



INTRODUCCIÓN AO METABOLISMO

- 1. Xeneralidades
- 2. Bioenerxética
 - 2.1. Transferencia de enerxía
 - 2.2. Rendemento e balance enerxético
- 3. Cinética encimática
 - 3.1. A acción encimática
 - 3.2. Factores que afectan á actividade encimática
 - 3.3. Encimas alostéricas
- Repaso PAU

1. XENERALIDADES

O metabolismo é o conxunto de todas as reaccións químicas catalizadas por encimas que se producen no interior celular.

Funcións do metabolismo

- Obter enerxía química da contorna: a partir da luz solar ou da degradación de moléculas ricas en enerxía.
- Transformar as moléculas nutrientes en precursores das macromoléculas celulares.
- Sintetizar macromoléculas a partir dos precursores.
- Formar e degradar as biomoléculas necesarias para as funcións especializadas das células (hormonas, neurotransmisores, etc.)

O metabolismo celular consta de miles de reaccións químicas diferentes que forman unha rede moi complexa, ordenada e interconectada de vías ou rutas metabólicas. Unha ruta metabólica é unha secuencia de reaccións sucesivas que relacionan entre sí os substratos iniciais (metabolitos iniciais) cos produtos finais (metabolitos finais). Entre ambos, os produtos de transformación sucesivos denomínanse metabolitos intermedios. O conxunto de encimas que catalizan unha ruta metabólica forman un sistema multiencimático.

As reaccións químicas do metabolismo clasifícanse en dous grandes grupos:

- Catabolismo: conxunto de reaccións metabólicas polo que as moléculas orgánicas complexas (glúcidos, lípidos e proteínas), procedentes do medio externo ou das propias reservas, se degradan dando lugar a moléculas máis sinxelas (CO_2 , H_2O , etc.) e enerxía.

As reaccións catabólicas presentan as seguintes características:

- Son reaccións oxidativas, mediante as que as moléculas orgánicas se oxidan liberando electróns e protóns (H^+). Estes son captados por coenzimas no seu estado oxidado, que se reducen.
- Son reaccións exergónicas, nas que se libera enerxía, que maioritariamente se almacena en forma de ATP.
- Forman rutas metabólicas converxentes, xa que a partir de varias secuencias de reaccións químicas, que parten de substratos iniciais diversos, se obteñen uns poucos produtos finais, como CO_2 , piruvato, etc.

- Anabolismo: conxunto de reaccións metabólicas polas que se sintetizan moléculas máis complexas a partir doutras máis sinxelas. Para crear os novos enlaces químicos, requírese unha achega de enerxía. As reaccións anabólicas presentan as seguintes características:

- Son reaccións de redución, nas que as moléculas se reducen, captando os electróns e protóns (H^+) que ceden coenzimas reducidos.
- Son reaccións endergónicas que requiren unha achega de enerxía que procede, normalmente, da hidrólise do ATP.
- Forman rutas metabólicas diverxentes debido a que, a partir duns poucos reactivos, se pode obter unha gran variedade de produtos.

2. BIOENERXÉTICA

As reaccións metabólicas discorren seguindo os mesmos principios da termodinámica que calquera reacción química.

Para saber se unha reacción se produce ou non de forma espontánea, mídese a variación dunha magnitude termodinámica denominada enerxía libre de Gibbs (ΔG):

- Unha reacción química é espontánea cando se produce unha diminución da enerxía libre ($\Delta G < 0$) dos produtos respecto dos reactivos.
- Unha reacción química non é espontánea se se produce un incremento da enerxía libre ($\Delta G > 0$) dos produtos respecto aos reactivos.
- Unha reacción está en equilibrio se non hai variación na enerxía libre dos produtos e dos reactivos ($\Delta G = 0$).

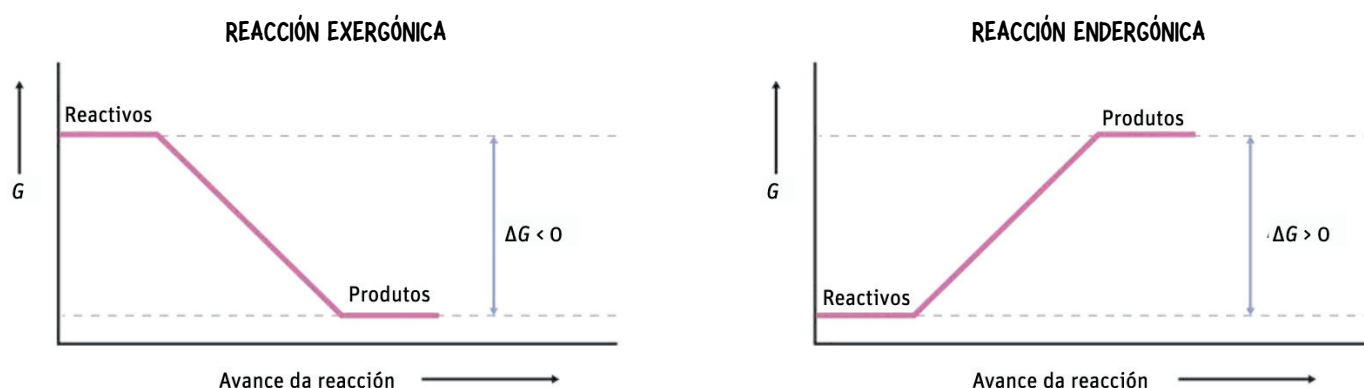


Figura 1. As reaccións exergónicas son espontáneas porque a enerxía libre de Gibbs dos produtos é menor cá dos reactivos. Porén, as reaccións endergónicas non o son porque a enerxía libre de Gibbs dos produtos é maior ca dos reactivos e, polo tanto, para que teñan lugar, precisan dun aporte externo de enerxía.

2.1. A TRANSFERENCIA DE ENERXÍA

A transferencia de enerxía na célula leva consigo un fluxo ou transferencia de electróns dunhas moléculas a outras. Posto que a enerxía, os electróns e os H^+ liberados nas reaccións exergónicas son necesarios para que transcorran as reaccións endergónicas, para transportalos requírense moléculas intermediarias.

REACCIÓN DE OXIDACIÓN-REDUCCIÓN (REDOX).

As reaccións redox son aquelas nas que unha substancia se oxida, mentres que simultaneamente outra se reduce.

- A substancia que se oxida chámase axente redutor ou dador de electróns, xa que reduce outra substancia, cedéndolle parte dos seus electróns e, en ocasións, tamén H^+ .
- A substancia que se reduce chámase axente oxidante ou aceptor de electróns, xa que oxida outra substancia, aceptando electróns e H^+ .

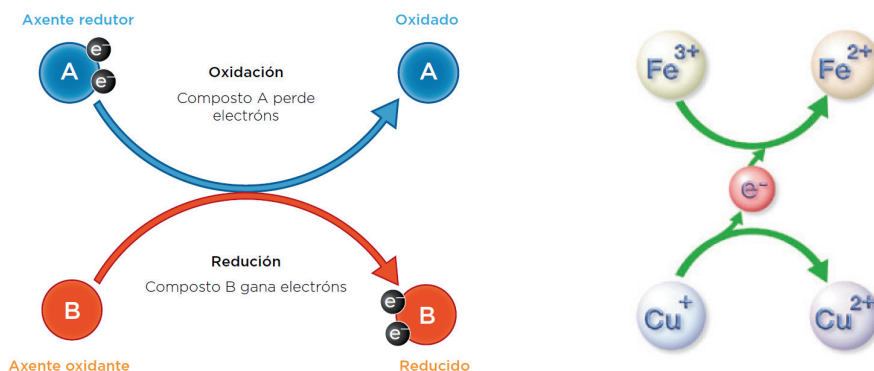


Figura 2. (esquerda) Esquema xeral dunha reacción de oxidación-reducción (Redox). O composto A oxídase porque cede os seus electróns ó composto B, que se reduce ó aceptalos. Polo tanto, o composto A é un axente oxidante, mentres que o composto B é un axente reductor. **(dereita)** Exemplo de reacción redox na que o ión férrico (Fe^{3+}) se reduce a ión ferroso (Fe^{2+}) ó aceptar os electróns que cede o ión Cobre máis 1, que se oxida a ión Cobre máis dous.

No catabolismo, as moléculas orgánicas oxídanse e os coenzimas redúcense. No anabolismo, os coenzimas oxídanse, reducindo outras moléculas.

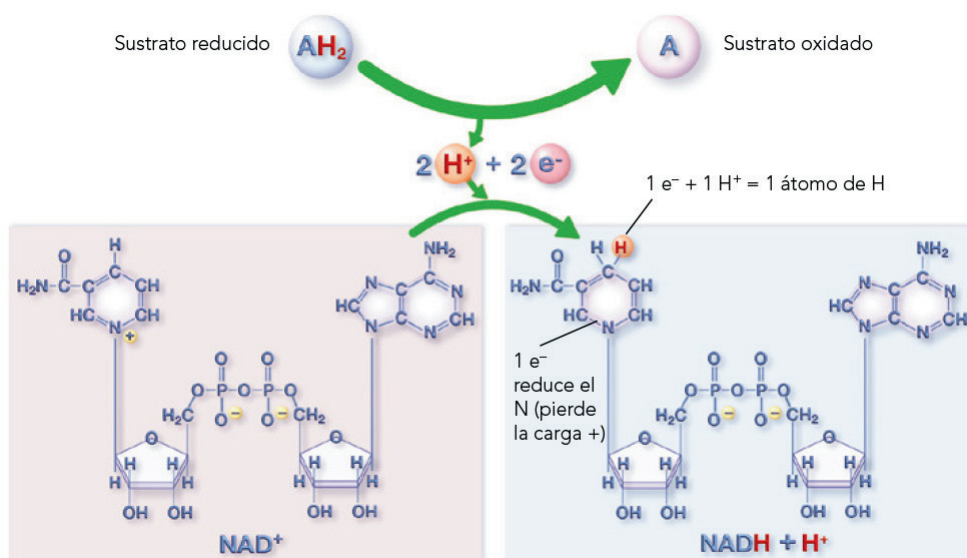


Figura 3. As coenzimas NAD^+/NADH actúan xunto a encimas deshidroxenases captando os electróns e os protóns cedidos polos substratos reducidos que se oxidan no catabolismo

INTERMEDIARIOS TRANSPORTADORES DE ENERXÍA

Son moléculas con enlaces ricos en enerxía (ATP, GTP, UTP, etc.). O ATP (adenosín-trifosfato) é a principal molécula transportadora de enerxía na célula.

A hidrólise do ATP orixina como produtos adenosín-difosfato (ADP), un grupo fosfato (Pi) e enerxía. A enerxía pódese utilizar para realizar traballo mecánico, para producir calor ou para a biosíntese de moléculas no anabolismo.

A síntese do ATP, pola contra, require do ADP, un grupo fosfato e enerxía, e pode realizarse mediante dous mecanismos:

- A fosforilación a nivel de substrato, que consiste en utilizar unha molécula fosforilada e rica en enerxía para transferir o fosfato e a enerxía ao ADP. Como resultado, sintetízase ATP e a molécula inicial queda defosforilada.
- A fosforilación adaptada ao transporte de electróns, que consiste en utilizar o transporte de electróns que se dá na cadea respiratoria (fosforilación oxidativa) ou a cadea fotosintética (fotofosforilación) para a síntese masiva de ATP. Estas reaccións redox consecutivas van liberando enerxía que utiliza o enzima ATP sintase, para obter ATP a partir de ADP e fosfato.

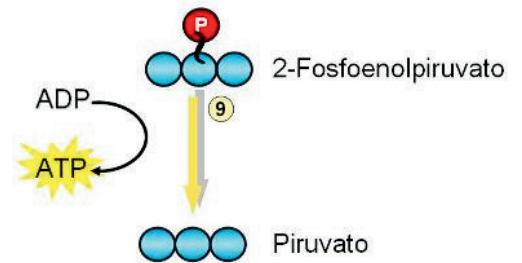


Figura 4. Fosforilación a nivel de substrato. O fosfoenolpiruvato é un ácido tricarboxílico unido a un grupo fosfato. Cando se transforma en piruvato, este grupo fosfato é transferido ó ADP para formar ATP

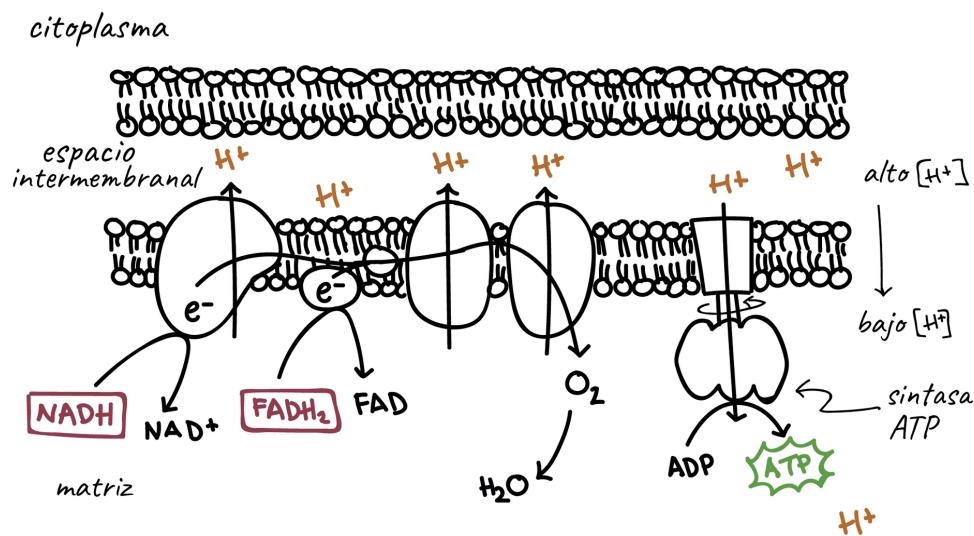


Figura 5. Fosforilación acoplada ó transporte electrónico. Durante o proceso de respiración celular, os electróns transportados polas coencimas reducidas son cedidos á cadea transportadora de electróns, formada por un conxunto de proteínas acopladas a pares REDOX. Os electróns van pasando duns a outros, ó tempo que van reducindo o seu potencial REDOX, proceso que libera enerxía. Esta enerxía aproveítase para xenerar un gradiente electroquímico que, en última instancia, se empregará para permitir o funcionamento dunha ATP-sintetase que cataliza a unión dun grupo fosfato e dunha molécula de ADP para formar ATP.

A enerxía que se desprende nunha reacción exergónica (catabolismo) pódese aproveitar para que se produzan outras reaccións endergónicas (anabolismo). Isto coñécese como acoplamento enerxético entre reaccións e nel intervén o ATP como 'moeda de cambio enerxético' das células.

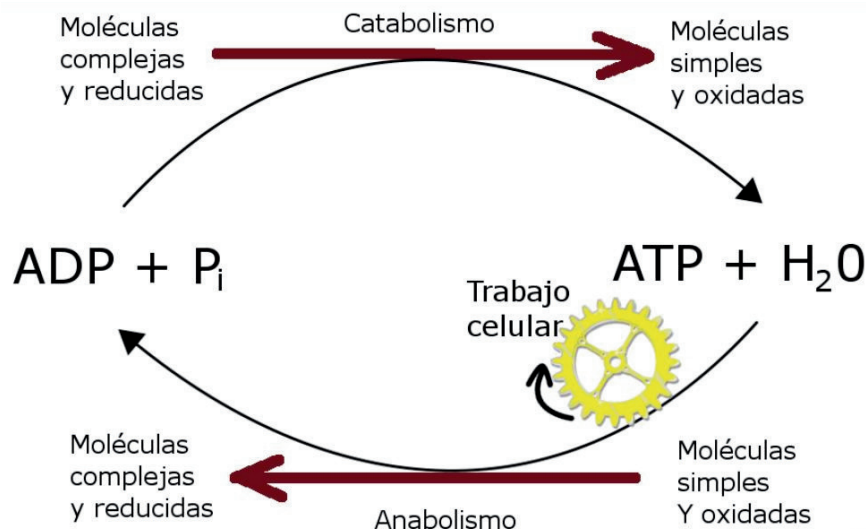


Figura 6. Acoplamiento enerxético entre as reacción exergónicas do catabolismo e as reaccións endergónicas do anabolismo. O ATP é o principal transportador de enerxía entre os distintos compartimentos nos que se producen estas reaccións.

TRANSPORTADORES DE ELECTRÓNS E PROTÓNS

Son os sistemas coencimáticos NAD⁺/NADH, NADPH/NADP⁺, FAD/FADH₂ e FMN/FMNH₂, que adoitan aparecer asociadas á apoencima das encimas. Tamén a coencima Q (ubiquinona) e os citocromos permiten o transporte de electróns nas chamadas cadeas transportadoras de electróns.

2.2. RENDEMENTO E BALANCE ENERXÉTICO

O balance enerxético é un parámetro que permite medir a cantidade de enerxía que se intercambia nun proceso metabólico e defínese como o número de moléculas con enlaces ricos en enerxía (normalmente ATP) que se produciron por cada molécula de metabolito oxidado. Se a ruta é estritamente anabólica, o balance será negativo; mentres que se é catabólica, será positivo.

Unha parte da enerxía que se produce nun proceso metabólico é transferida á contorna en forma de calor; o rendemento enerxético indica a porcentaxe de enerxía que se almacena con respecto á cantidade total que se desprende nun proceso catabólico.

2. CINÉTICA ENCIMÁTICA

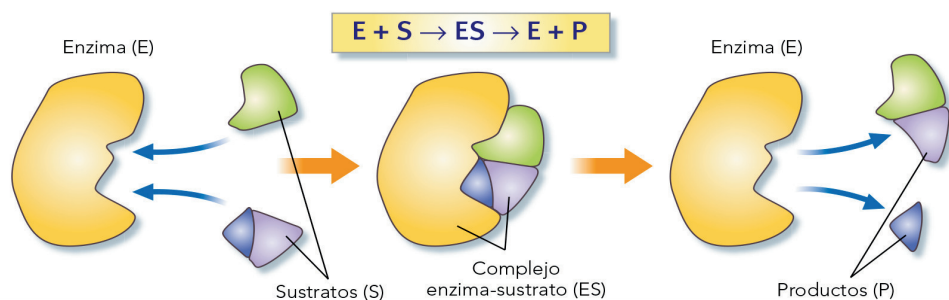
Todas as reaccións do metabolismo están catalizadas por encimas, moléculas orgánicas de orixe proteica que actúan diminuindo a enerxía de activación das reaccións químicas da célula.

3.1. A ACCIÓN ENCIMÁTICA

A acción encimática caracterízase pola formación dun complexo encima-substrato (ES), no cal a encima (E) actúa fixando o substrato (S) na súa superficie mediante enlaces débiles. Xéranse así tensións que debilitan os enlaces do substrato. Finalizada a transformación os produtos e a encima sepáranse, recuperándose a encima intacta.

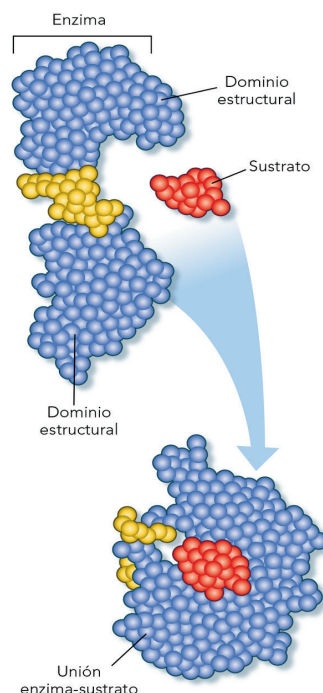
A unión entre a encima e o/os substrato/s explícase mediante dous modelos alternativos:

- Modelo chave-pechadura: as estruturas tridimensionais do centro activo da encima e do substrato son complementarias e encaixan mutuamente.



- Modelo de acoplamento inducido: a unión do substrato coa encima provoca un cambio conformacional nela de tal forma que esta se acopla ao substrato de forma envolvente.

Figura 7. Modelos de acción encimática. Arriba á esquerda: modelo chave pechadura. Dereita: modelo de acoplamento inducido.



3.2. FACTORES QUE AFECTAN Á ACTIVIDADE ENCIMÁTICA

INFLUENCIA DA CONCENTRACIÓN DE SUBSTRATO

Se facemos un estudo experimental no que relacionamos a velocidade dunha reacción encimática (estudando os moles de substrato que desaparecen por unidade de tempo) coa concentración de substrato presente, mantendo constante a concentración de encima, observaremos que a velocidade vai aumentando a medida que aumenta a concentración de substrato. Con todo, chega un momento no que se acada a velocidade máxima e, aínda que aumentemos a concentración de substrato, non se produce un aumento na velocidade. Isto corresponde a unha situación na cal todos os centros activos das encimas están ocupados por moléculas de substrato.

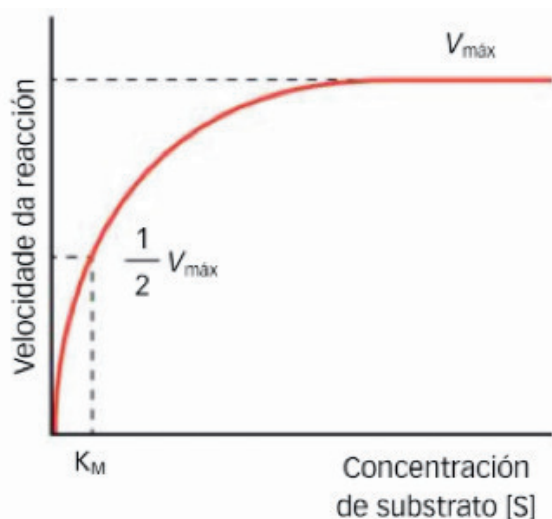


Figura 8. Gráfica de cinética encimática na que a velocidade de reacción aumenta conforme aumenta a concentración de substrato ata acadar a velocidade máxima. Cando a velocidade é a metade da máxima acadada nesa reacción, a concentración de substrato é K_m .

A partir deste comportamento encimático, Michaelis e Menten definiron unha constante, chamada a constante de Michaelis-Menten (K_m), que é a concentración de substrato á cal a velocidade da reacción é a metade da velocidade máxima.

Co valor de K_m e da velocidade máxima pódese achar a velocidade para calquera concentración de substrato, aplicando a ecuación de Michaelis-Menten:

$$V_0 = \frac{V_{\max}[S]}{K_m + [S]}$$

Onde:

V_0 é a velocidade da reacción a unha concentración de substrato específica.

$V_{\max}$ é a velocidade máxima.

$[S]$ representa a concentración de substrato.

K_m é a constante de Michaelis-Menten

K_m é característica de cada encima e reflicte a afinidade da encima polo seu substrato. Canto menor sexa o valor de K_m maior será a afinidade da encima polo seu substrato. É dicir, un valor de K_m baixo significa que se produce unha unión moi estreita entre a encima e o substrato, pois a concentracións de substrato baixas xa acadaremos a velocidade semimáxima.

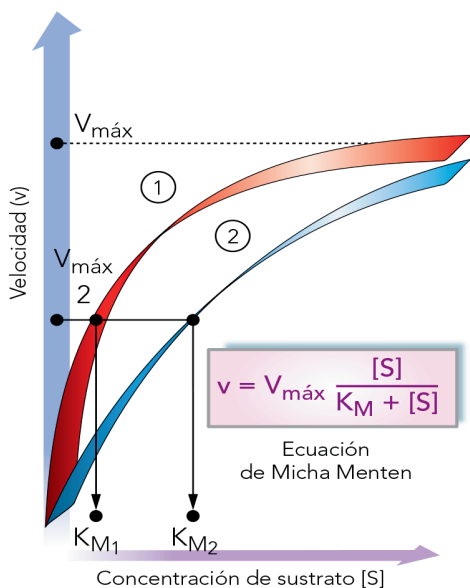


Figura 9. Gráfica de cinética encimática para dúas encimas (1 e 2) actuando sobre o mesmo substrato. As dúas reaccións acadan a velocidade máxima cando todos os centros activos están ocupados por substrato. Porén, na reacción coa encima 1 a metade da velocidade máxima acádase con menos concentración de substrato e, polo tanto, chegarase antes á velocidade máxima; isto é, a reacción 1 progresa máis rapidamente que a reacción 2 porque a encima 1 ten maior afinidade polo substrato que a encima 2, incrementándose así a eficiencia catalítica.

INFLUENCIA DA TEMPERATURA

Se a unha reacción encimática se lle dá calor, as moléculas aumentan a súa mobilidade e o número de encontros moleculares, polo que aumenta a velocidade na que se forma o produto. Con todo, se a temperatura é excesiva, a encima, que é de natureza proteica desnaturalízase. Por tanto, existe unha temperatura óptima para a cal a actividade encimática é máxima.

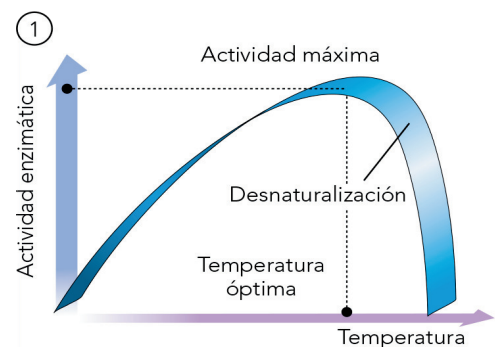


Figura 10. Influencia da temperatura na cinética encimática

INFLUENCIA DO pH

As encimas presentan dous valores límite de pH entre os cales son eficaces; traspasados estes valores, as encimas desnaturalízanse e deixan de actuar. Entre os dous límites existe un pH óptimo no que a encima presenta a súa máxima eficacia.

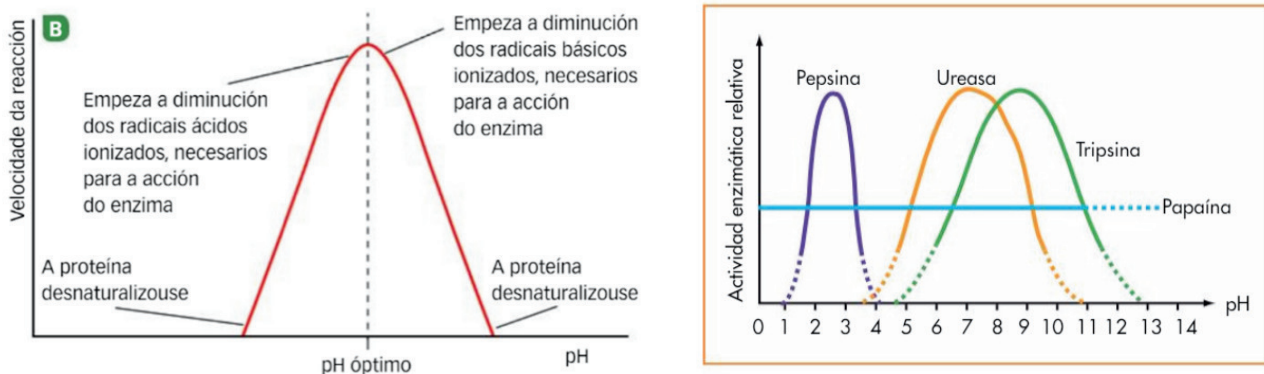


Figura 11. Influencia do pH na cinética encimática. Tanto o rango de pH ó que son funcionais as encimas como o pH óptimo de actividade, dependen do tipo de encima e do substrato. As encimas dixestivas que actúan no estómago, ou as que teñen actividade catalítica no interior dos lisosomas, por exemplo, teñen os seus pH óptimos en torno a 2-3, e atópanse normalmente inactivadas ó pH neutro do medio externo (fóra do estómago ou fóra do lisosoma). Isto debe ser así para que eviten que actúen hidrolizando biomoléculas orgánicas do propio organismo ou do interior celular.

PRESENCIA DE ACTIVADORES

As moléculas activadoras aumentan a velocidade da reacción encimática. O substrato funciona moitas veces como activador da reacción. Tamén algúns ións favorecen a unión entre a encima e o substrato, actuando como activadores das rutas metabólicas.

PRESENCIA DE INHIBIDORES

Os inhibidores son substancias que diminúen a actividade dunha encima ou ben impiden completamente a actuación da mesma.

A inhibición pode ser de varios tipos:

- Inhibición irreversible ou envelenamento da encima: os inhibidores ou venenos fíxanse permanentemente ao centro activo da encima, inutilizándoo.
- Inhibición reversible: os inhibidores impiden temporalmente o normal funcionamento do centro activo. Pode ser de 2 tipos:
 - Competitiva: o inhibidor compite co substrato polo centro activo, xa que é unha molécula parecida. A inhibición pode revertirse incrementando a concentración de substrato.
 - Non competitiva: o inhibidor non compite co substrato, xa que se une a un sitio diferente do centro activo, pero esencial para a encima porque ao unirse impide a actividade encimática. Ata que o inhibidor non se libere, o substrato non se pode axustar, xa que se altera a conformación do centro activo.
 - Acompetitiva: o inhibidor únese ó complexo encima substrato e impide a formación do produto.

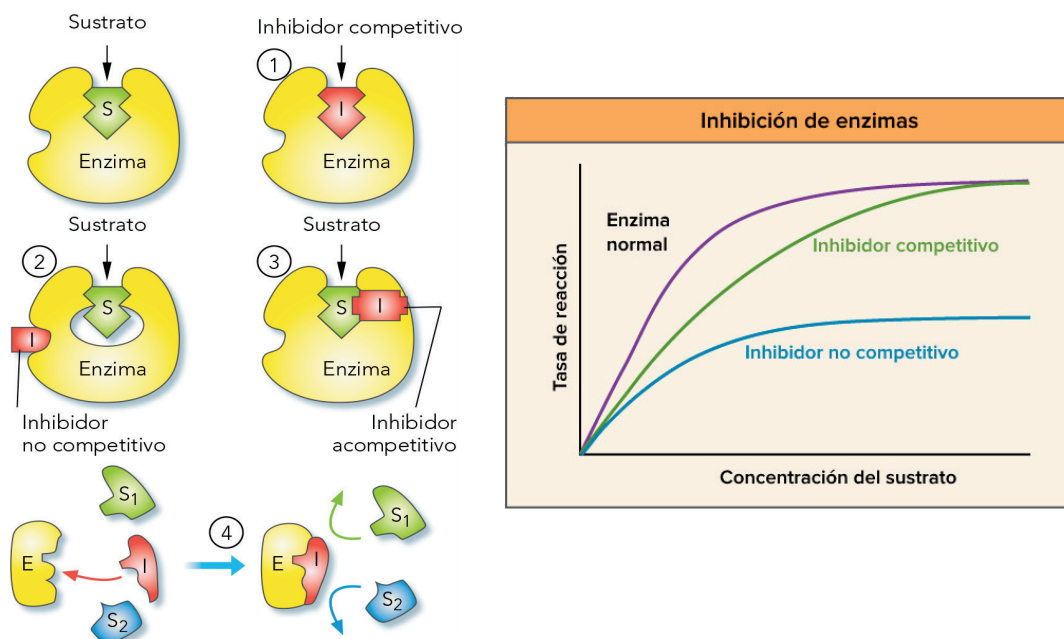


Figura 12. Inhibición da actividade catalítica. 1: Inhibición competitiva. O inhibidor é estruturalmente parecido ó substrato e únese ó centro activo da encima, reemplazándoo. Neste caso non se modifica a velocidade máxima da reacción, pero si a K_m xa que o substrato perde afinidade coa encima cando o inhibidor está presente (liña verde na gráfica). 2: Inhibición non competitiva. O inhibidor únese a unha rexión moduladora da encima, modificando a estrutura tridimensional do centro activo da encima e impedindo, deste xeito, a unión do substrato. Neste caso, a velocidade máxima da reacción vese diminuída pero mantense a K_m (liña azul na gráfica). 3: Inhibición acompetitiva. O inhibidor únese ó complexo encima-substrato, impedindo o progreso da reacción. Neste caso, diminúe a velocidade de reacción e increméntase a K_m , pero non a relación entre ámbolos dous parámetros respecto da reacción sen inhibidor. 4 Inhibición irreversible. O inhibidor únese ó centro activo da encima e produce modificacións permanentes que inactivan a súa actividade de forma definitiva.

3.3. ENCIMAS ALOSTÉRICAS

As encimas alostéricas posúen, ademais dun centro activo, un centro regulador ou alostérico ao que se pode unir unha substancia chamada ligando, efector ou modulador. O efector pode ser un inhibidor ou modulador negativo ou ben un activador ou modulador positivo. A unión do ligando ó centro alostérico provoca unha transformación entre a forma inactiva da encima e a súa forma funcionalmente activa, ou viceversa.

Nunha cadea de reaccións, os metabolitos intermedios adoitan actuar como moduladores positivos da seguinte encima que actúa no proceso, e o produto final pode ser un modulador negativo da encima que cataliza a primeira etapa. O resultado deste proceso é que se mantén a cantidade de produto dentro duns límites. Este tipo de regulación denomínase retroinhibición ou feed-back.

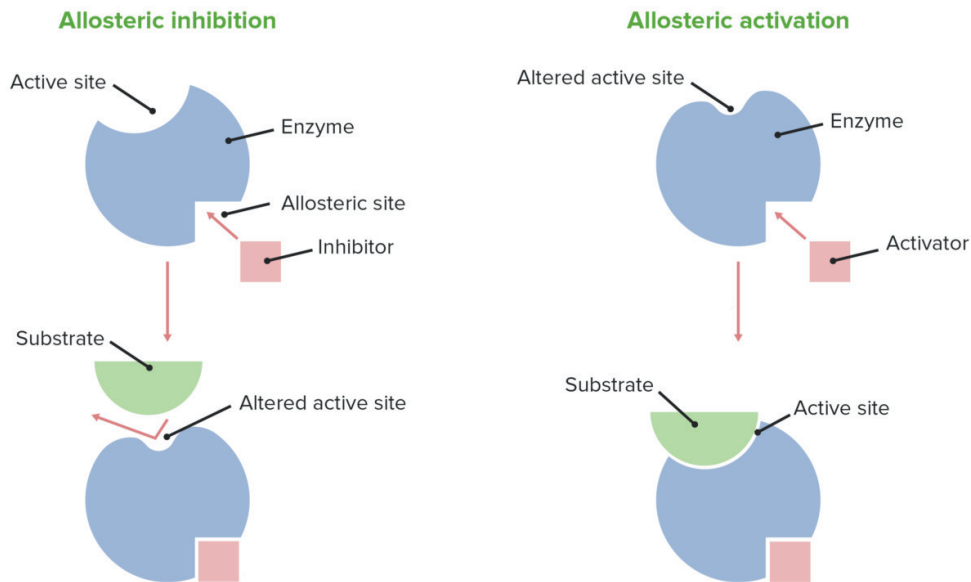


Figura 13. Funcionamento das encimas alostéricas. Na inhibición alostérica (esquerda), a encima atópase normalmente activa, pero inactívase cando un inhibidor se une ó sitio alostérico e produce unha modificación tridimensional do sitio activo (de forma similar ó que se explicou para a inhibición reversible non competitiva). No caso da activación alostérica (dereita), a encima atópase normalmente nun estado inactivo e é a unión dun activador ó sitio alostérico ó que provoca un cambio conformacional no sitio activo que permite a unión do substrato e, polo tanto, a activación da encima.

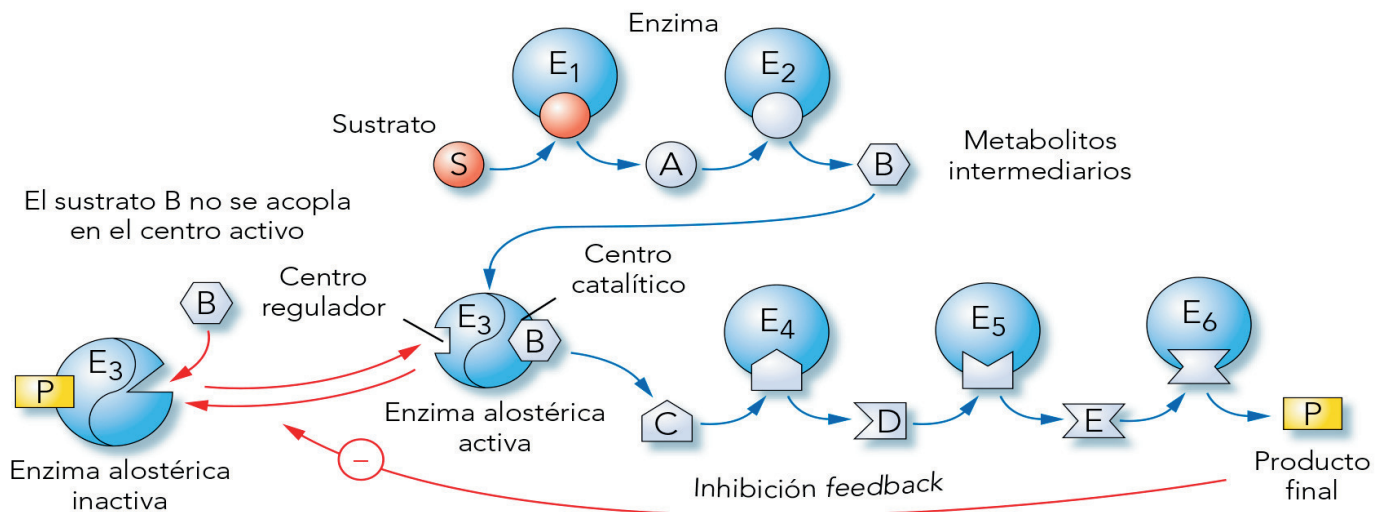


Figura 14. Retroalimentación en rutas metabólicas. O produto final da reacción actúa como inhibidor alostérico dunha das encimas da ruta (neste caso, da encima E3) inactivándoa cando hai moita cantidade desta substancia. Cando a concentración de produto diminúe na célula, o centro regulador queda libre e a encima actívese, permitindo a unión do substrato B. Este tipo de regulación por retroalimentación negativa suón un aforro enerxético para a célula, pois o exceso de produto final inhibe a súa propia síntese nunha etapa inicial.