
- 4) En membranas de **tilacoides**, como se observa en las cianobacterias.

Centros de reacción y pigmentos antena

Dentro de una membrana fotosintética, las moléculas de clorofila o bacterioclorofila se asocian con proteínas en complejos de 50 a 300 moléculas.

-Un número muy reducido de estas moléculas participa directamente en la conversión de luz en ATP: son los pigmentos de los **centros de reacción**.

-Un grupo muy numeroso de otras moléculas de clorofila actúa como **captador de luz o antena**. Estos pigmentos antena captan la luz y la transfieren al centro de reacción. A las bajas intensidades de luz que se dan en la naturaleza, esta distribución de funciones permite capturar y utilizar fotones de luz que de otro modo serían insuficientes para producir la fotoquímica de los centros de reacción.

Fotosíntesis oxigénica

El proceso de síntesis de ATP mediante la luz comprende un flujo de e^- a través de una serie de transportadores que se encuentran localizados en membranas fotosintéticas como ya se explicó. Los transportadores están ordenados desde los más electronegativos a los más electropositivos.

Los fototrofos oxigénicos emplean la luz para producir ATP y NADPH a través de 2 sistemas de reacciones interconectados.

Los 2 sistemas de reacción se llaman **fotosistema I** y **fotosistema II**. Cada uno tiene una forma de clorofila a en el centro de reacción espectralmente diferente: la clorofila del fotosistema I, conocida como P700, absorbe longitudes de onda largas (infrarrojo), y la clorofila del fotosistema II es P680 que absorbe longitudes de onda más cortas.

La trayectoria del flujo de e^- en fototrofos oxigénicos recuerda a una letra Z tumbada. Comienza en el fotosistema II cuando un e^- del agua pasa a una molécula oxidada de P680, tras producirse la absorción de un cuanto de luz de 680 nm.

Esto convierte a P680 en un reductor fuerte, capaz de reducir una molécula de **feofitina a** (clorofila a sin Mg). De aquí, el e^- viaja por una serie de transportadores en la membrana, que incluye quinonas, citocromos y **plastocianina** (una proteína con cobre). Ésta cede e^- al fotosistema I. El e^- es aceptado por el centro de reacción P700, que previamente absorbe cuantos de luz e inicia pasos que llevan a la reducción de NADP^+ . En el proceso se produce la transferencia de e^- a través de diversos portadores con valores de E_0 en aumento, finalizando con la reducción de NADP^+ .

Durante la transferencia de e^- desde el aceptor en fotosistema II a la clorofila P700 del fotosistema I, se produce transporte de e^- en una dirección termodinámicamente favorable (de NEGATIVO a POSITIVO). Esto genera una fuerza protón motriz que produce ATP. Esto se conoce como **fotofosforilación no cíclica**, porque los e^- no vuelven a reducir el P680 oxidado, sino que son usados para reducir NADP^+ .

Cuando hay suficiente NADPH (poder reductor), se puede dar la fotofosforilación cíclica en la que funciona sólo el fotosistema I. Esto ocurre cuando los e^- se desplazan desde ferredoxina al citocromo bf, y desde allí el transporte devuelve el e^- a P700. Este flujo crea potencial de membrana (es decir hay fuerza protón motriz) y se sintetiza ATP adicional

Fotosíntesis anoxigénica

La energía lumínica es captada por pigmentos antena que lo ceden al centro de reacción donde se encuentra bacterioclorofila a. Allí comienza la fotosíntesis. El centro reactivo excitado P870 se convierte en un fuerte donador de e^- con un potencial de

reducción muy electronegativo. El e⁻ excitado en P870 pasa a reducir una molécula de bacteriofeofitina. Una vez reducida, bacteriofeofitina reduce primero varias quinonas intermediarias y finalmente una quinona del “depósito de quinonas” que se encuentran en la membrana. Desde la quinona, los e⁻ se transportan a través de una serie de proteínas Fe/S y citocromos, volviendo finalmente al centro de reacción. Las proteínas clave son los citocromos bc1 y c2. El citocromo c2 es periplasmático y sirve como transportador de e⁻ desde el complejo bc1, unido a membrana, hasta el centro de reacción.

La síntesis de ATP es el resultado de la formación de un gradiente electroquímico de protones o fuerza protón motriz, generada por la salida de protones durante el transporte de e⁻ y la acción de ATPasa. La serie de reacciones se completa cuando el citocromo c2 dona un e⁻ al par especial de bacterioclorofilas que vuelven a su estado original. Este modo de producir ATP se denomina **fotofosforilación cíclica**, porque los e⁻ se mueven en círculo. Se parece a la respiración en que se establece un fuerza protón motriz a nivel de membrana, pero aquí no hay entrada ni salida neta de e⁻, ni aceptor final de e⁻.

La formación de ATP no es suficiente para el crecimiento de los fototrofos anoxigénicos; es necesaria la formación de poder reductor (NADH o NADPH), para que el CO₂ pueda reducirse hasta el nivel de material celular. Esto se hace con donadores de e⁻ como H₂S, S⁰, S₂O₃⁼, F²⁺, etc. Estas sustancias son oxidadas por citocromos de tipo c y sus e⁻ llegan al “depósito de quinonas” de la membrana fotosintética. Sin embargo, el E_0 de la quinona no es lo suficientemente negativo para reducir el NAD⁺ a NADH. Este proceso que consume energía recibe el nombre de **transporte inverso de e⁻** t está impulsado por la fuerza protón motiz.

FIJACION AUTOTROFICA DE CO₂: una alternativa es el CICLO DE CALVIN

El ciclo requiere **NAD(P)H** y 2 enzimas clave, la **ribulosa bisfosfato carboxilasa (RubisCO)** y la **fosforribuloquinasa**.

El primer paso para reducir CO₂ es la reacción catalizada por RubisCO donde se forman 2 moléculas de 3-fosfoglicerato (PGA) a partir de ribulosa bisfosfato y de CO₂. Después PGA es fosforilado y reducido a gliceraldehído-3-P. A partir de ahí, se puede formar glucosa por un camino inverso a la vía glucolítica.

Para lograr esto se deben incorporar 6 moléculas de CO₂ y 6 moléculas de ribulosa bisfosfato. Así se originan 12 PGA que sirven como esqueleto para formar 6 nuevas moléculas de ribulosa bisfosfato y una molécula de hexosa para la biosíntesis celular.

Una compleja serie de reorganizaciones con intermediarios C3, C4, C5 y C7 origina 6 moléculas de ribulosa-5-P, que generan finalmente 6 moléculas de ribulosa bisfosfato. El paso final es la fosforilación de la ribulosa-5-P con ATP por la enzima fosforribuloquinasa.

En un ciclo de Calvin se requieren 12 NADPH y 18 ATP para sintetizar 1 molécula de hexosa a partir de 6 CO₂. Las moléculas de hexosa pueden convertirse en polímeros de reserva como glucógeno, almidón, etc. para ser usados cuando sea necesario construir nuevo material celular.

Otra alternativa: INVERSA DEL CICLO DE KREBS (en diapositivas)