Bioenergética

Diferencia fundamental entre una célula y el conjunto de moléculas que la componen es **su mayor organización con respecto al medio:**

Axioma

"los organismos vivos presentan un alto grado de orden, y cuando crecen y se dividen crean más orden a partir de materiales que están en un mayor grado de desorden"

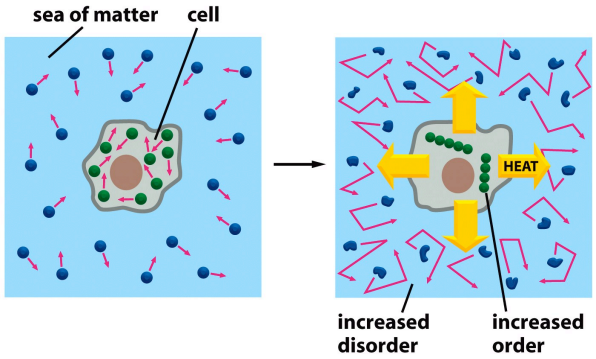
Principios de Termodinámica

- Principio Cero:
  - Si dos **sistemas** se encuentran en **equilibrio** con un tercero, entonces, están en equilibrio entre sí.
  - **Equilibrio**: intercambio energético mínimo, que no implica cambio de energía de cada sistema.
- Primera Ley:
  - "La Energía de un sistema aislado es constante"
  - Principio de Conservación de Energía: la energía puede cambiar de estado, pero no se crea o se destruye.
- Segunda Ley
  - "El calor no puede fluir desde una zona fría a una más caliente."
  - Decaimiento. A lo largo del tiempo, las energías de un sistema tienden a disiparse. La **Entropía** es la medida de cuanto ha progresado, aumentando a lo largo del tiempo y siendo máxima cuando el sistema llegue al equilibrio
- Tercera Ley (poco importante en biología)
  - En la medida que un sistema se aproxima al cero absoluto de energía, todos los procesos cesan.
  - Cero absoluto, donde toda actividad se detendría es −273.15 °C

Todos los organismos

Fotótrofos
La energía proviene de la luz

Quimiótrofos
La energía proviene de compuestos químicos



Células captan Energía de su entorno y la usan para generar Orden.

Parte de la energía usada se disipa como calor (Entalpía: H) y se libera al entorno.

Aumenta la Entropía (S) del universo.

CAMBIOS DE ENTROPÍA

A → B

S: entropía del estado

p: probabilidad del estado

El cambio de entropía $(S_B\text{-}S_A)$ α ln pB/pA

$\Delta S = R \ln p_B/p_A$

El cambio de entropía para convertir 1 mol de A a B es igual a la constante de los gases **R** (2 cal. $grad^{-1}$ mol^{-1}) multiplicado por el **logaritmo natural** de la razón de probabilidad del estado B dividido por la probabilidad del estado A.

Si el proceso es espontáneo, B/A > 1 y ΔS será positivo.

LA ORGANIZACIÓN CELULAR Y EL SEGUNDO PRINCIPIO DE LA TERMODINÁMICA.

El segundo principio de la termodinámica:

"los sistemas cambian espontáneamente de estados de baja probabilidad a estados de alta probabilidad".

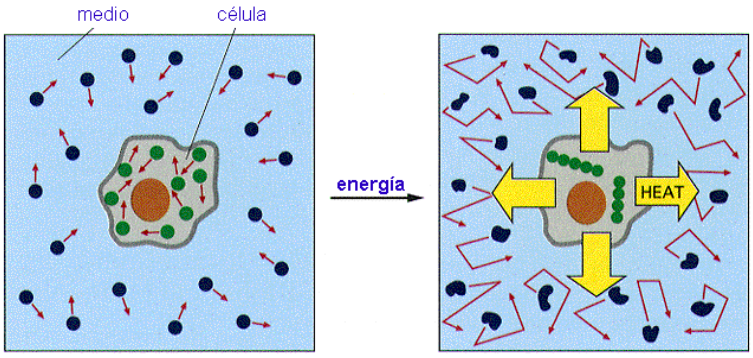
Ya que los estados de baja probabilidad son más ordenados, se establece que **"el universo cambia constantemente a un estado de desorden mayor (ΔS univ >0)"**.

¿Cómo cumple la organización celular este segundo principio?

El cambio de entropía $(S_B\text{-}S_A)$ α ln pB/pA

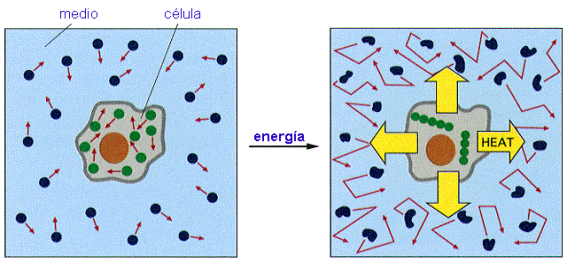
$\Delta S = R \ln p_B/p_A$

Sistema, medio, universo:



ΔS sistema + ΔS medio = ΔS universo (1er principio de la TD)

Las células para ordenarse utilizan energía. Parte de la energía utilizada se libera al medio en forma de calor.



El calor liberado induce un cambio de entropía en el medio determinado por la relación $\Delta S_{Medio} = h/T$

$$\Delta Suniverso = \Delta Ssistema + \Delta Smedio$$

ΔS sistema: negativo
ΔS medio: positivo

El cambio de entropía inducido en el medio es más grande que el cambio de entropía del sistema, por lo que

ΔS universo >0

Moléculas complejas: ADN, ARN,proteínas.

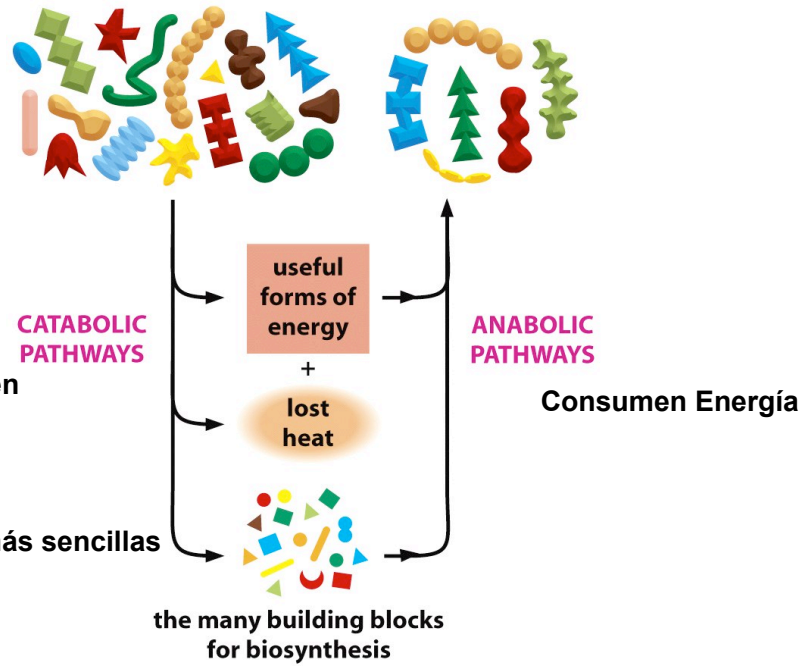


Figure 2-36 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

ENTALPÍA (H)

La célula entrega energía al medio en forma de calor (h) y de trabajo (PΔV).

La entalpía (H) es la función termodinámica que integra la energía calórica y el trabajo realizado por el sistema:

$$\Delta H_S = -h + P\Delta V$$

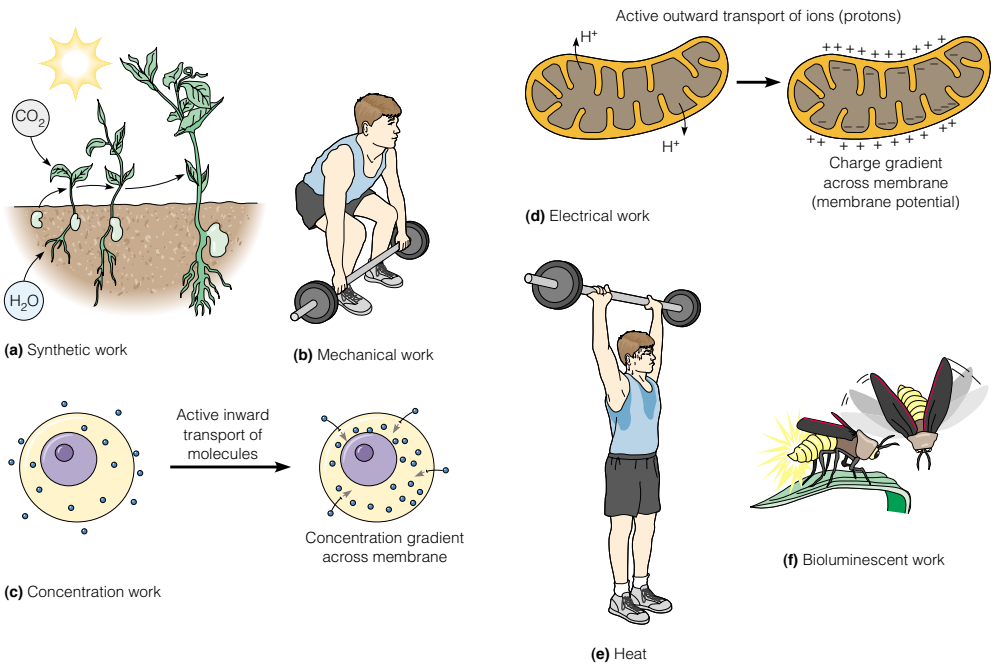
"el cambio de entalpía de un sistema es igual al calor transferido al medio más el trabajo realizado por el sistema"

En la mayoría de los sistemas biológicos PΔV es muy pequeño por lo que

$$\Delta H_{sistema} = -h$$

Un proceso que entrega calor al medio (ΔH_S negativo) es un proceso de tendencia espontánea porque el sistema llega a un estado energético más bajo y por lo tanto más estable.

Trabajo (PΔV)



A veces es difícil predecir si un proceso es o no posible, porque su probabilidad de ocurrencia depende tanto del cambio de entalpía como del cambio de entropía.

Por ejemplo, un sistema que entrega calor al medio ($\Delta H_{sistema}$ –), y disminuye su entropía ($\Delta S_{sistema}$ –).

Una relación muy utilizada para determinar la espontaneidad de un proceso biológico es la determinación de la *energia libre de Gibbs* o G.

ENERGIA LIBRE

La función combinada **G** relaciona los cambios de entropía y de entalpía <u>en el sistema</u>:

$G = H - TS$; o: $\Delta G_{sistema} = \Delta H_{sistema} - T\Delta S_{sistema}$ (a T ctte)

$\Delta S_{Medio} = h/T$

"el cambio de energía libre de un sistema es igual al cambio de entalpía de este sistema menos el cambio de entropía del sistema multiplicado por la temperatura absoluta".

Si no hay cambio de volumen, $\Delta H = -h$ (calor transferido), y

$$\Delta G = -h - T\Delta S$$

Como el 2do. principio de la termodinámica dice que ΔS del universo es siempre positivo se cumple que **una reacción ocurrirá en forma espontanea si ΔG es negativo**.

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

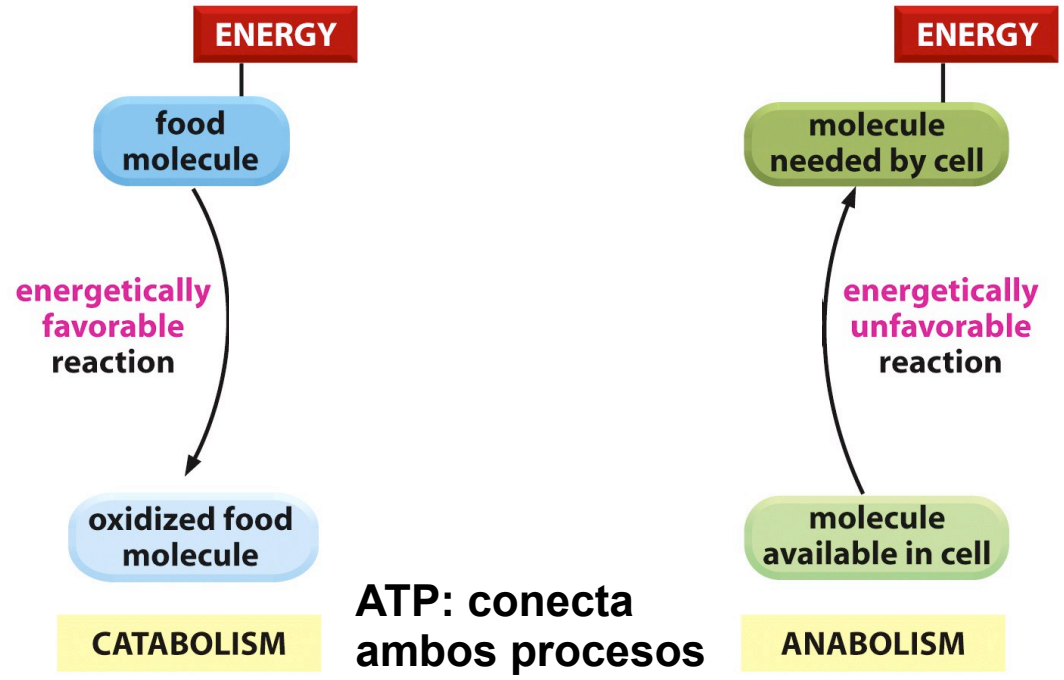
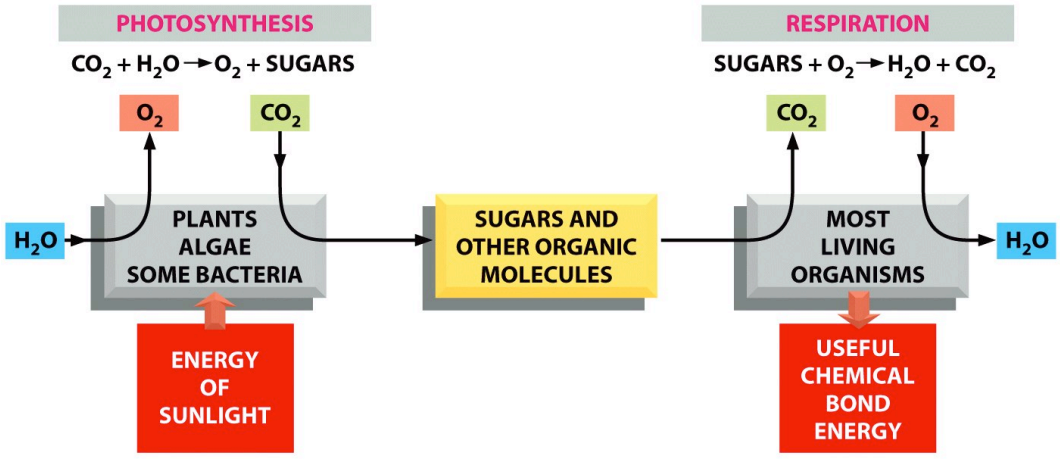


Figure 2-55 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

Fotosíntesis y Respiración como Procesos Complementarios.

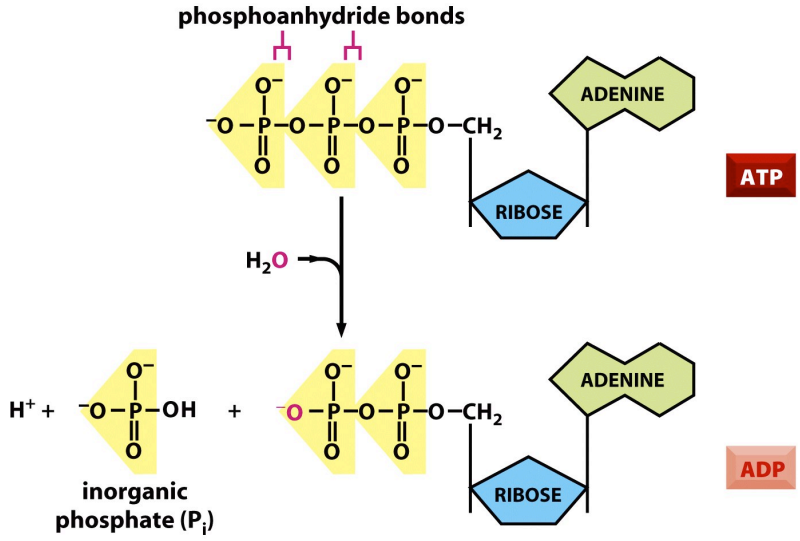


Energía que permite Trabajo Biológico:
Síntesis de macromoléculas, trabajo mecánico.

Figure 2-41 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

ATP

La ruptura de los enlaces fosfoanhídrido libera energía (reacción con un valor de energía libre negativo) ⟶ TRABAJO BIOLÓGICO



Moléculas de relevancia en el Metabolismo

Table 2–5 Some Activated Carrier Molecules Widely Used in Metabolism

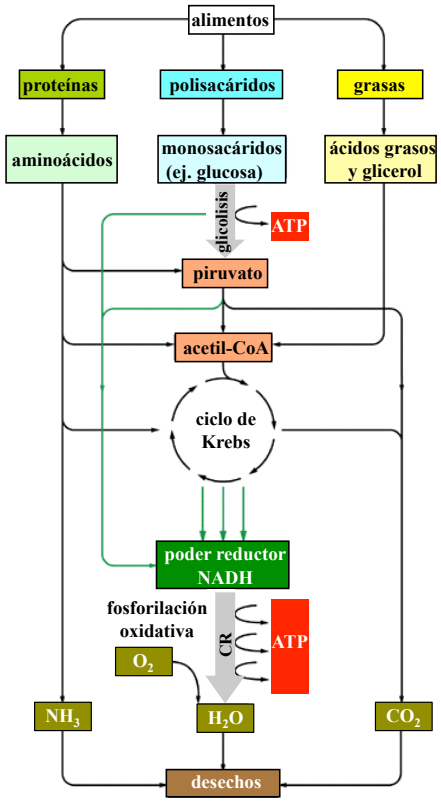
ACTIVATED CARRIER	GROUP CARRIED IN HIGH-ENERGY LINKAGE
ATP	phosphate
NADH, NADPH, $FADH_2$	electrons and hydrogens
Acetyl CoA	acetyl group
Carboxylated biotin	carboxyl group
S-Adenosylmethionine	methyl group
Uridine diphosphate glucose	glucose

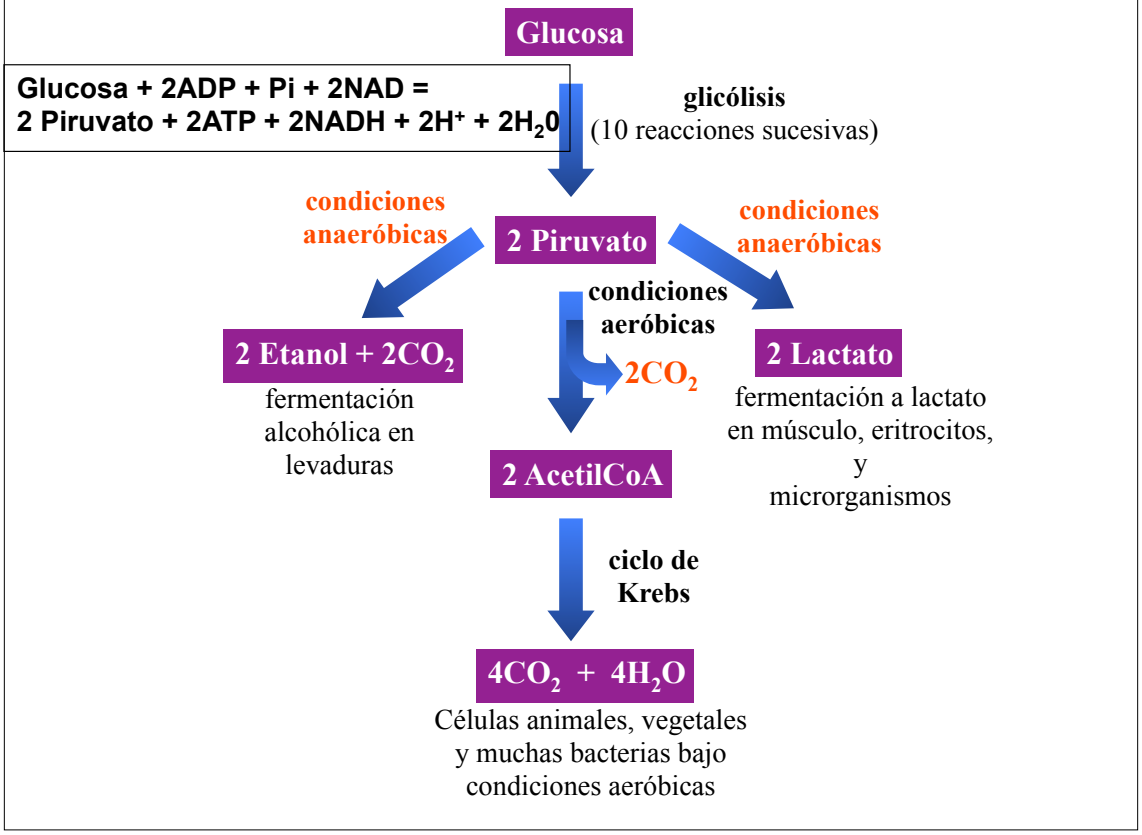
Table 2-5 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

Etapa 1: desdoblamiento de macromoléculas a subunidades simples

Etapa 2: desdoblamiento de las subunidades a acetil-CoA y producción de cantidades limitadas de ATP y NADH

Etapa 3: oxidación completa del acetil-Coa hasta CO_2 y H_2O con producción de grandes cantidades de ATP y NADH





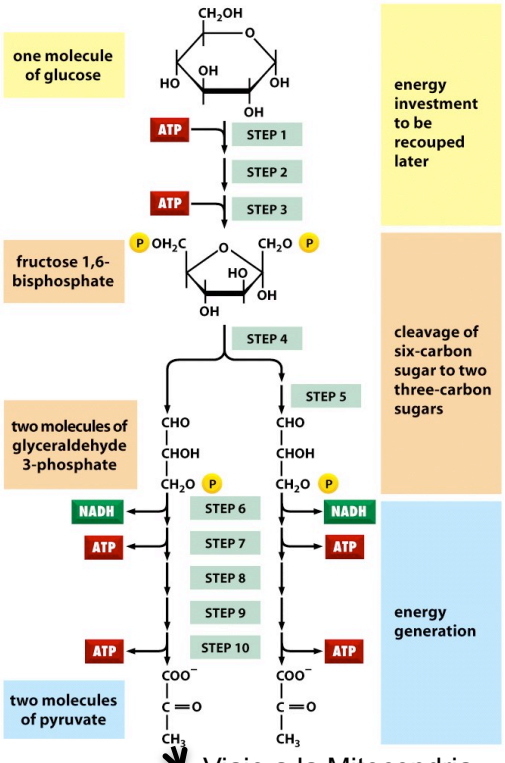
Glicólisis:

Ocurre en el Citosol de la célula

Recordar:

Sin Oxígeno-Fermentación

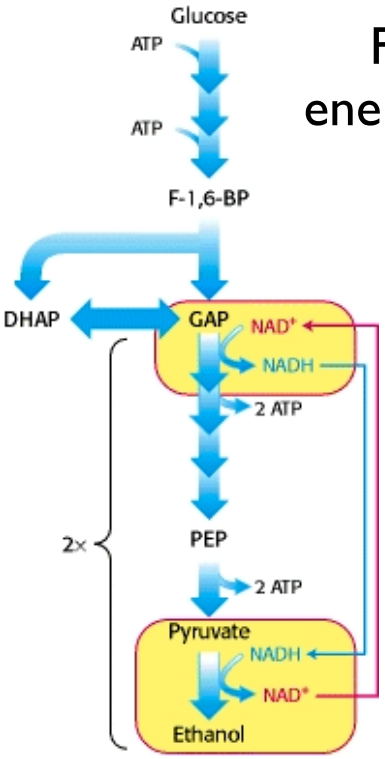
En presencia de oxígeno-respiración celular

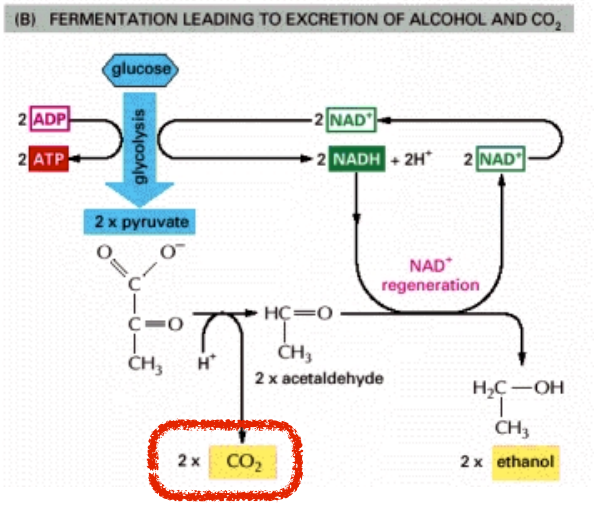


Viaje a la Mitocondria

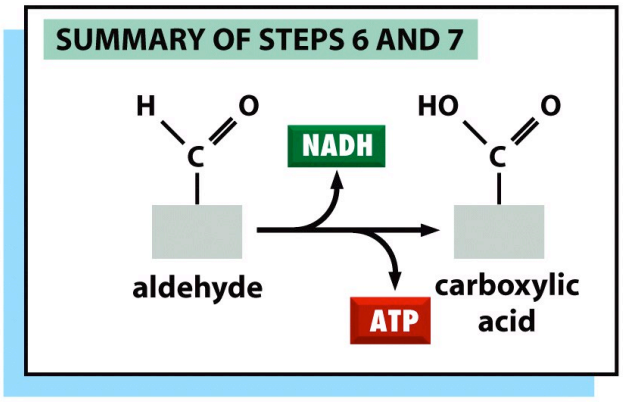
Figure 2-70 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

Fermentación, o, cómo sacar energía rápidamente de la glicólisis y no quedarse sin NAD+





Biochemestry, V ed. Berg et al. 2000



Much of the energy of oxidation has been stored in the activated carriers ATP and NADH.

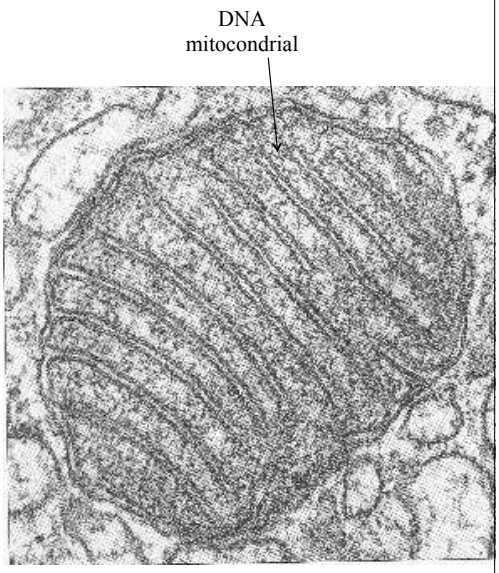
La oxidación de la Glucosa genera ATP y NADH

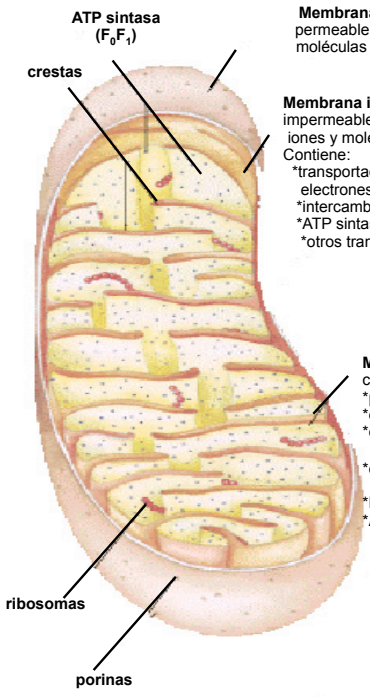
Glucosa + 2ADP + Pi + 2NAD =
2 Piruvato + 2ATP + 2NADH + $2H^+$ + $2H_20$

Figure 2-72b *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

MITOCONDRIAS

0,2 A 10 um de diámetro
1 a 4 um de longitud

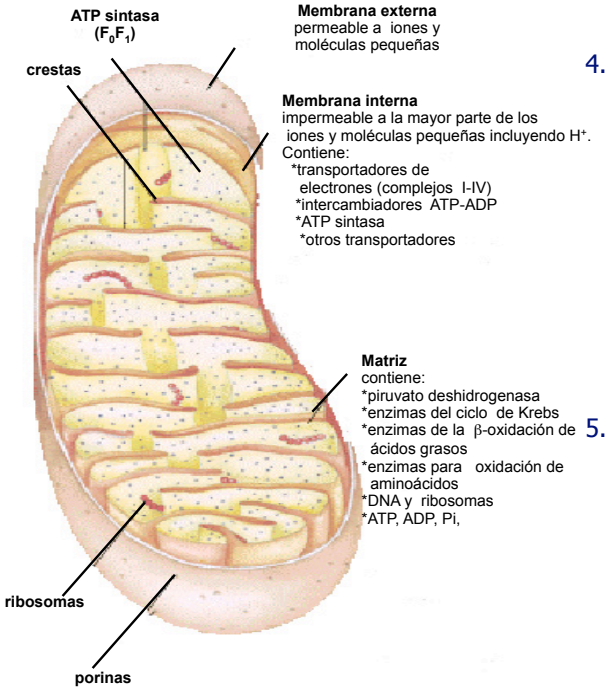




Las Mitocondrias: Resumen

1. Son **organelos característicos de las células eucarióticas**, resultado de un evento **endosimbiótico.**
2. En ellas se produce una serie de **reacciones de óxido-reducción** cuya energía libre es utilizada para la síntesis de **ATP**.
3. En las células aeróbicas, el **piruvato** formado en la glicólisis (anaeróbica) es transportado a la mitocondria donde es **oxidado a CO_2.**

http://www.dnalc.org/media/a/closer_look.swf



4. Estas reacciones de oxido-reducción permiten generar una diferencia en la concentración de **protones** entre el interior y el exterior de la **membrana interna** de las mitocondrias. El **transporte de los protones a favor de su gradiente de concentración** ($\Delta G << 0$) permite acoplar **fosfato** a **ADP,** generando el grueso del **ATP** producido por la conversión de glucosa a CO_2.

5. Si las mitocondrias son dañadas desencadenan procesos de **Muerte Celular:**
   - Producción de Radicales Libres
   - Liberación de Citocromo C (señal apoptótica)

http://www.dnalc.org/media/a/closer_look.swf

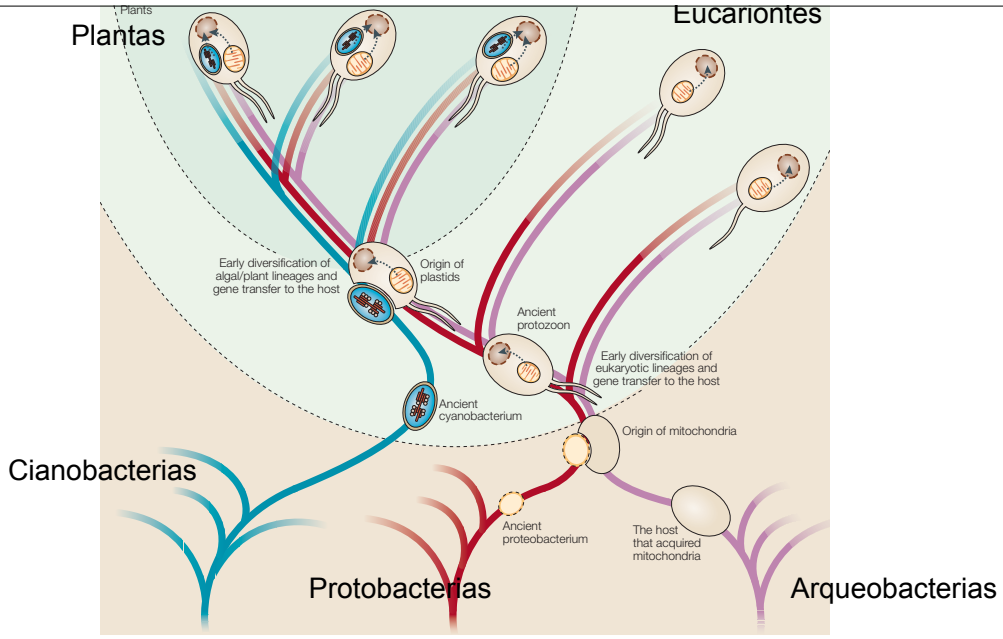
Origen de las Mitocondrias

Carácterísticas probables de los protoeucariontes

1. Células Depredadoras:
   - Sin pared celular, por lo tanto, capaces de fagocitar.
   - Gran Tamaño,
   - Citoesqueleto
   - Núcleo protegido (de las presas y de las enzimas digestivas).

Carácterísticas probables de las protomitocondrias

1. ¿Parásitos intracelulares? Poco probable debido a su eficiente metabolismo.
2. Cadena transportadora de H+ en la membrana. Probablemente asociada ya a la generación de energía, pero desarrollada inicialmente para…
3. Sin núcleo definido.



Endosimbiontes Intracelulares que derivaron de procariotes de vida libre han dado origen a dos organelos citoplasmáticos:

Las Mitocondrias se originaron a partir de una α-proteobacteria, mientras que los cloroplastos derivan de las cianobacterias. Ambos organelos han transferido un número sustancial de genes a sus hospederos. Las características del hospedero de las mitocondrias son controversiales, se sabe que estuvo relacionado con las ARCHAEBACTERIA, pero se desconoce su organización intracelular (procarionte, eucarionte o intermedio) y sus genética

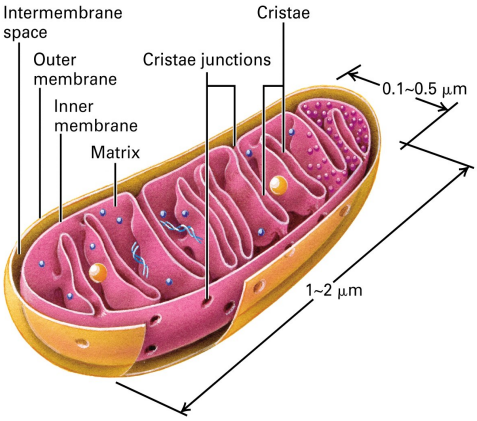
Timmis et al, 2004, Nature Reviews Genetics. 123-135

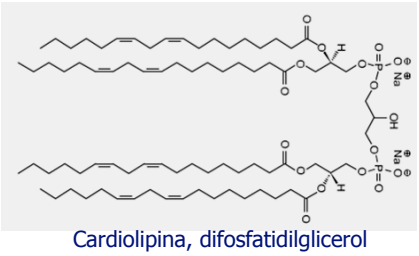
Organización morfo-funcional II

Membrana externa: contiene proteínas integrales: enzimas (i.e. monoamino oxidasa y **canales acuosos débilmente selectivos a aniones (VDACs)** y permeables a moléculas con PMs hasta 4 o 5 KDa.

Membrana interna: Plegada formando las **crestas mitocondriales**. Contiene: lípidos 30% (PC, PE, **cardiolipina**) y proteínas integrales (70%): **complejo multienzimático de la cadena respiratoria, ATPasa F_0F_1** o ATP sintetasa, transportadores y canales iónicos

Matriz mitocondrial: contiene enzimas, que participan en la **oxidación de piruvato y ácidos grasos** y las del **ciclo del ácido cítrico**. Además, DNA mitocondrial, ribosomas, tRNA y enzimas para la expresión de los genes mitocondriales.



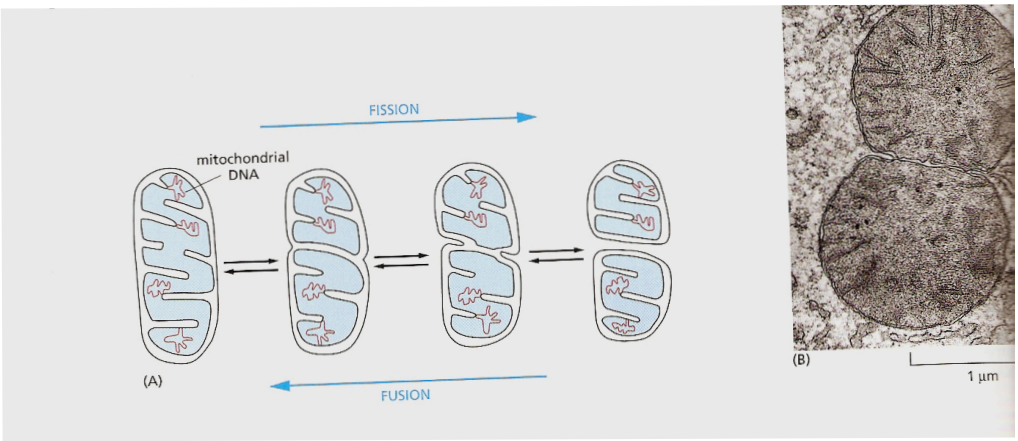


Cardiolipina, difosfatidilglicerol

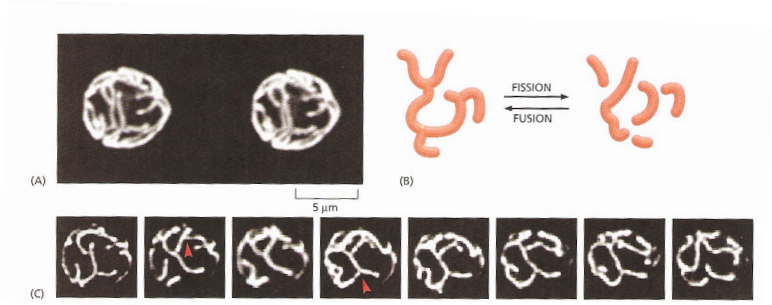
Las mitocondrias son organelos móviles y activos

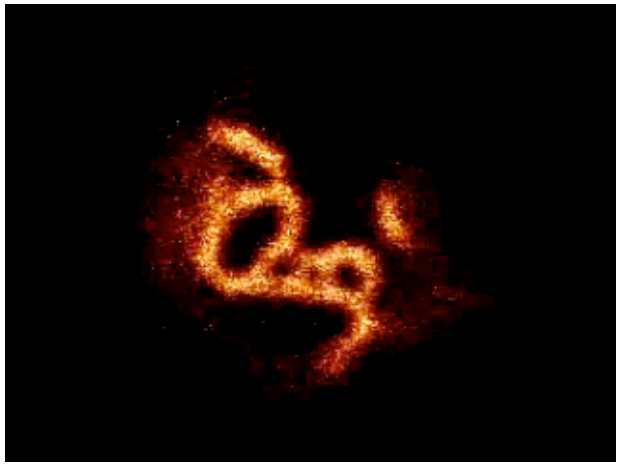
Movimiento: Las mitocondrias no son organelos sésiles. Están asociados al citoesqueleto y responden a estímulos.

División: ¿qué forma tiene una mitocondria? Estamos acostumbrados a una visión estática, sin embargo, las mitocondrias forman retículos mitocondirales o se dividen en múltiples organelos.

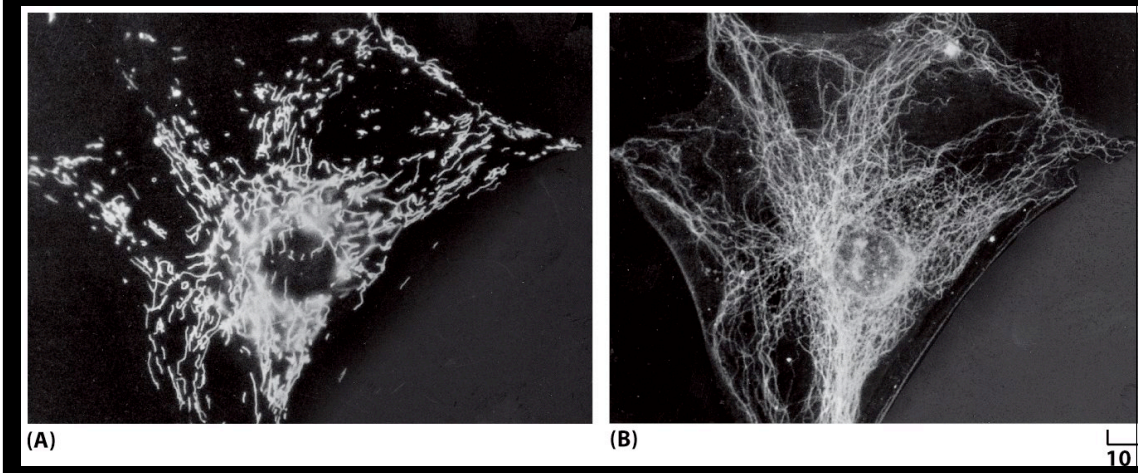


Imágenes de Alberts et al.
MBC, 2008

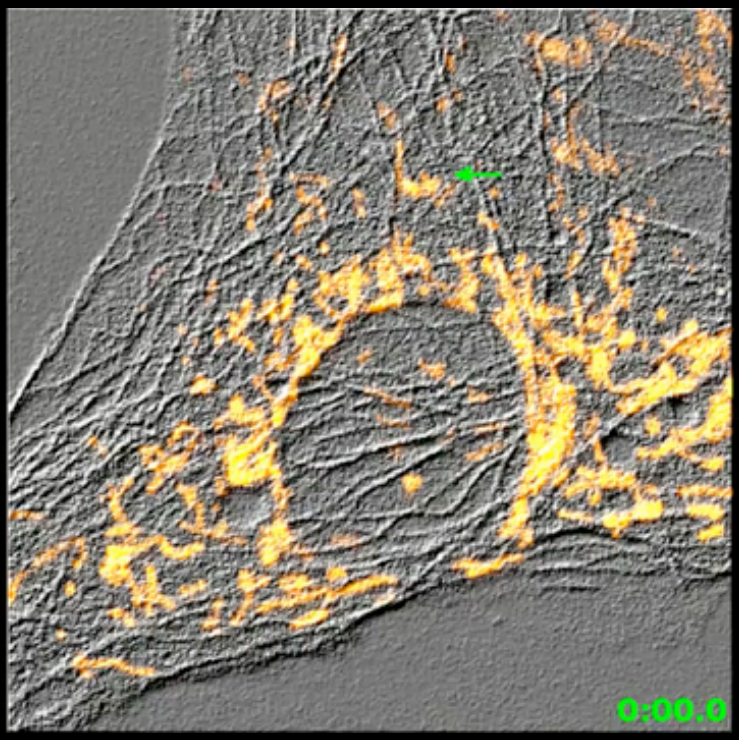


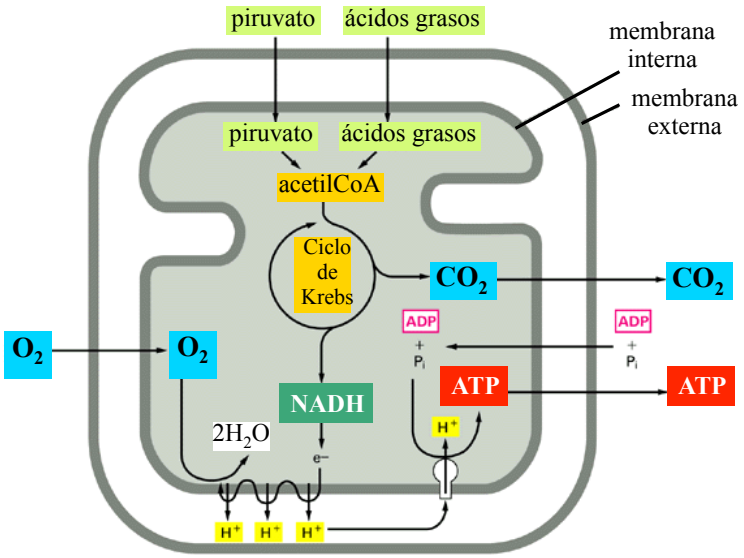


péptido señal de translocación a mitocondrías+GFP. Expresado en levaduras. Microscopía Confocal



Mitocondrias en movimiento por sobre citoesqueleto de microtúbulos. Células H9c2 expresan tubulinaGFP, con las mitocondrias marcadas con mitoDsRed.
Yi et al, 2004. JCB, Volume 167, Number 4, 661-672

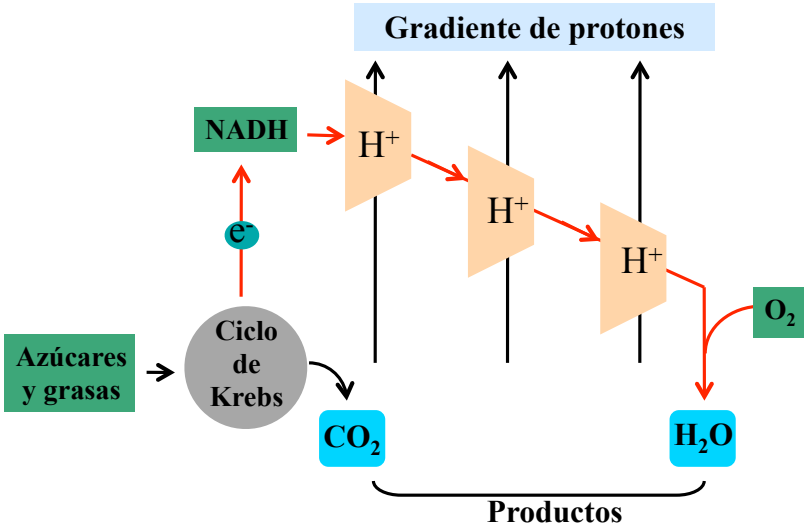




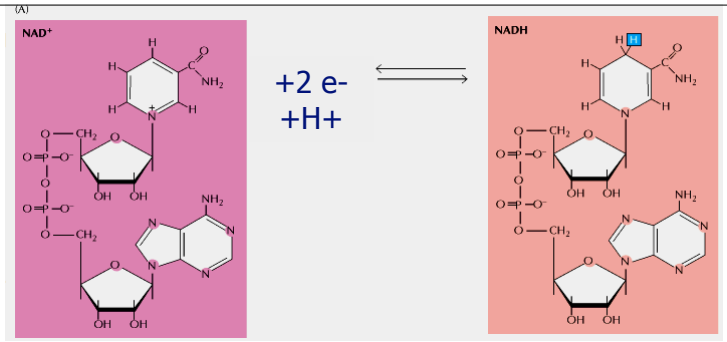
Ciclo de Krebs: Sustratos y Productos

Acetil-CoA + $2H_2O$ + 2FAD + 3NAD + +GDP + Pi = $2CO_2$ + $2FADH_2$+ 3NADH + $3H^+$+GTP

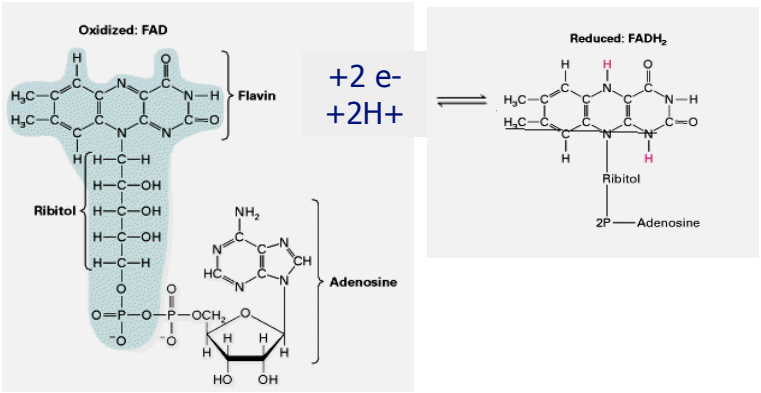
MITOCONDRIA



Vías metabólicas que ocurren en la mitocondria: Ciclo de Krebs y Fosforilación Oxidativa

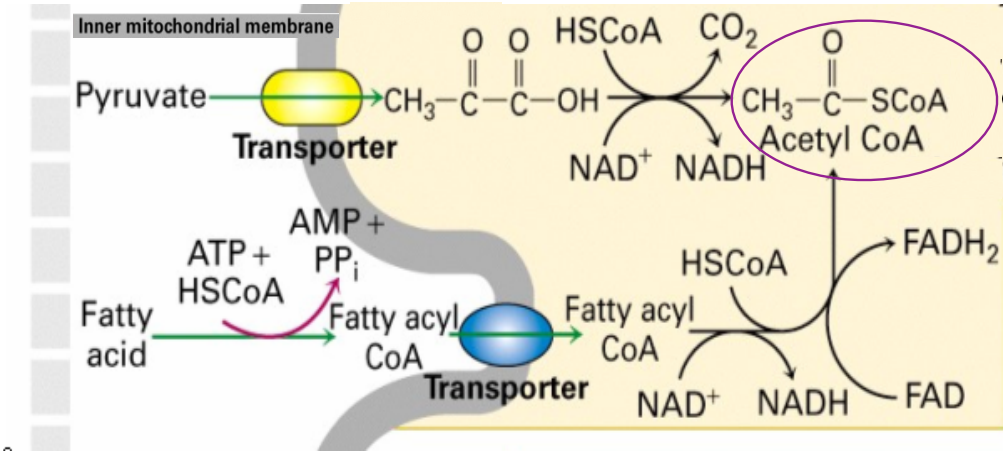


EN RESUMEN:
Para entender la fosforilación oxidativa SIGAN LOS ELECTRONES



Estructuras del NAD y del FAD en sus formas oxidadas y reducidas

Transporte de sustratos al interior de la mitocondria: piruvato y Acil-CoA-de-AcGrasos

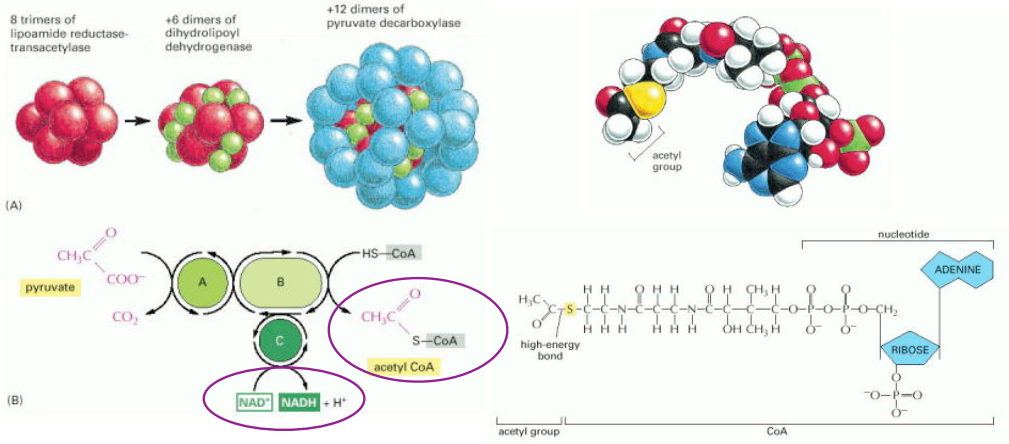


Activación: de piruvato a Acetil-CoA,

Las mitocondrias pueden usar piruvato (CH_3-CO-COO^-) o ácidos grasos como combustible, para formar la importante molécula portadora activada: acetil CoA.

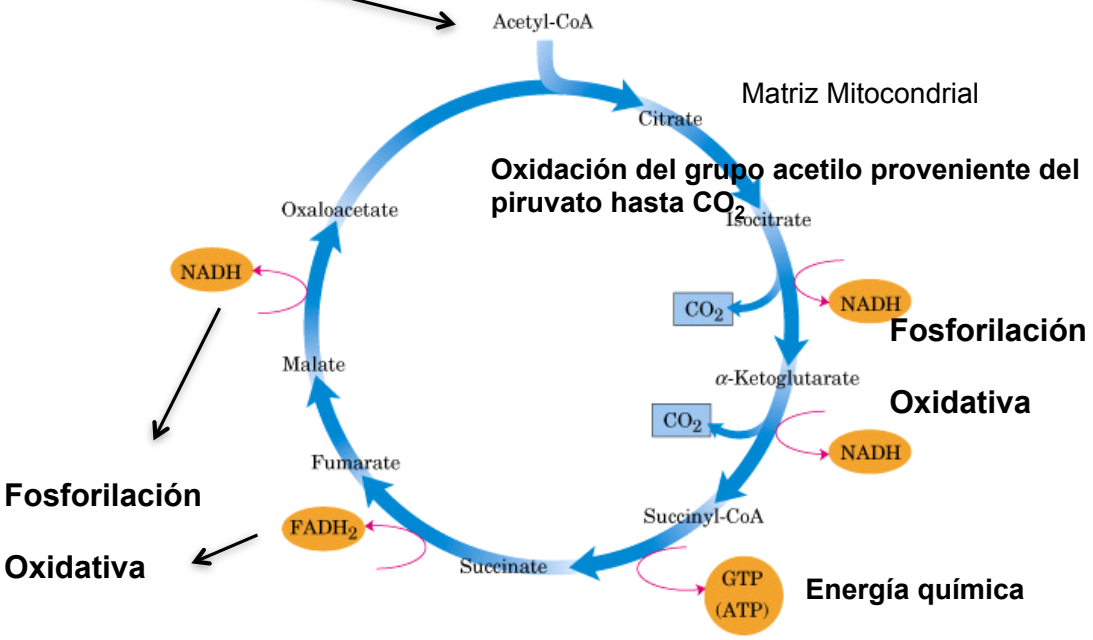
El piruvato generado durante la glicólisis es transportado a través de las membranas mitocondriales a la matriz. Allí reacciona con la coenzima A para formar acetil CoA, NADH y CO_2 en una reacción catalizada por el complejo piruvato deshidrogenasa.

complejo piruvato deshidrogenasa



Ciclo de Krebs
(ciclo de los ácidos tricarboxílicos)
(ciclo del ácido cítrico)

Piruvato



Matriz Mitocondrial

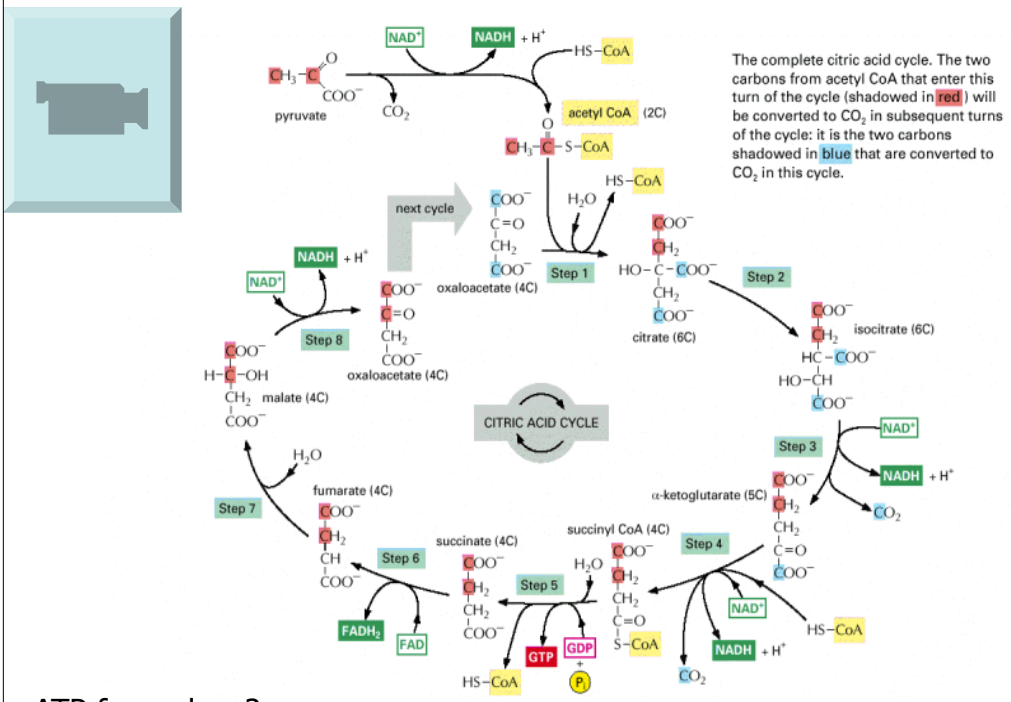
Oxidación del grupo acetilo proveniente del piruvato hasta CO_2

Fosforilación Oxidativa

Fosforilación Oxidativa

Energía química

Ciclo del ácido cítrico



ATP formado =?

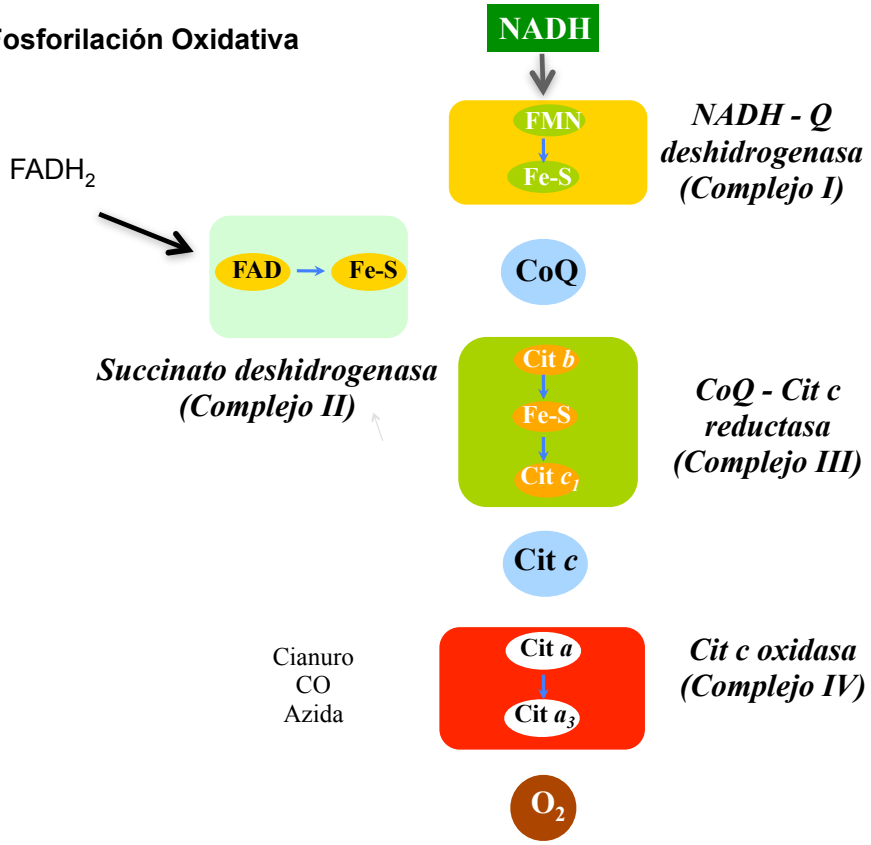
Fosforilación Oxidativa = Síntesis de ATP manejada por la transferencia de electrones hasta el Oxígeno y la formación en paralelo de un gradiente de H+.

Fotosíntesis = Síntesis de ATP manejada por la luz solar.

→ Explican la mayor parte del ATP producido por los organismos aerobios.

→ La degradación de carbohidratos, ácidos grasos y aminoácidos convergen en esta etapa.

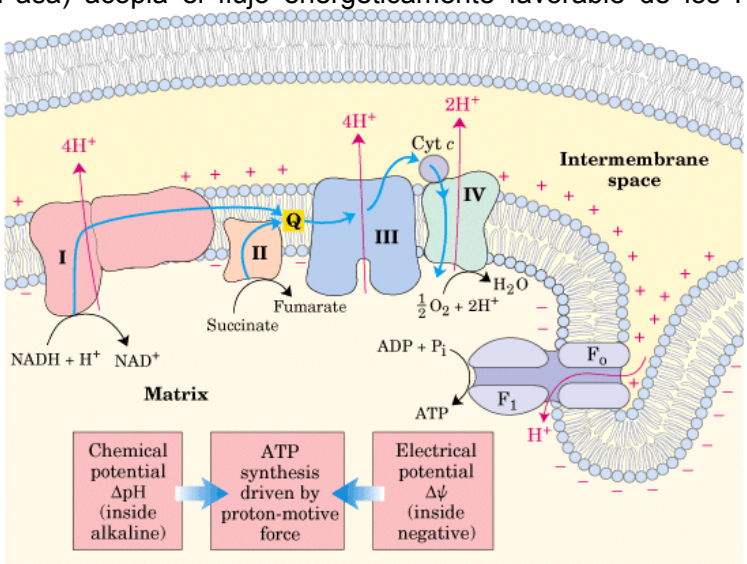
Fosforilación Oxidativa



FOSFORILACIÓN OXIDATIVA

La energía derivada del transporte de electrones se acopla a la formación de un gradiente de protones.

El complejo V (ATPasa) acopla el flujo energéticamente favorable de los H^+ a la síntesis de ATP.



NADH = 3 moléculas de ATP
$FADH_2$ = casi 2 moléculas de ATP

El ATP producido se usa para realizar Trabajo Biológico.

Acoplamiento quimiosmótico

La hipotesis quimiosmótica, propuesta por Peter Mitchell en 1961, consistía de cuatro postulados. En términos de las funciones de la mitocondria eran los siguientes:

1.- La cadena respiratoria mitocondrial es ***translocadora de protones***. La cadena bombea protones fuera de la matriz cuando se transportan electrones a lo largo de ella.

2.- El complejo ATP sintasa ***también transloca protones*** a través de la membrana interna. Debido a su actividad reversible puede usar la energía de la hidrólisis del ATP para bombear protones a través de la membrana, pero si existe una gradiente electroquímica de protones suficientemente grande, los protones fluyen en dirección inversa a través del complejo y permiten la síntesis de ATP.

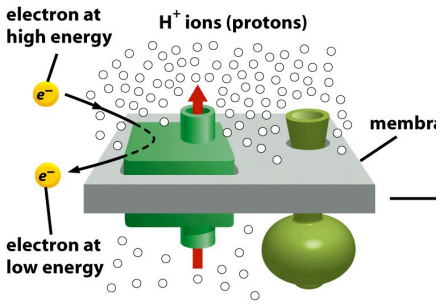
3.- La membrana mitocondrial interna es **impermeable** a H^+, OH^- y en general a cationes y aniones.

4.- En la membrana mitocondrial interna existe un conjunto de **proteínas transportadoras** encargadas de la entrada y la salida de metabolitos y de ciertos iones orgánicos.

Fosforilación oxidativa

La fosforilación oxidativa es el proceso en cual se forma ATP como resultado de la transferencia de electrones desde el NADH o $FADH_2$ al O_2 por medio de una serie de transportadores de electrones en la membrana interna mitocondrial.

Las reacciones de la vía glicolítica y del ciclo de Krebs producen la conversión de 1 molécula de glucosa en 6 de CO_2 y la reducción de 10 NAD^+ a 10 NADH y 2 FAD a 2 $FADH_2$.



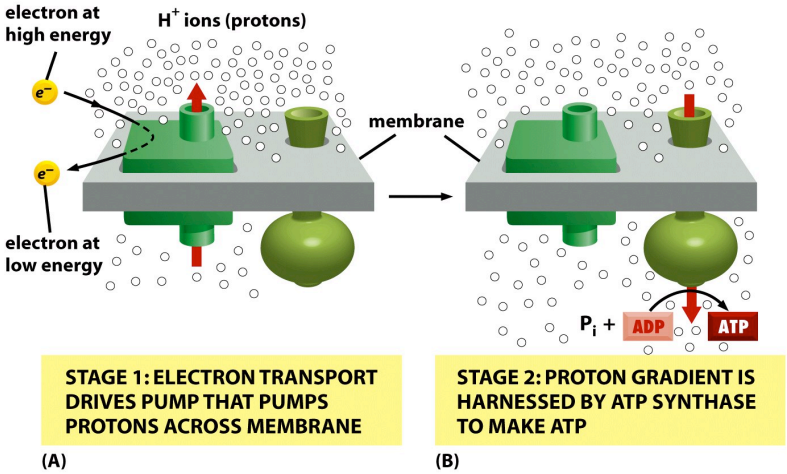
STAGE 1: ELECTRON TRANSPORT DRIVES PUMP THAT PUMPS PROTONS ACROSS MEMBRANE

(A)

Fosforilación oxidativa

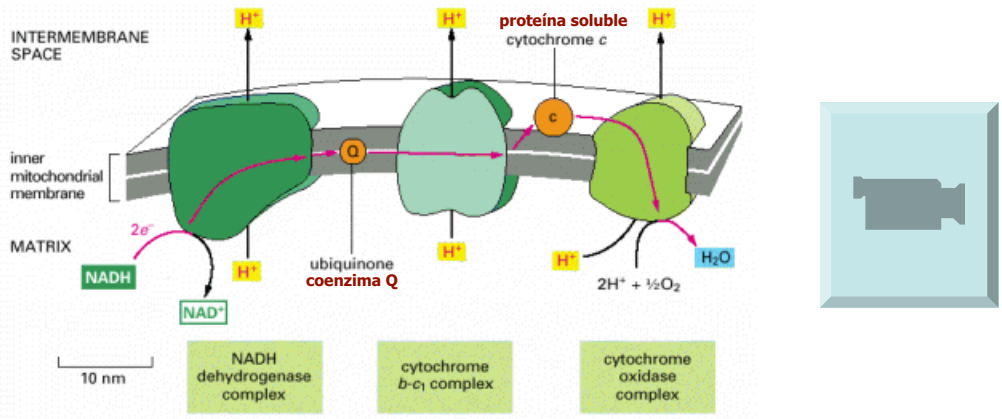
La fosforilación oxidativa es el proceso en cual se forma ATP como resultado de la transferencia de electrones desde el NADH o $FADH_2$ al O_2 por medio de una serie de transportadores de electrones en la membrana interna mitocondrial.

Las reacciones de la vía glicolítica y del ciclo de Krebs producen la conversión de 1 molécula de glucosa en 6 de CO_2 y la reducción de 10 NAD^+ a 10 NADH y 2 FAD a 2 $FADH_2$.



Fosforilación oxidativa

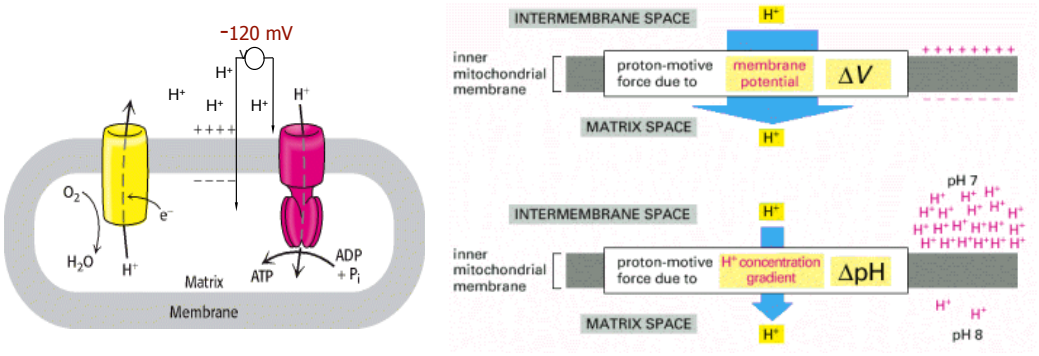
El NADH y el $FADH_2$ transfieren electrones a la cadena respiratoria ubicada en la membrana interna mitocondrial (MIM) constituida por tres grandes complejos enzimáticos:
el complejo I NADH deshidrogenasa (NADH-CoQ reductasa, 880 kD) , el complejo III citocromo b-c1 (CoQ-citocromo c reductasa) y el complejo IV citocromo c oxidasa.



Síntesis quimiosmótica de ATP

La síntesis de ATP se realiza utilizando la energía almacenada en forma de gradiente electroquímico de protones a través de la membrana interna, vía la ATPasa F_0F_1.

Este mecanismo, de un acoplamiento quimiosmótico fue propuesto por Peter Mitchell en 1961, hipótesis que no fue aceptada al comienzo pero después fue comprobada experimentalmente. P. Mitchell recibió por ello el premio Nobel en 1978.



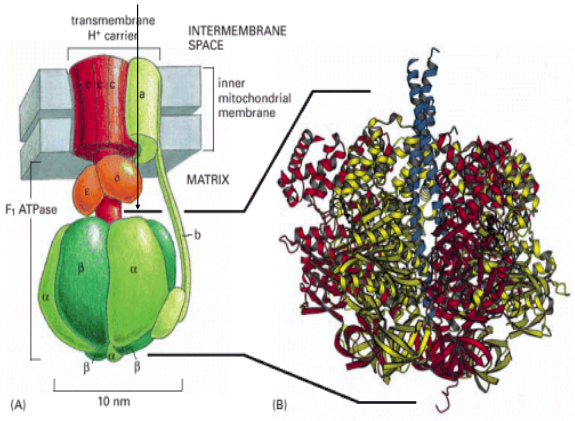
Los 2 componentes del gradiente electroquímico de protones

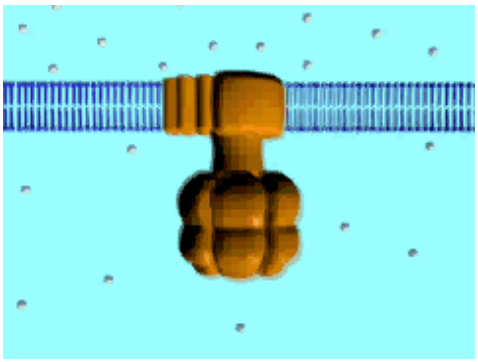
Síntesis de ATP

La ATPasa F_0F_1 funciona esencialmente como un motor molecular.
Están formadas por dos dominios: F_1 y F_0

El complejo F_0F_1 o ATPasa F_0F_1 acopla el flujo de protones a favor de su gradiente a la síntesis de ATP.
Actúa como una ATP sintetasa. (3 H^+s/ ATP)

F_0 contiene tres tipos de subunidades a, b y c .
F_1 está compuesto de 5 polipéptidos diferentes: α, β, γ, δ y ε,



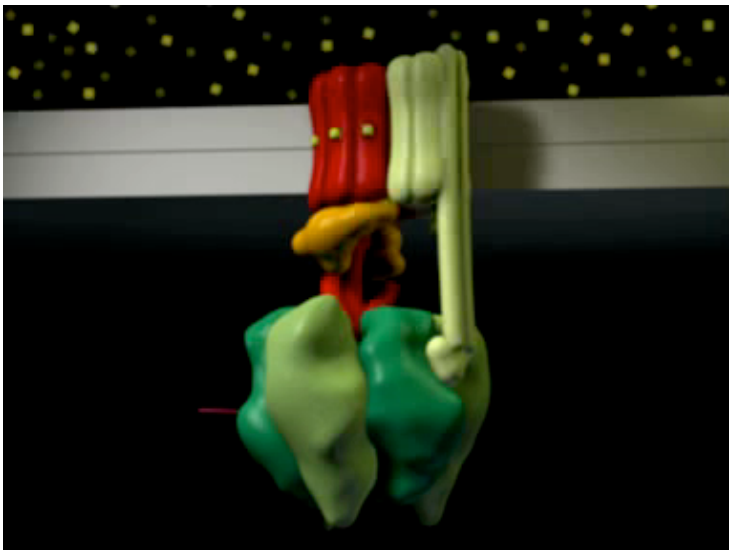


Síntesis de ATP

La ATPsintasa (o sintetasa) es en esencia un motor molecular.
Están formadas por dos dominios: el rotor y la porción F_1/F_0

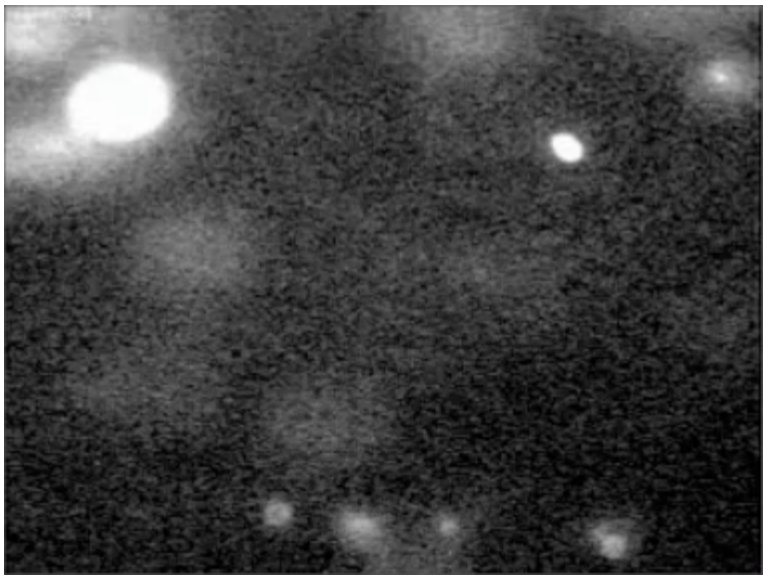
El rotor permite acoplar el flujo de protones a favor de su gradiente de concentración a la síntesis de ATP realizada por el complejo F_0F_1
Actúa como una ATP sintetasa. (3 H^+s/ATP)

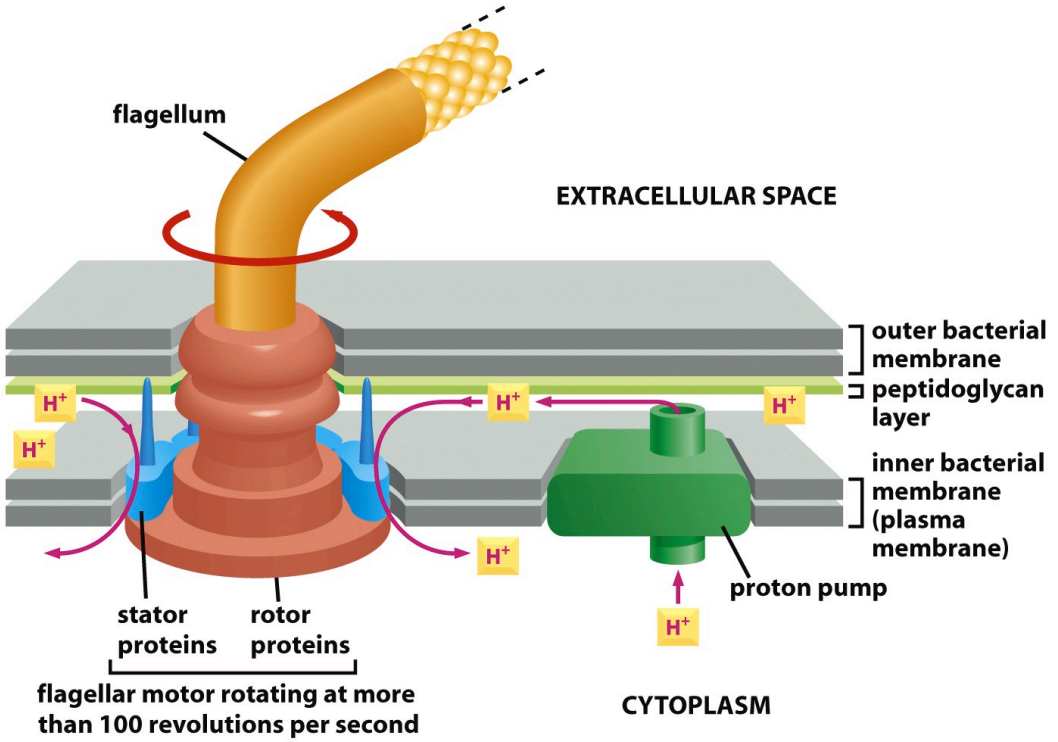
F_0 contiene tres tipos de subunidades a, b y c .
F_1 está compuesto de 5 polipéptidos diferentes: α, β, γ, δ y ε,



¿cómo evolucionó?

Los motores moleculares con características similares a la F0F1 ATP-sintetasa pueden rastrearse a su similitud con los flagelos bacterianos.





ATPasas de membrana tipo F

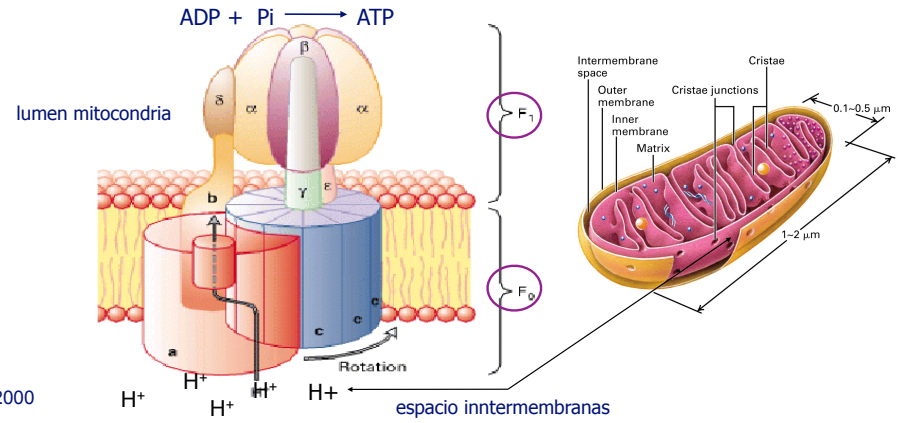
Están presentes en las membranas plasmáticas de las bacterias, en la membrana tilacoide de cloroplastos y en la membrana interna de las mitocondrias.

Catalizan la reacción de síntesis de ATP ($\Delta G > 0$) a partir de ADP y Pi.

La energía proviene del gradiente de potencial electroquímico de protones (H^+) a través de la membrana generado por la actividad de la cadena transportadora de electrones. Es decir, actúan como ATP sintetasas.

Al igual que las ATPasas tipo V están formadas por dos dominios: F_1 y F_0

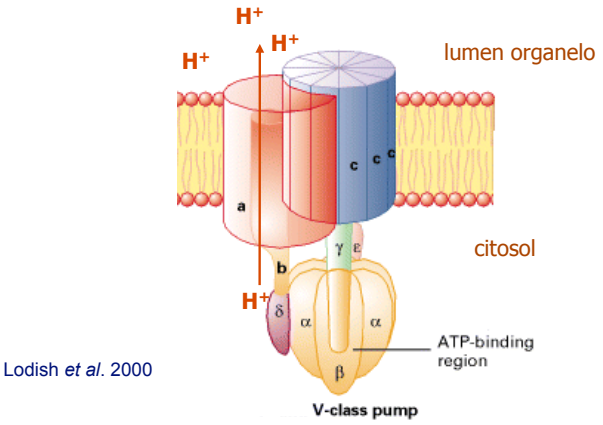
El complejo integral F_0 contiene tres tipos de subunidades a, b y c: ($a_1b_2c_{10}$ en bacterias) y contiene el canal a través del que se transportan los protones. El complejo F_1 está compuesto de 5 polipéptidos diferentes :α,β, y γ.



Lodish *et al*. 2000

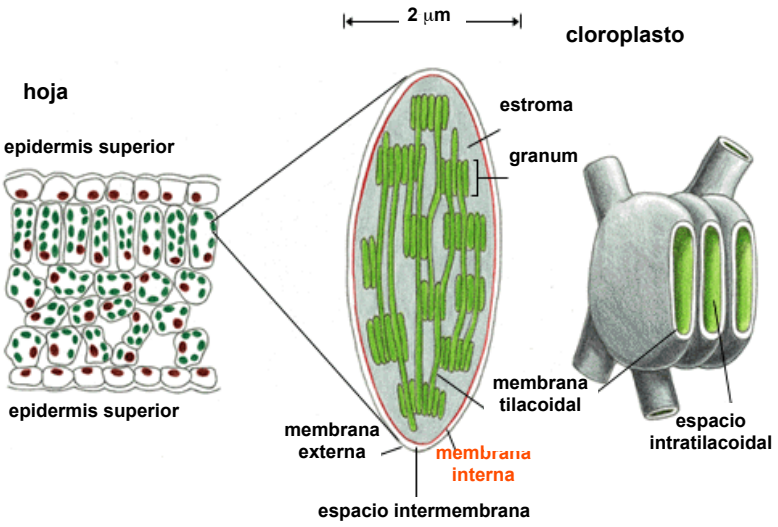
ATPasas de membrana tipo V

Presentes en las membranas de las vacuolas y en organelos como lisosomas, retículo endoplásmico, cisternas del aparato de Golgi y vesículas cubiertas, bombean electrogenicamente H^+ desde el citosol al lumen del organelo (hidrolizando ATP).
Una cabeza (V_1) hidrofílica que está orientada hacia el citoplasma y donde se realiza la hidrólisis del ATP.



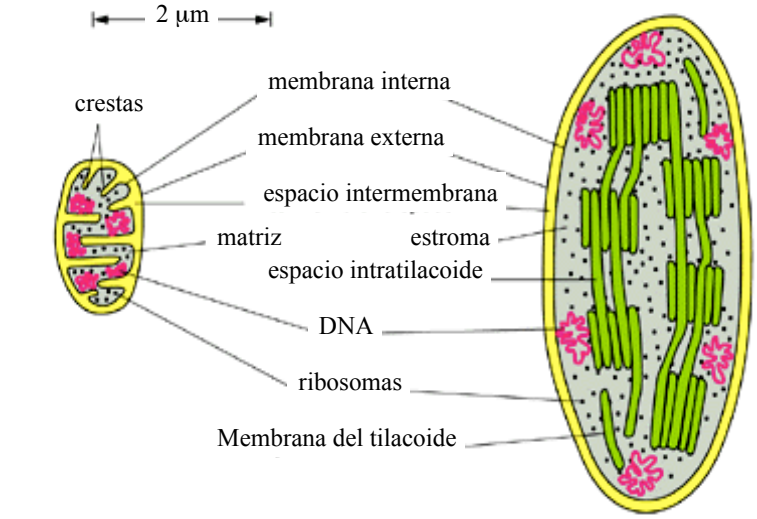
Lodish *et al*. 2000

CLOROPLASTOS



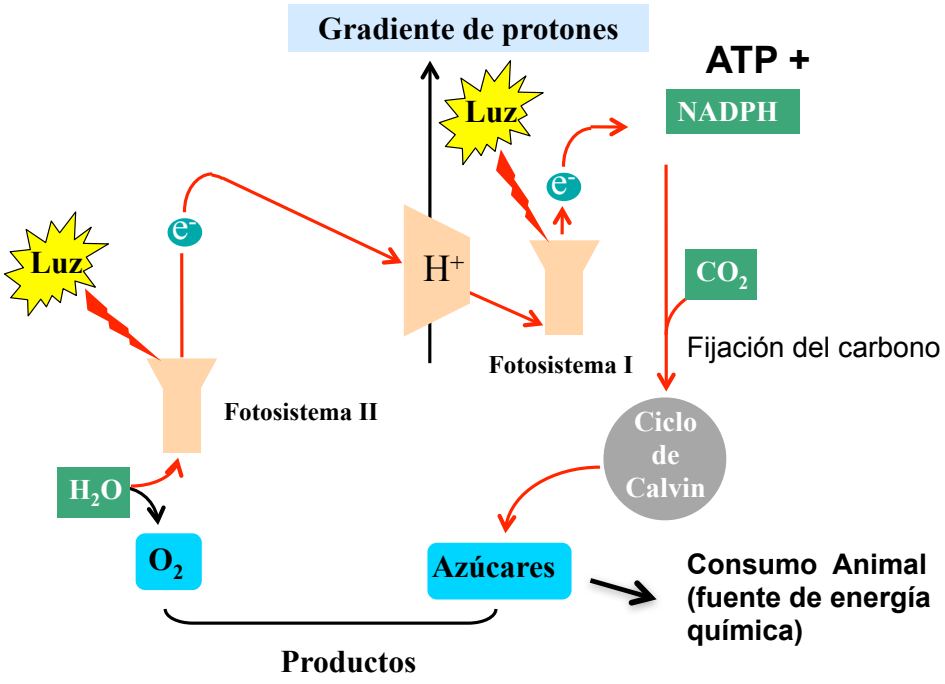
2 a 4 um diámetro
5 a 10 um de largo
20 a 40 por célula

Comparación entre mitocondrias y cloroplastos



Mitocondria **Cloroplasto**

CLOROPLASTO



Luz

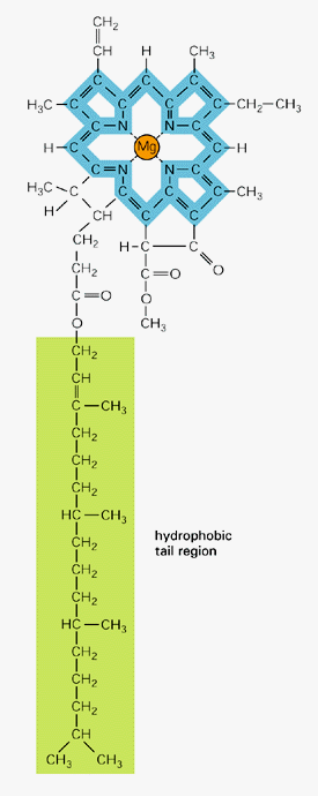
↓

Excitación electrónica a niveles de mayor energía.

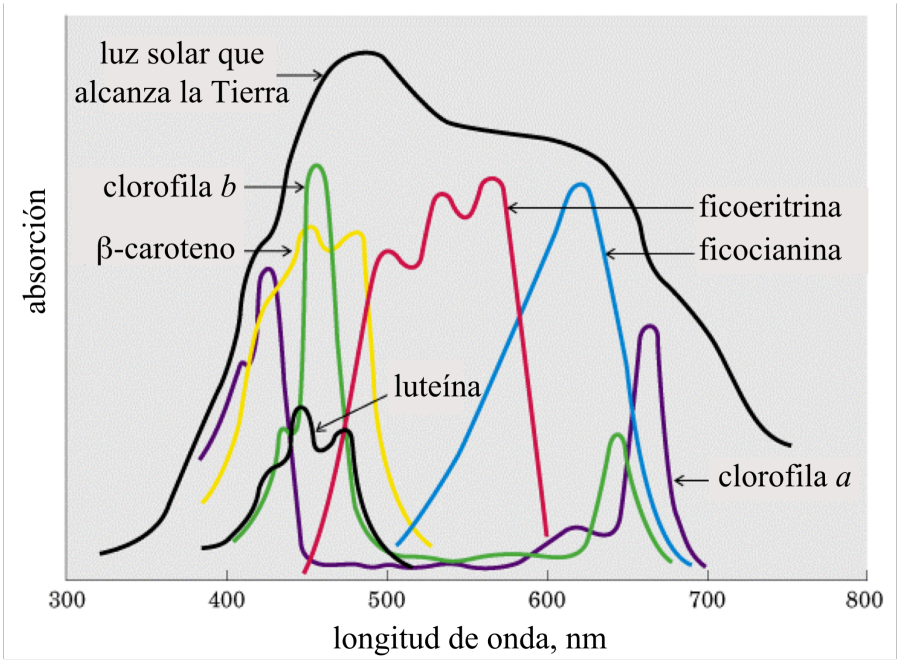
Sucede:

Transferencia electrónica a un receptor de electrones (Fotosistemas).

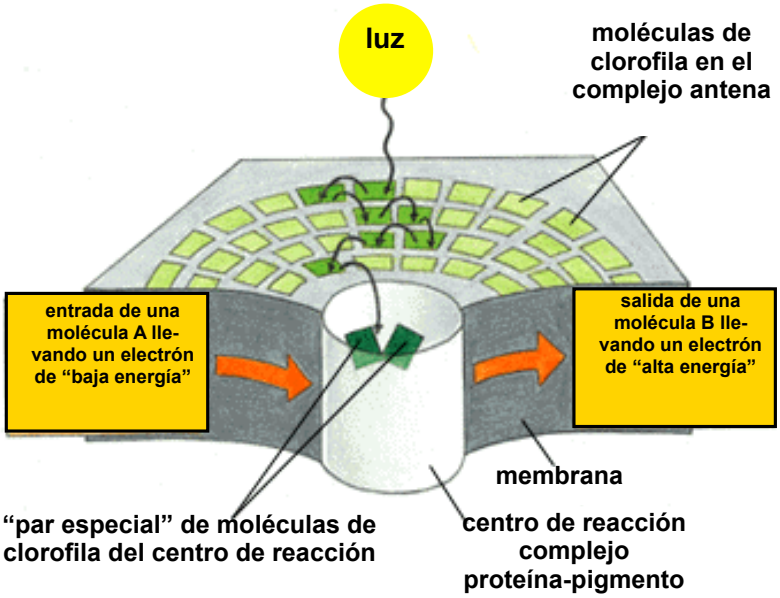
La clorofila capta electrones del Agua.

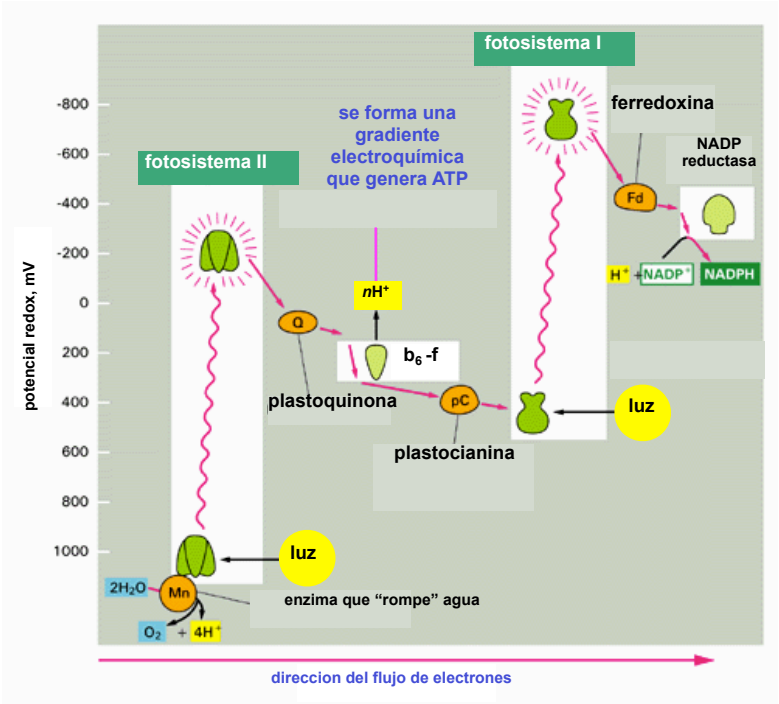


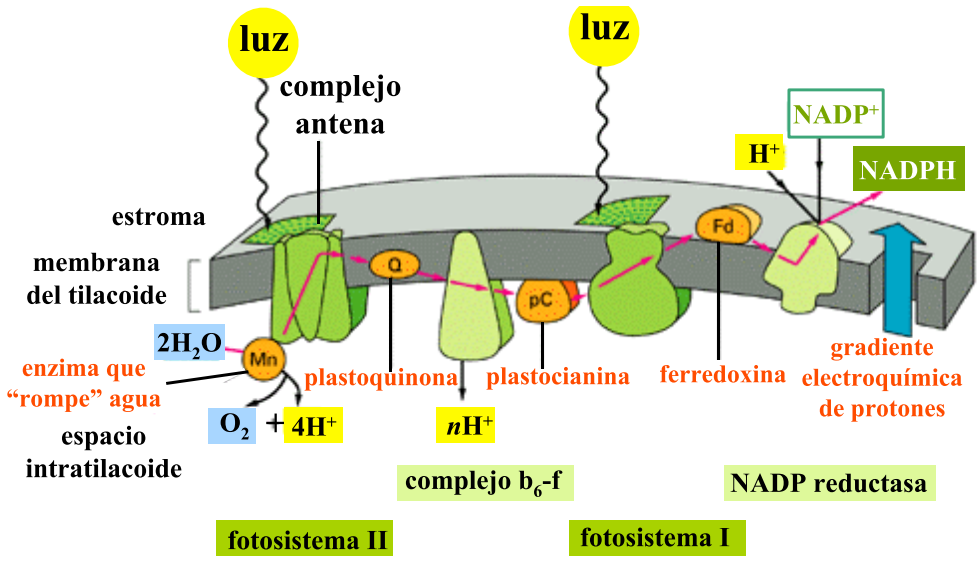
Clorofila



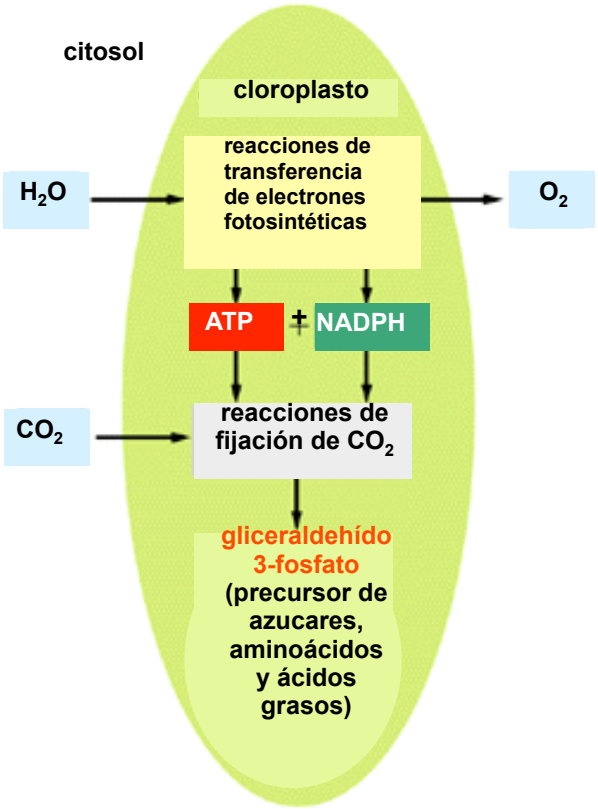
Esquema de un Fotosistema (Centro de reacción+Complejo Antena)



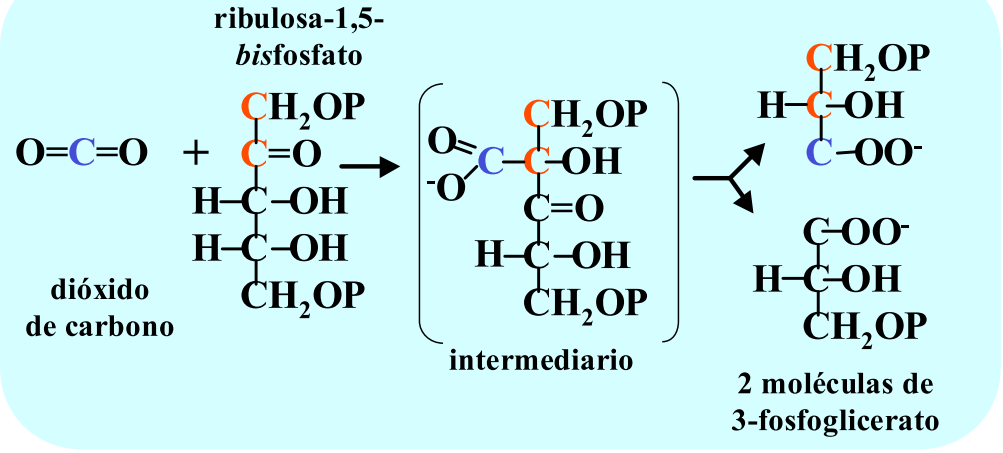
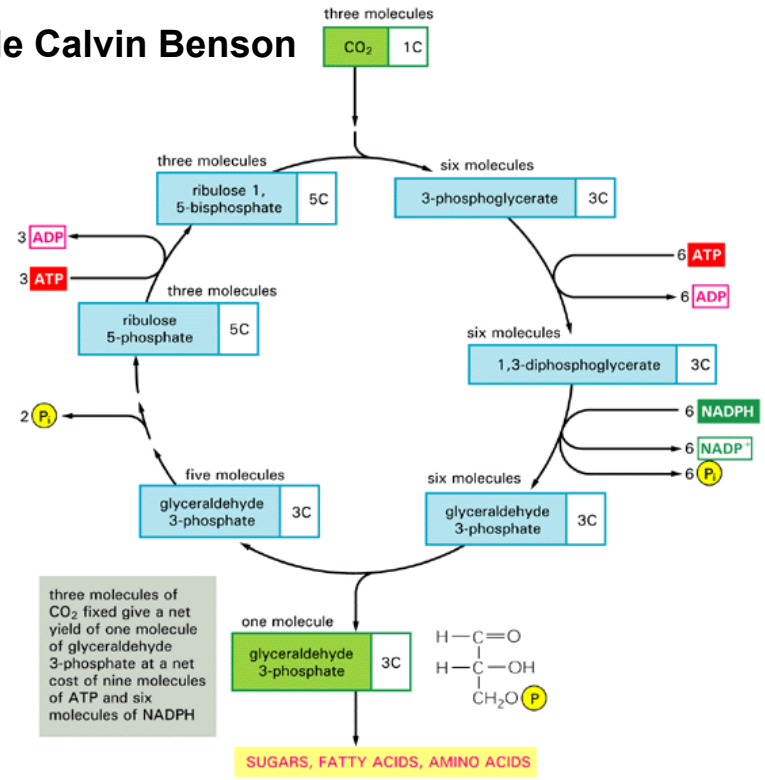




En la membrana tilacoidal ocurre la transferencia electrónica, a la par, los H+ son bombeados hacia el interior del tilacoide. El flujo de estos H+ retornando al estroma a través de la ATP asa permite la síntesis del ATP.



Reacción catalizada por la ribulosa-1,5-*bis*fosfato carboxilasa oxigenasa (Rubisco)



Ciclo de Calvin Benson