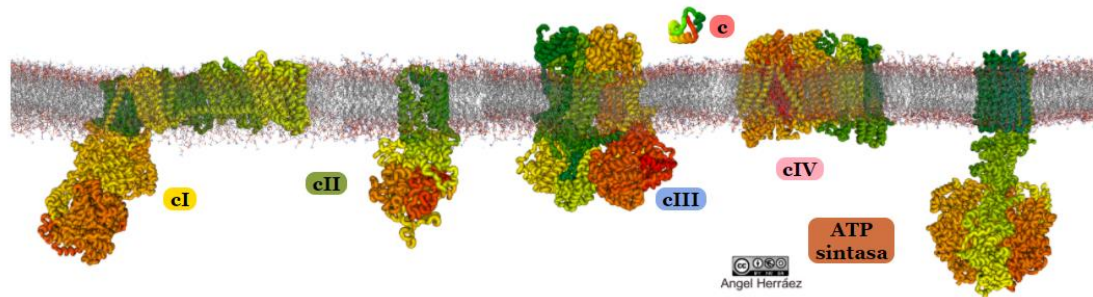
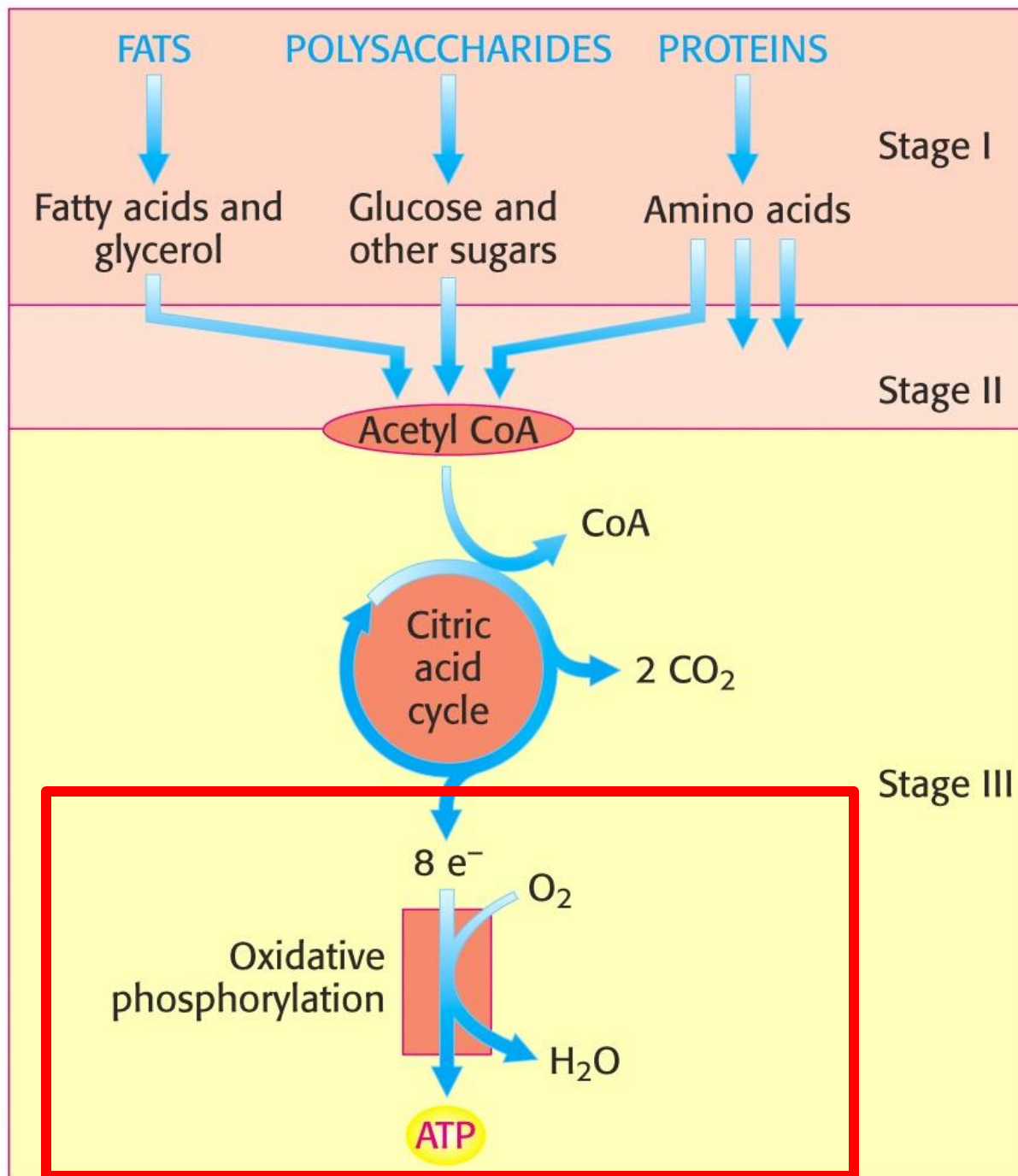


Fosforilación Oxidativa



Marco Galleguillos Caamaño
B.Q. Mg. en BQ

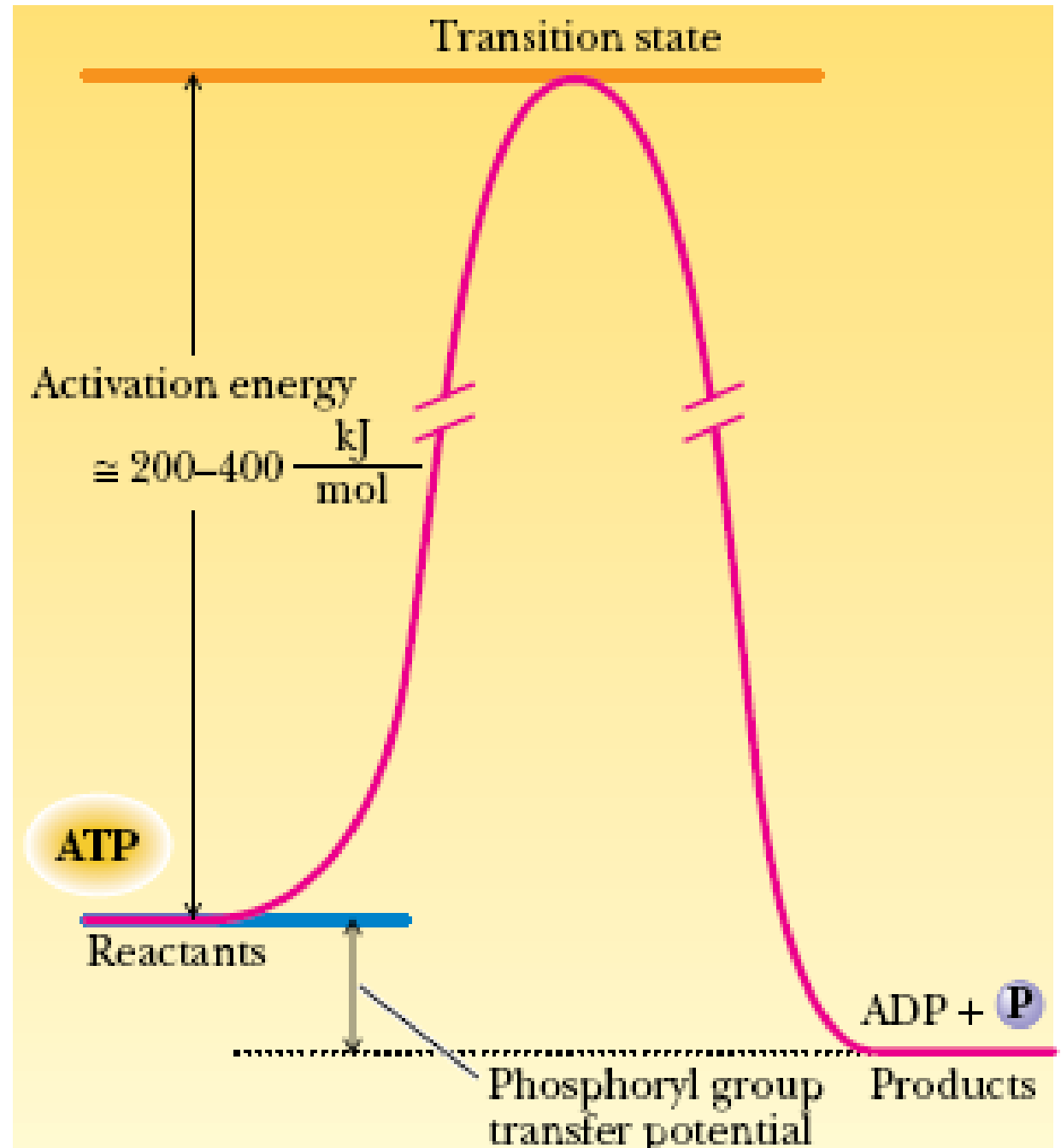




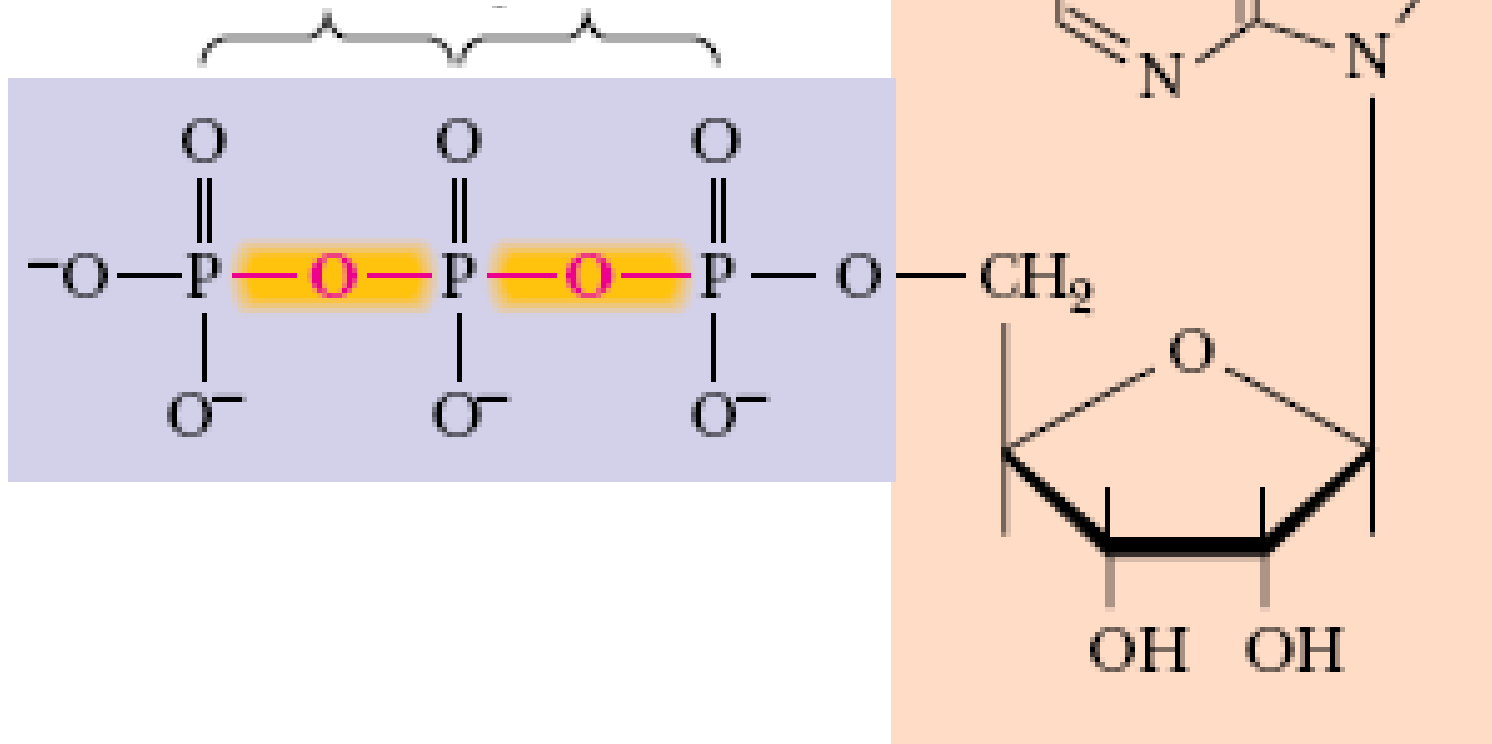
La síntesis de ATP es un proceso endergónico, es decir requiere ENERGÍA para que ocurra

Por lo tanto el proceso inverso libera Energía

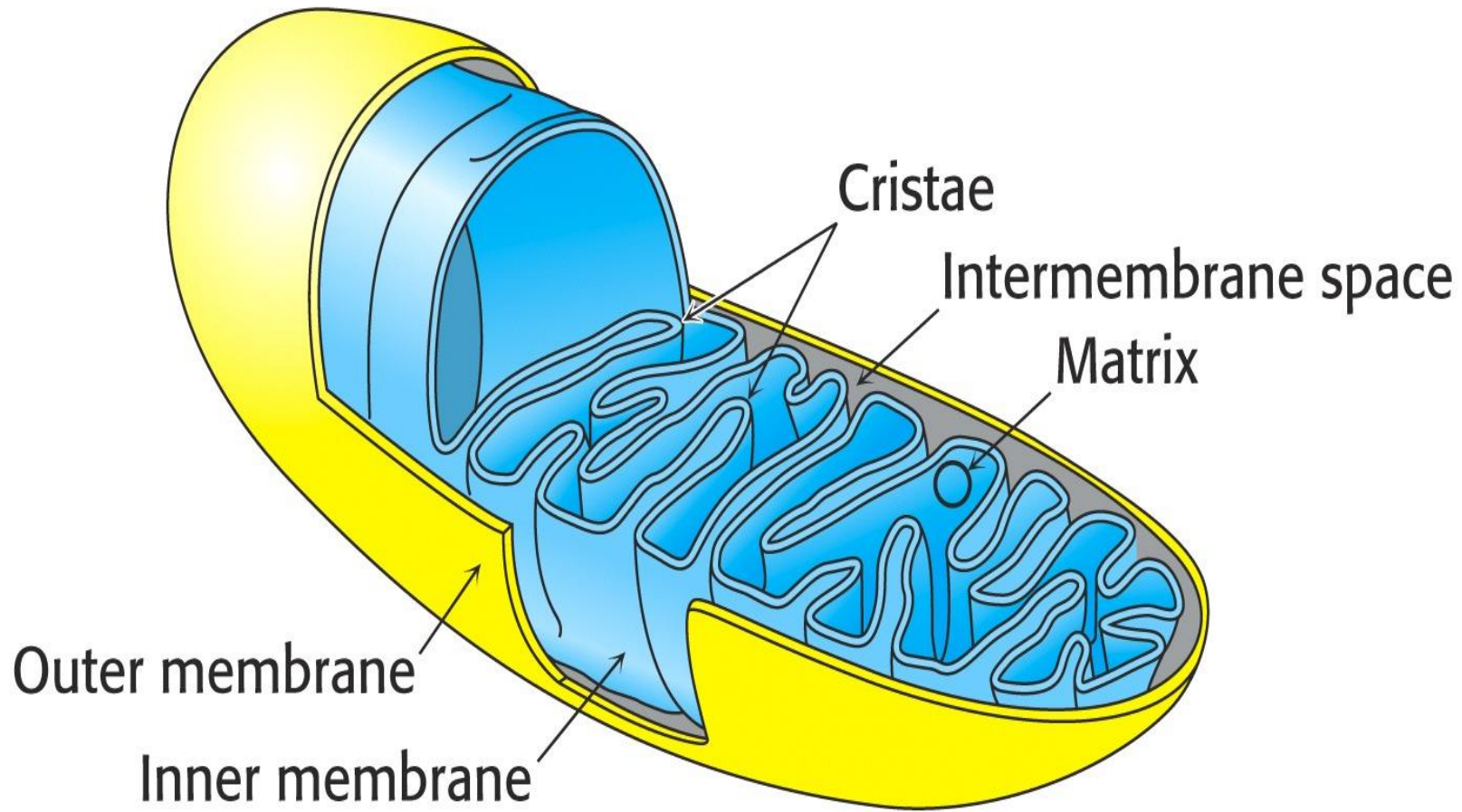
La hidrólisis del ATP
tiene una alta energía
de activación.



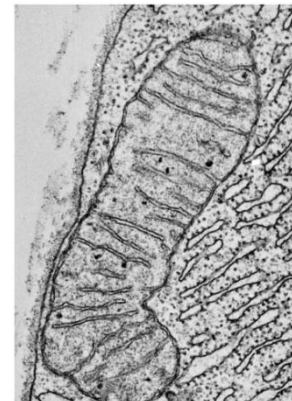
**Enlace anhídrido
fosfórico**



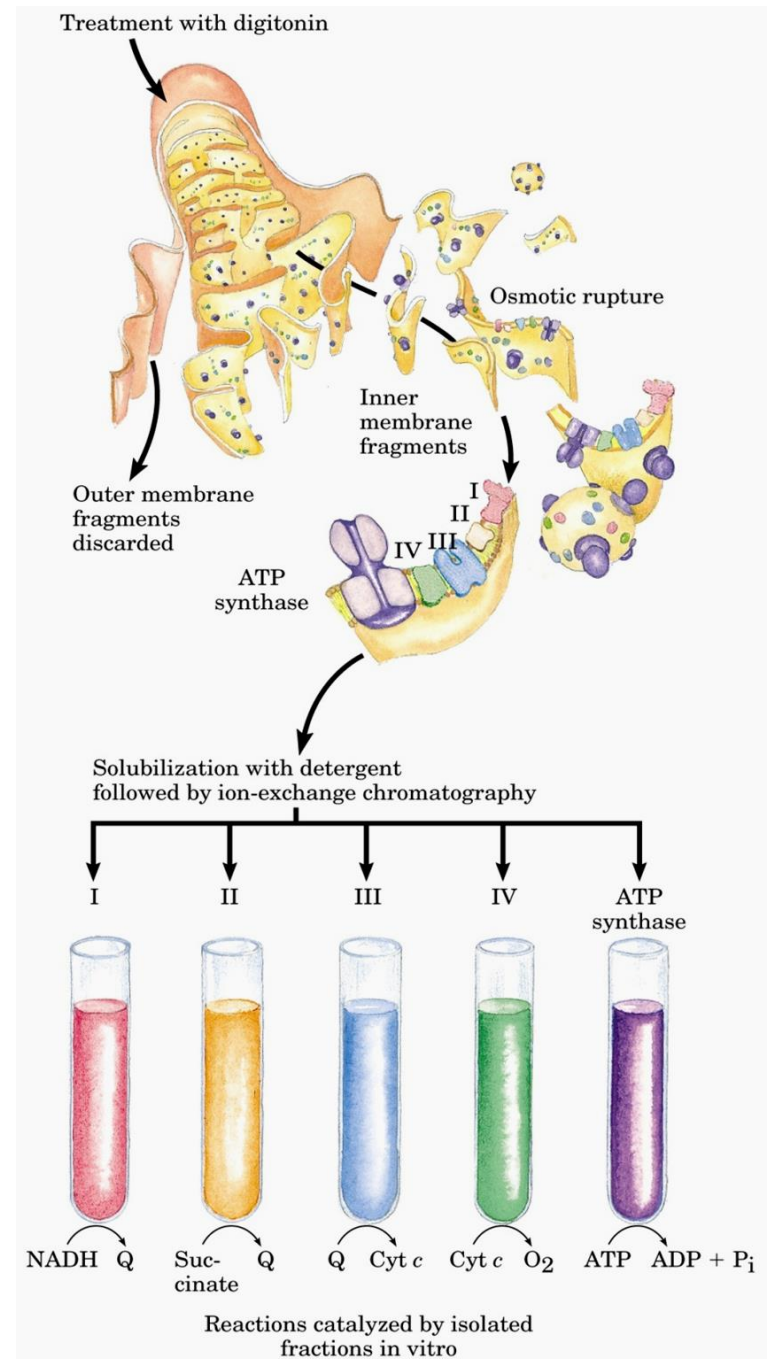
ATP
(adenosín-5'-trifosfato)

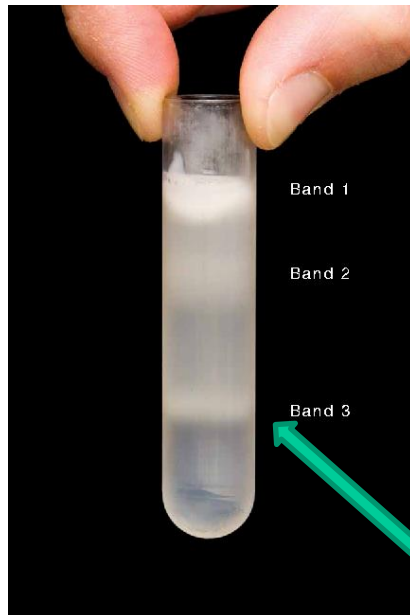
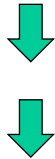


En 1948, E. Kennedy y A. Lehninger descubrieron que la fosforilación oxidativa ocurre en la mitocondria



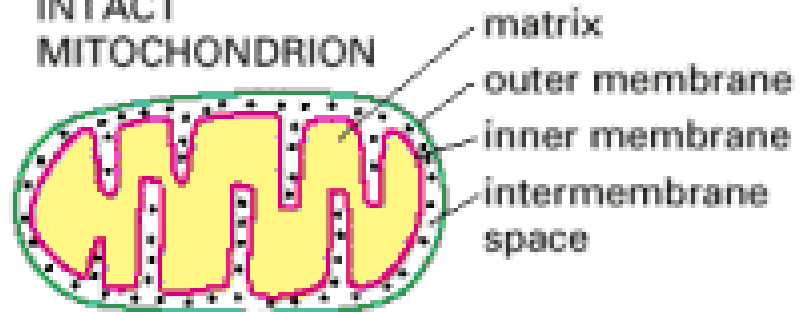
Los complejos proteicos
mitocondriales se pueden aislar



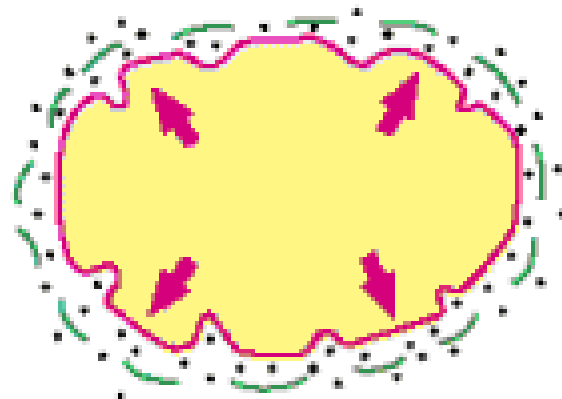


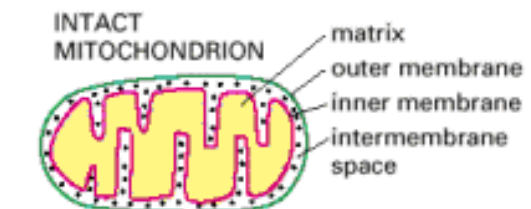
Mitochondrias

INTACT MITOCHONDRION

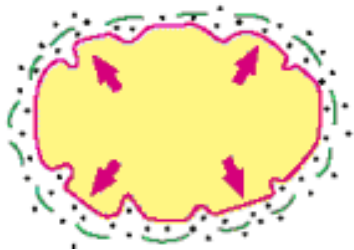


in medium of low osmolarity
the influx of water causes the
mitochondrion to swell and the
outer membrane to rupture, releasing
the contents of the intermembrane
space; the inner membrane remains
intact

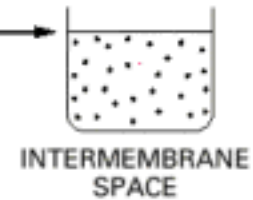




in medium of low osmolarity the influx of water causes the mitochondrion to swell and the outer membrane to rupture, releasing the contents of the intermembrane space; the inner membrane remains intact



centrifugation leaves the contents of the intermembrane space in the nonsedimenting fraction



transfer to a medium of high osmolarity causes shrinkage



density-gradient centrifugation separates the outer membrane from the dense matrix and its surrounding inner membrane



disruption and centrifugation separate inner membrane from matrix components



INNER MEMBRANE



MATRIX



OUTER MEMBRANE

Componentes de la cadena respiratoria



Cadena transportadora de electrones

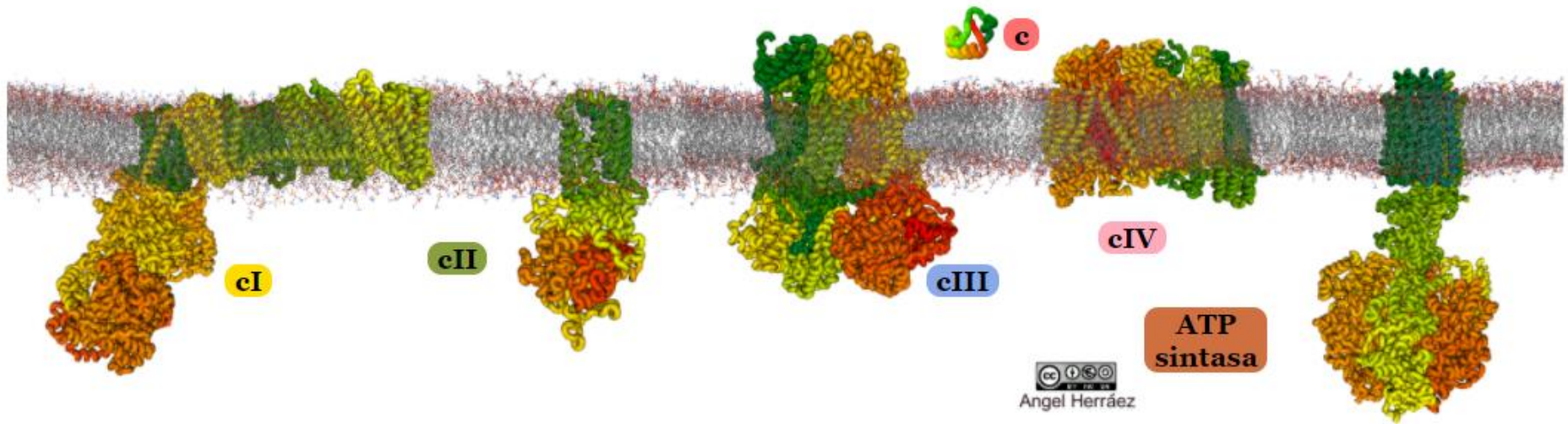


table 19–3

Protein Components of the Mitochondrial Electron-Transfer Chain

Enzyme complex	Mass (kDa)	Number of subunits*	Prosthetic group(s)
I NADH dehydrogenase	850	42 (14)	FMN, Fe-S
II Succinate dehydrogenase	140	5	FAD, Fe-S
III Ubiquinone: cytochrome <i>c</i> oxidoreductase	250	11	Hemes, Fe-S
Cytochrome <i>c</i> [†]	13	1	Heme
IV Cytochrome oxidase	160	13 (3–4)	Hemes; Cu _A , Cu _B

*Numbers of subunits in the bacterial equivalents in parentheses.

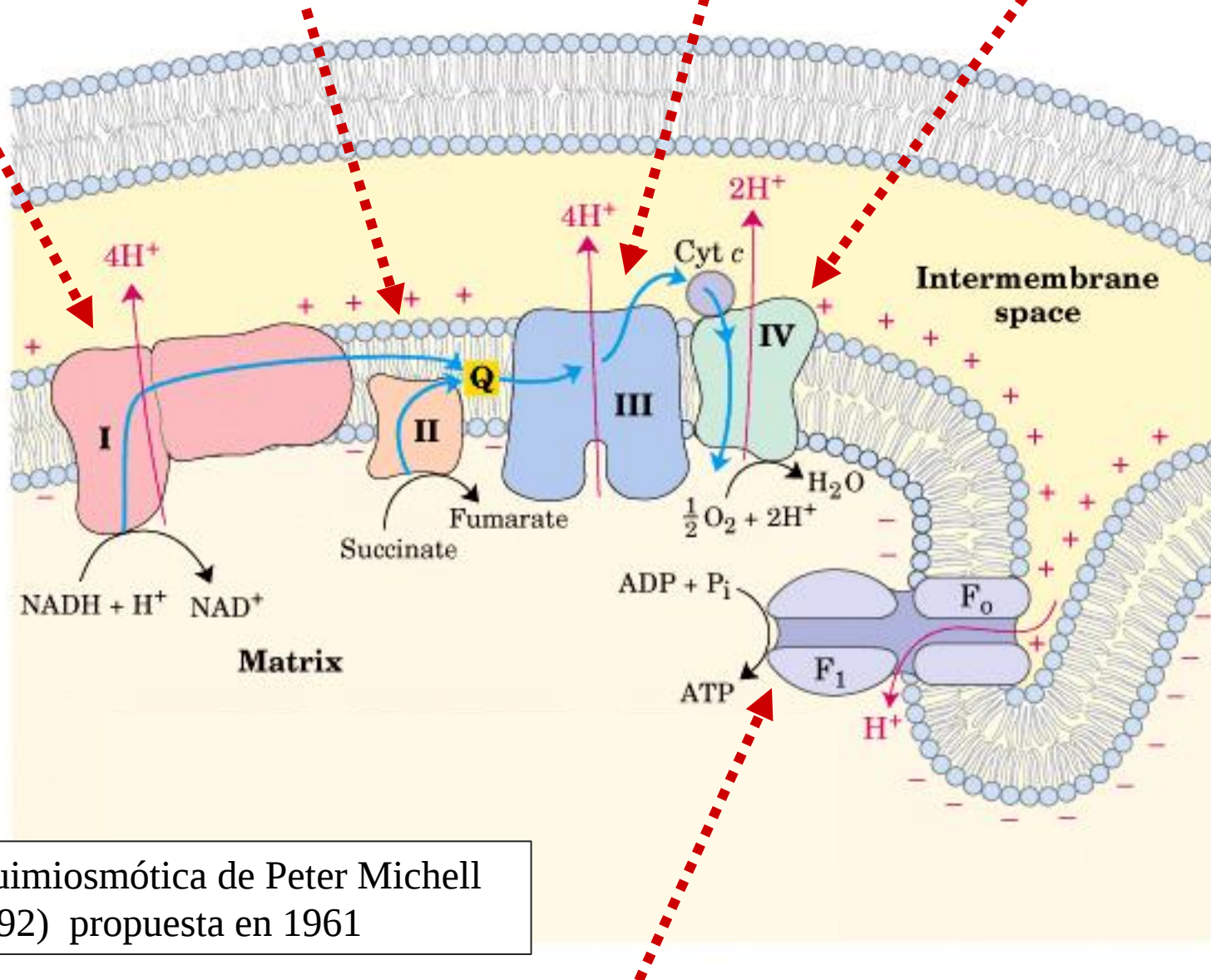
[†]Cytochrome *c* is not part of an enzyme complex; it moves between Complexes III and IV as a freely soluble protein.

Complejo I

Complejo II

Complejo III

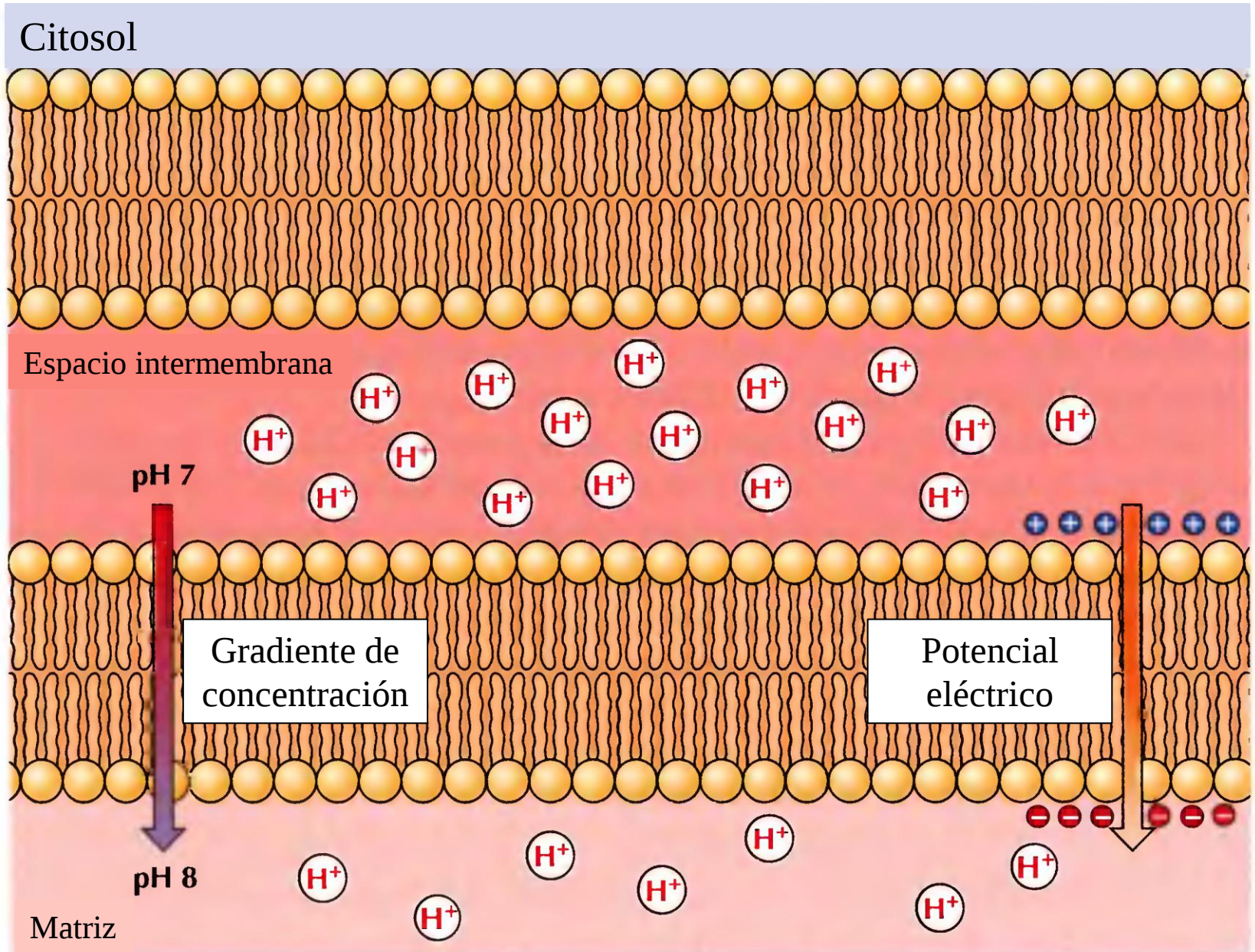
Complejo IV



Teoría Quimiosmótica de Peter Mitchell
(1920-1992) propuesta en 1961

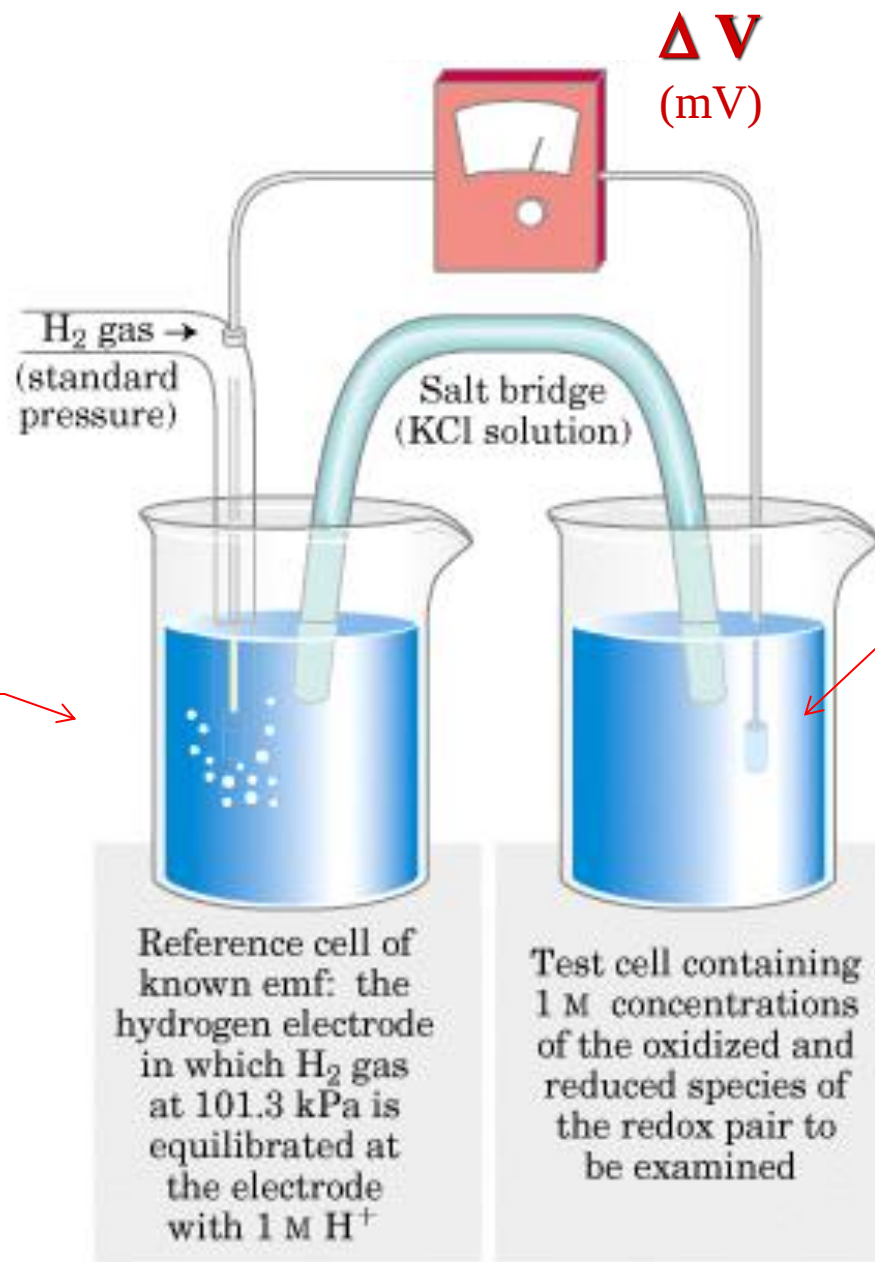
ATP sintetasa

Gradiente de protones (gradiente electroquímico)



Las reacciones óxido-reducción pueden ordenarse en una tabla de acuerdo a su potencial redox (E°) medido en condiciones estándar.

Referencia



Especie química a ensayar

$$\Delta G^{\circ} = - nF \Delta E^{\circ}$$

n = n° de electrones transferidos

F = Constante de Faraday (23062 cal)

ΔE° = **ΔV** entre oxidante (aceptor) y reductor (dador de e⁻)

$$\Delta G^\circ = -nF \Delta E^\circ$$

TABLE 18.1 Standard reduction potentials of some reactions

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

**Buenos
dadores de
electrones**

**El mejor
aceptor de
electrones**

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

Reacciones de reducción

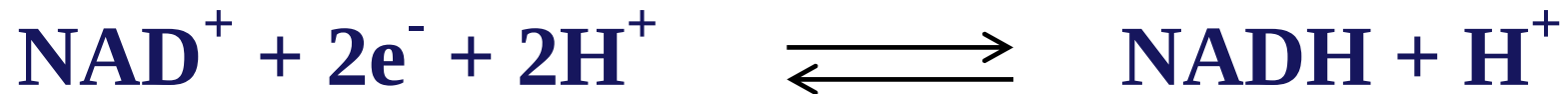


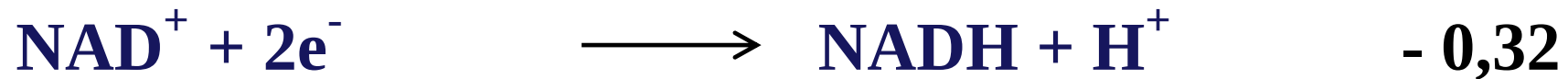
TABLE 18.1 Standard reduction potentials of some reactions

Oxidant	Reductant	<i>n</i>	E'_0 (V)
Succinate + CO ₂	α-Ketoglutarate	2	− 0.67
Acetate	Acetaldehyde	2	− 0.60
Ferredoxin (oxidized)	Ferredoxin (reduced)	1	− 0.43
2 H ⁺	H ₂	2	− 0.42
NAD ⁺	NADH + H ⁺	2	− 0.32
NADP ⁺	NADPH + H ⁺	2	− 0.32
Lipoate (oxidized)	Lipoate (reduced)	2	− 0.29
Glutathione (oxidized)	Glutathione (reduced)	2	− 0.23
FAD	FADH ₂	2	− 0.22
Acetaldehyde	Ethanol	2	− 0.20
Pyruvate	Lactate	2	− 0.19
Fumarate	Succinate	2	0.03
Cytochrome <i>b</i> (+3)	Cytochrome <i>b</i> (+2)	1	0.07
Dehydroascorbate	Ascorbate	2	0.08
Ubiquinone (oxidized)	Ubiquinone (reduced)	2	0.10
Cytochrome <i>c</i> (+3)	Cytochrome <i>c</i> (+2)	1	0.22
Fe (+3)	Fe (+2)	1	0.77
$\frac{1}{2}$ O ₂ + 2 H ⁺	H ₂ O	2	0.82

Note: E'_0 is the standard oxidation–reduction potential (pH 7, 25°C) and *n* is the number of electrons transferred. E'_0 refers to the partial reaction written as

$$\text{Oxidant} + e^- \longrightarrow \text{reductant}$$

E°'



Reacción espontánea

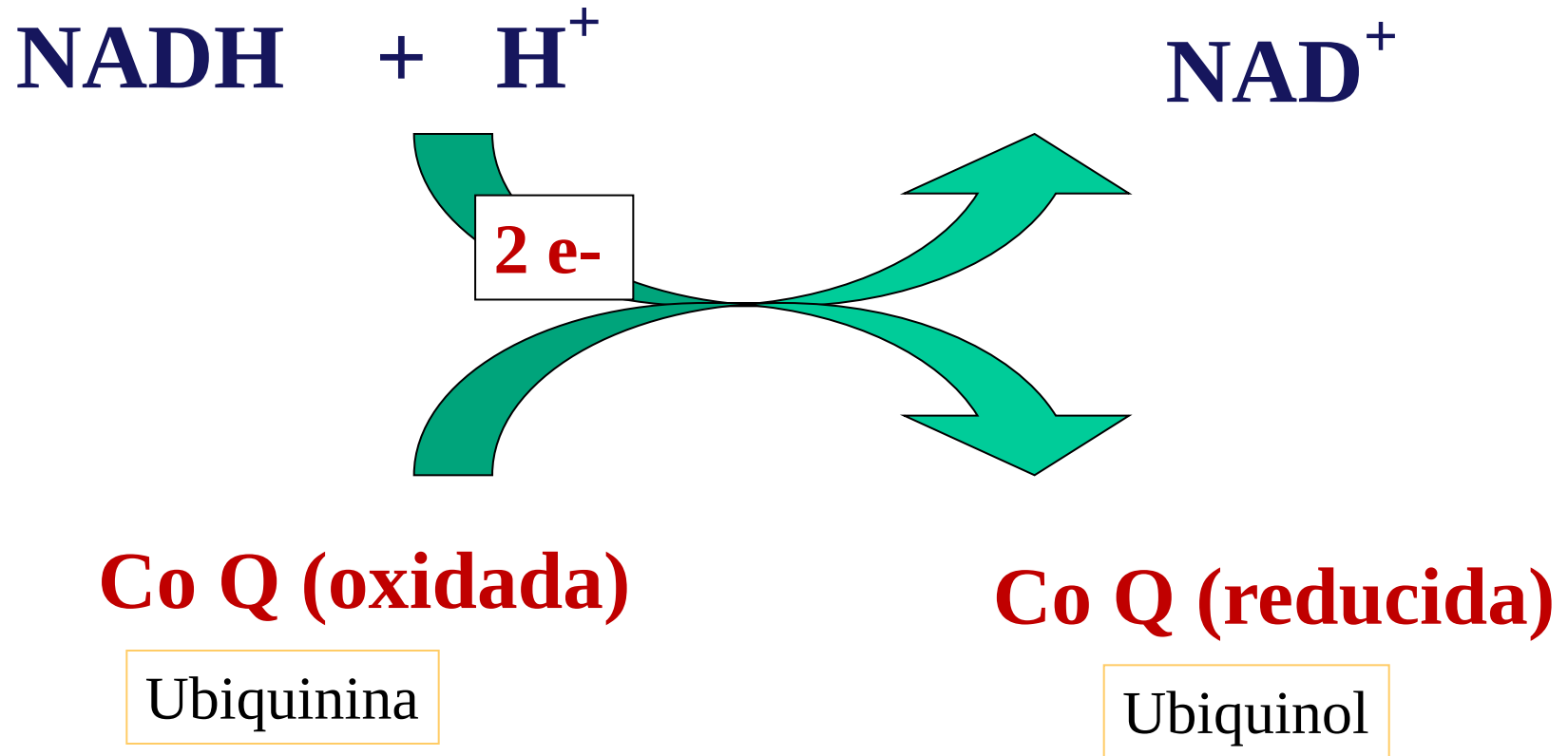


$\Delta G < 0$

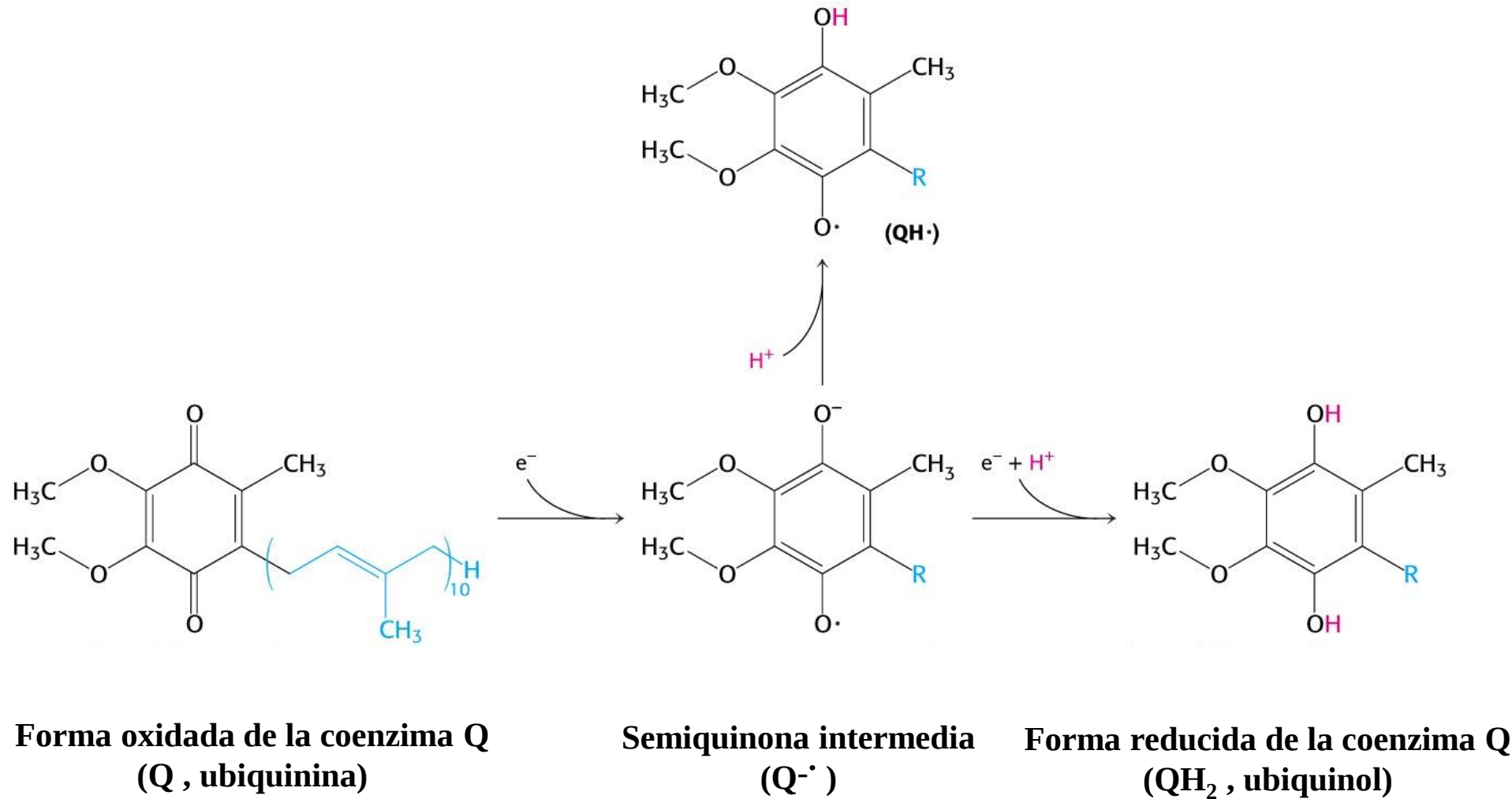


+ 0,42

Reacciones ACOPLADAS

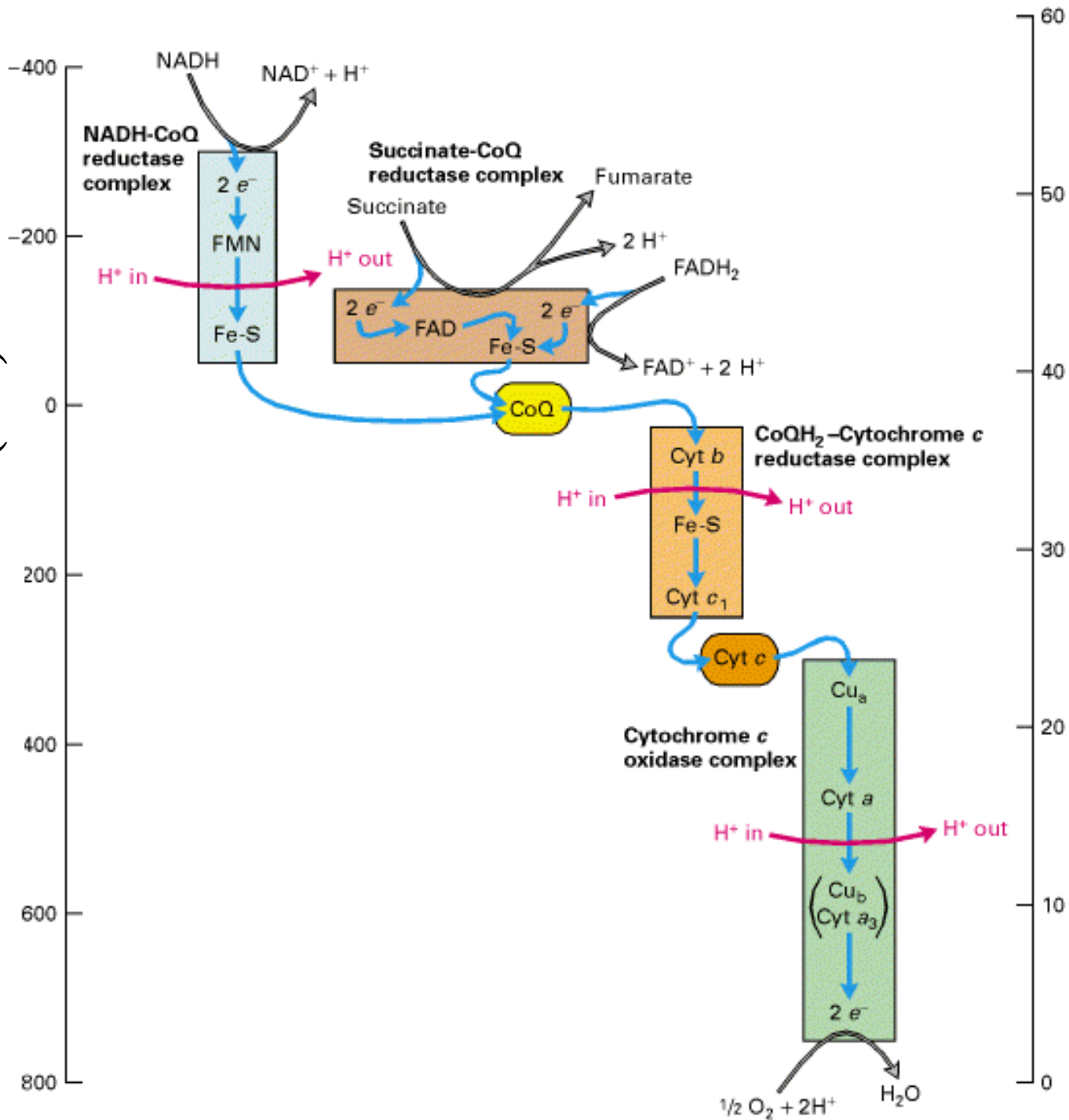


Ubiquinona



E°

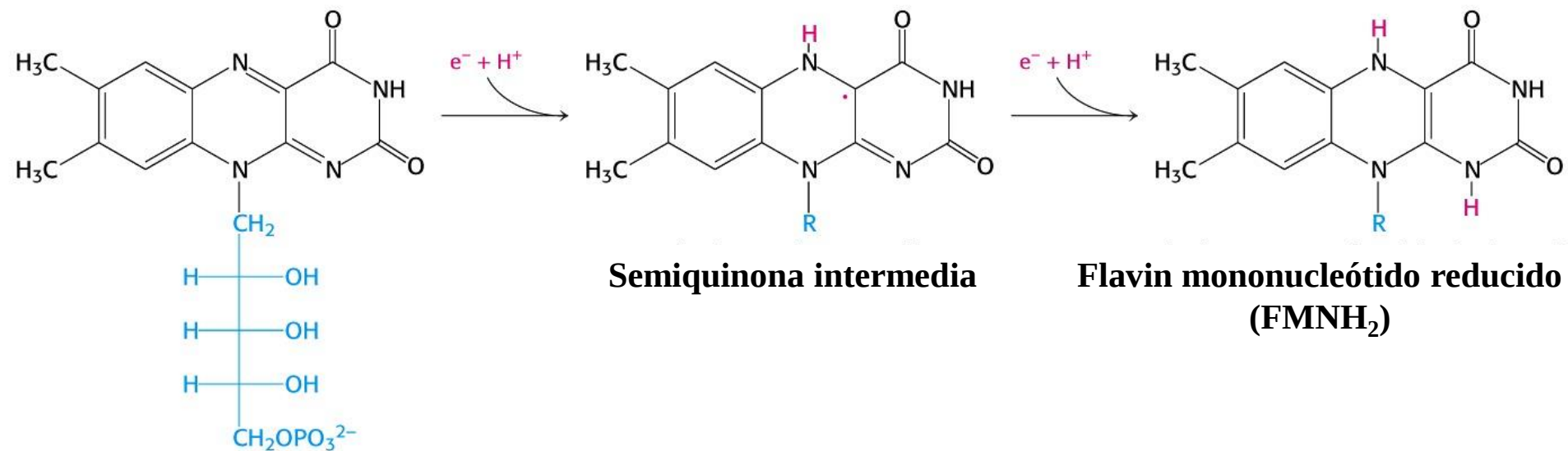
Potencial redox (mV)



Energía libre (kcal/mol)

G°

Flavina mononucleótido



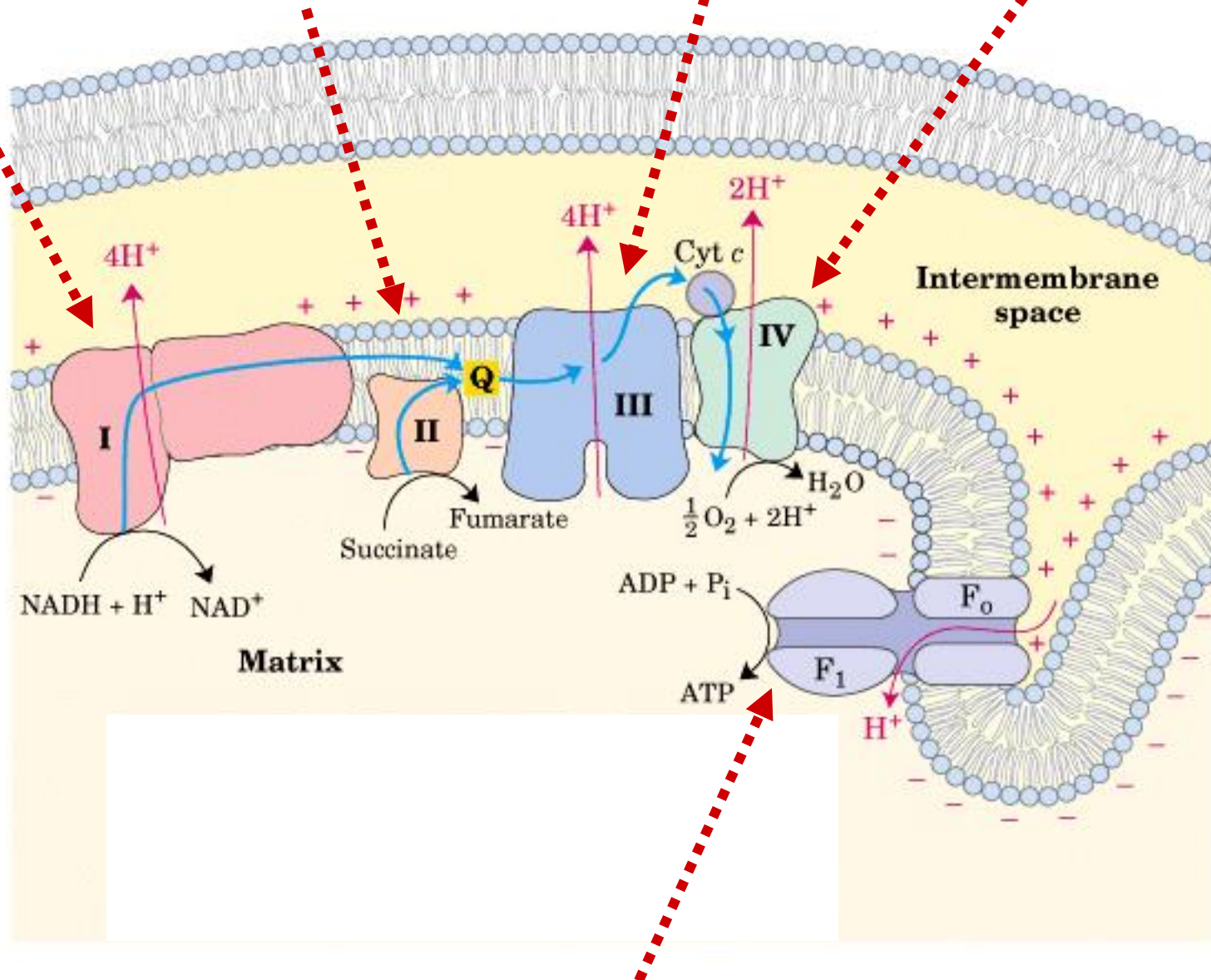
**Flavin mononucleótido oxidado
(FMN)**

Complejo I

Complejo II

Complejo III

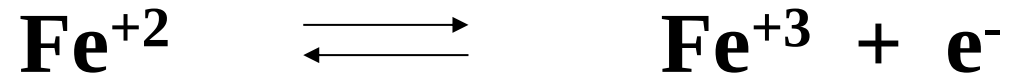
Complejo IV



ATP sintetasa

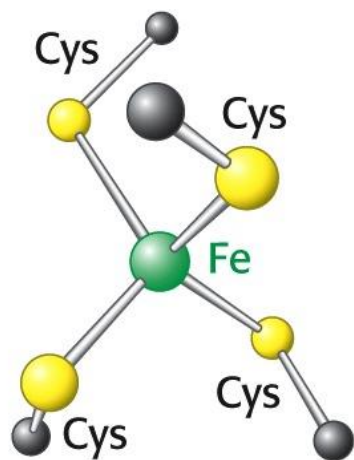
<https://youtu.be/LQmTKxI4Wn4>

Dentro de cada complejo multienzimático los electrones se movilizan a través de metales (Fe y Cu) dispuesto en diferentes tipos de grupos prostéticos

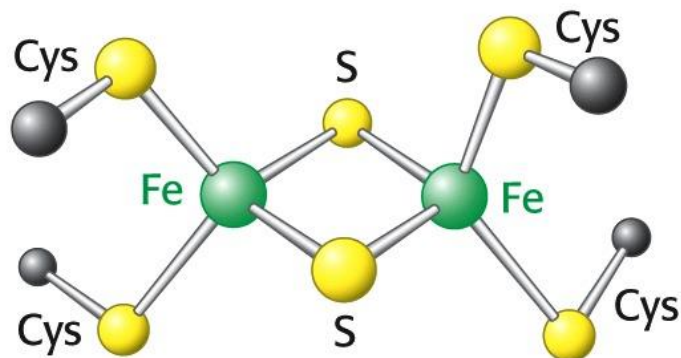


Complejos hierro-azufre

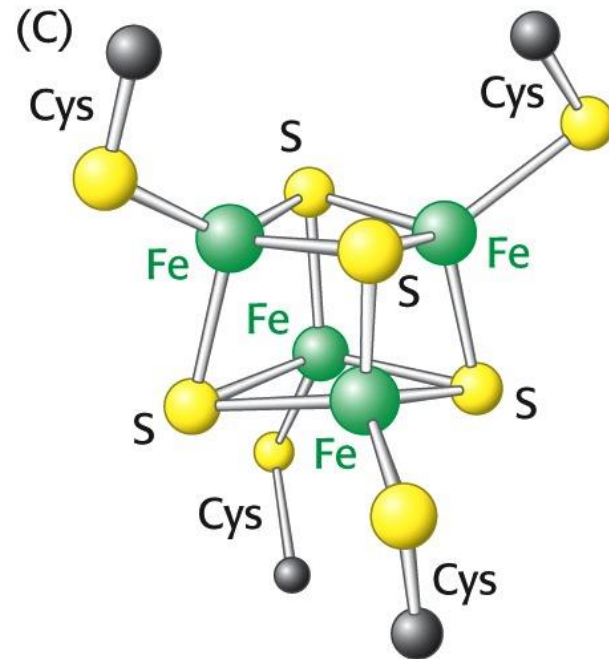
(A)



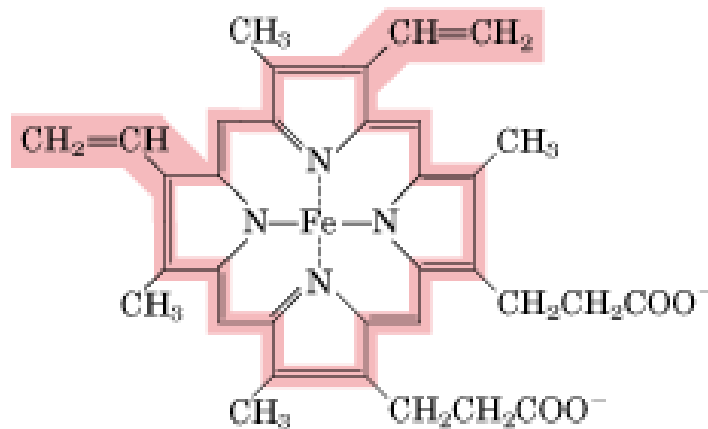
(B)



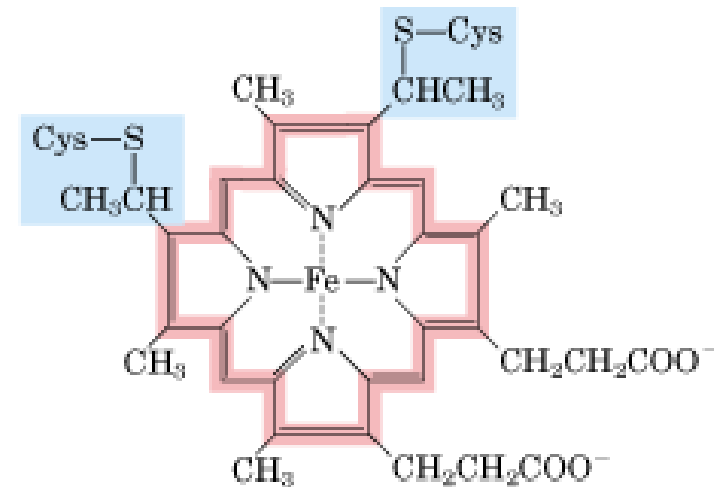
(C)



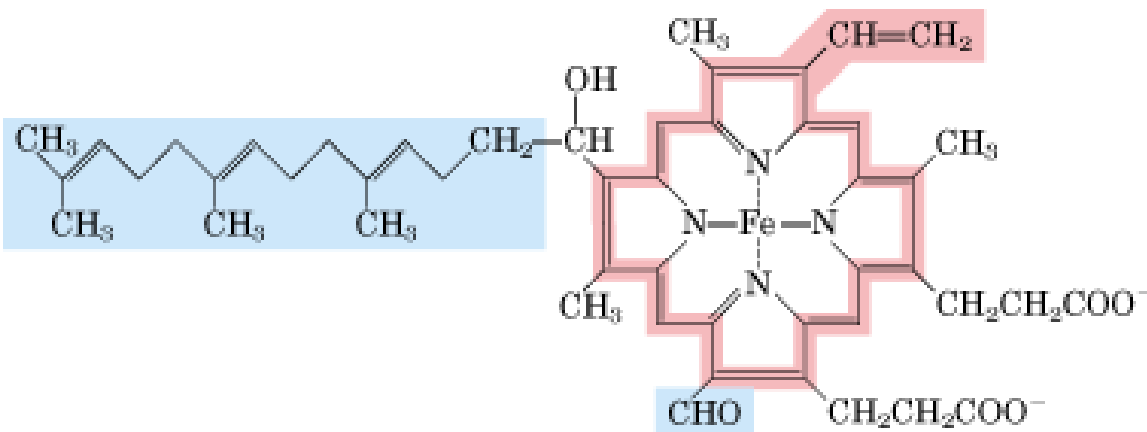
Grupos Hemo



Iron protoporphyrin IX
(in *b*-type cytochromes)



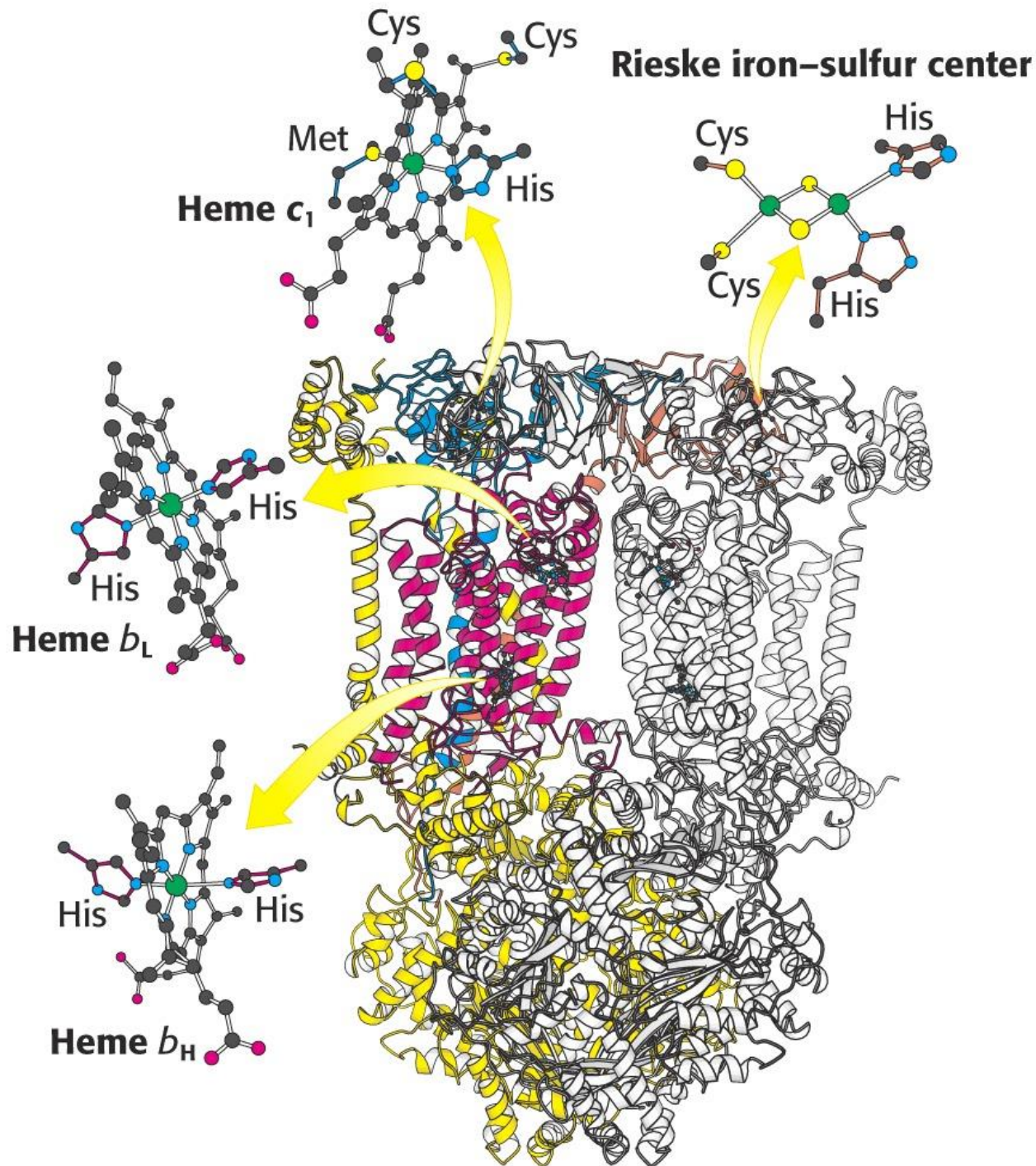
Heme C
(in *c*-type cytochromes)



Heme A
(in *a*-type cytochromes)

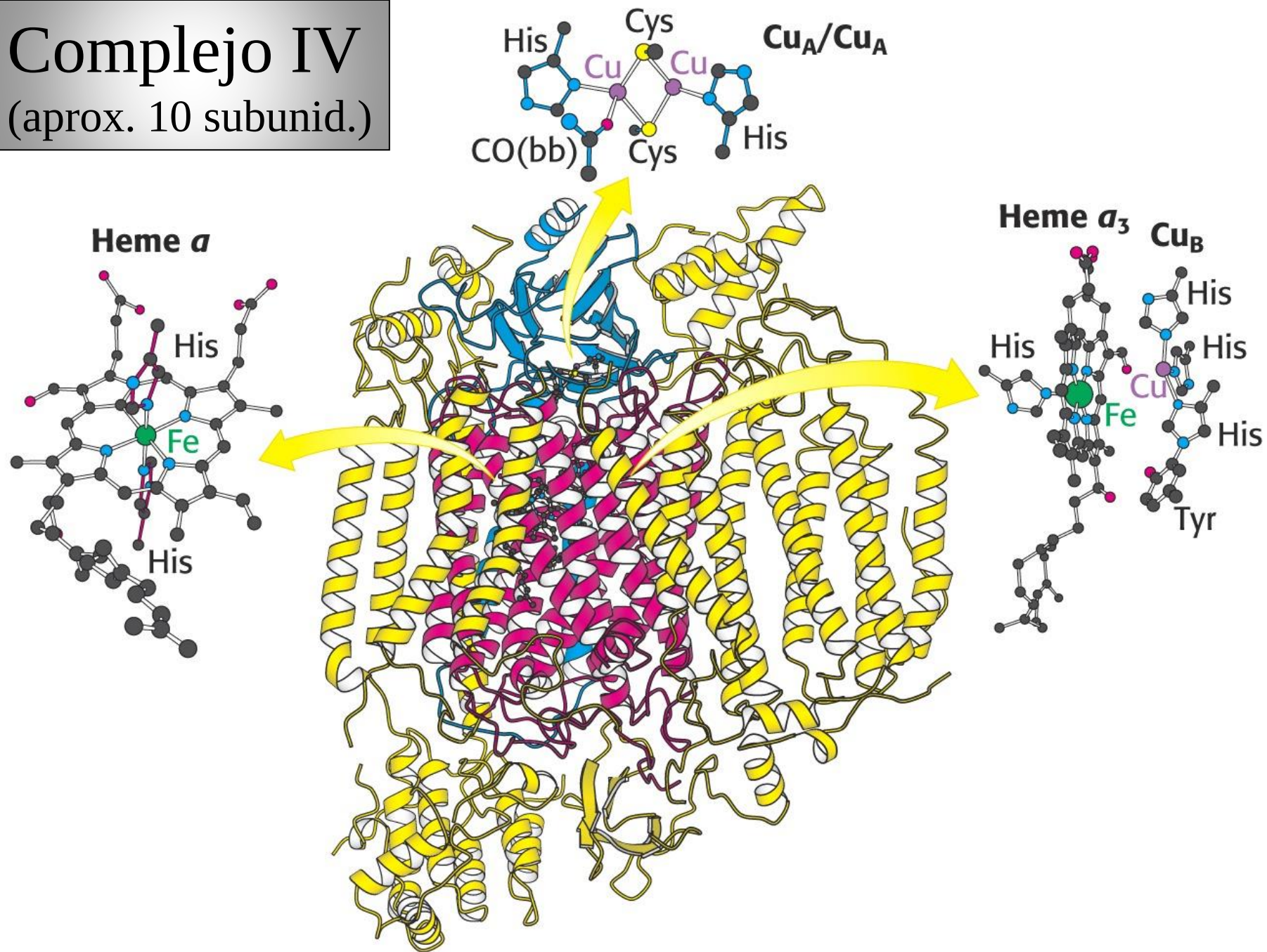
Complejo III

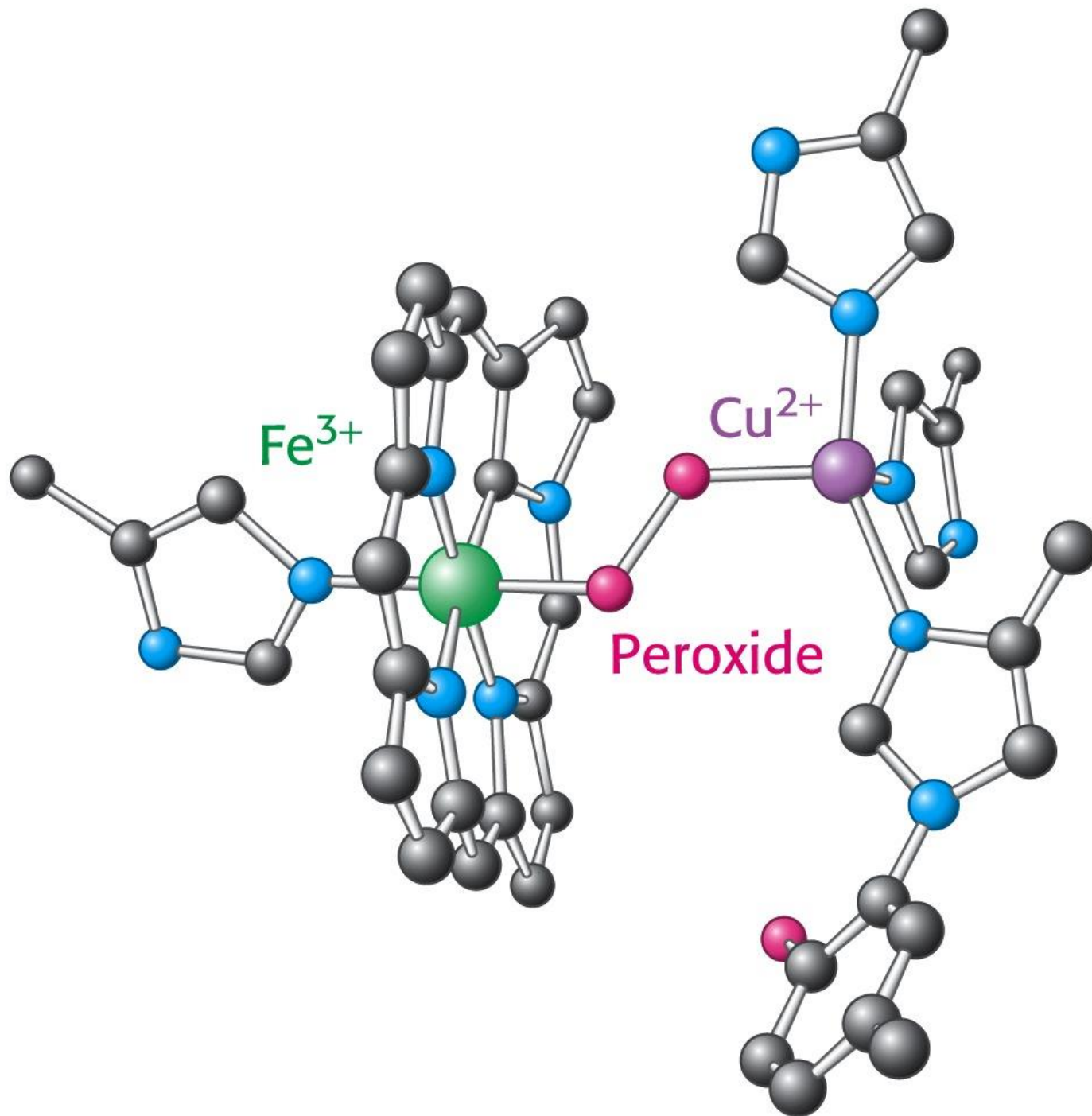
(aprox. 10 subunid.)

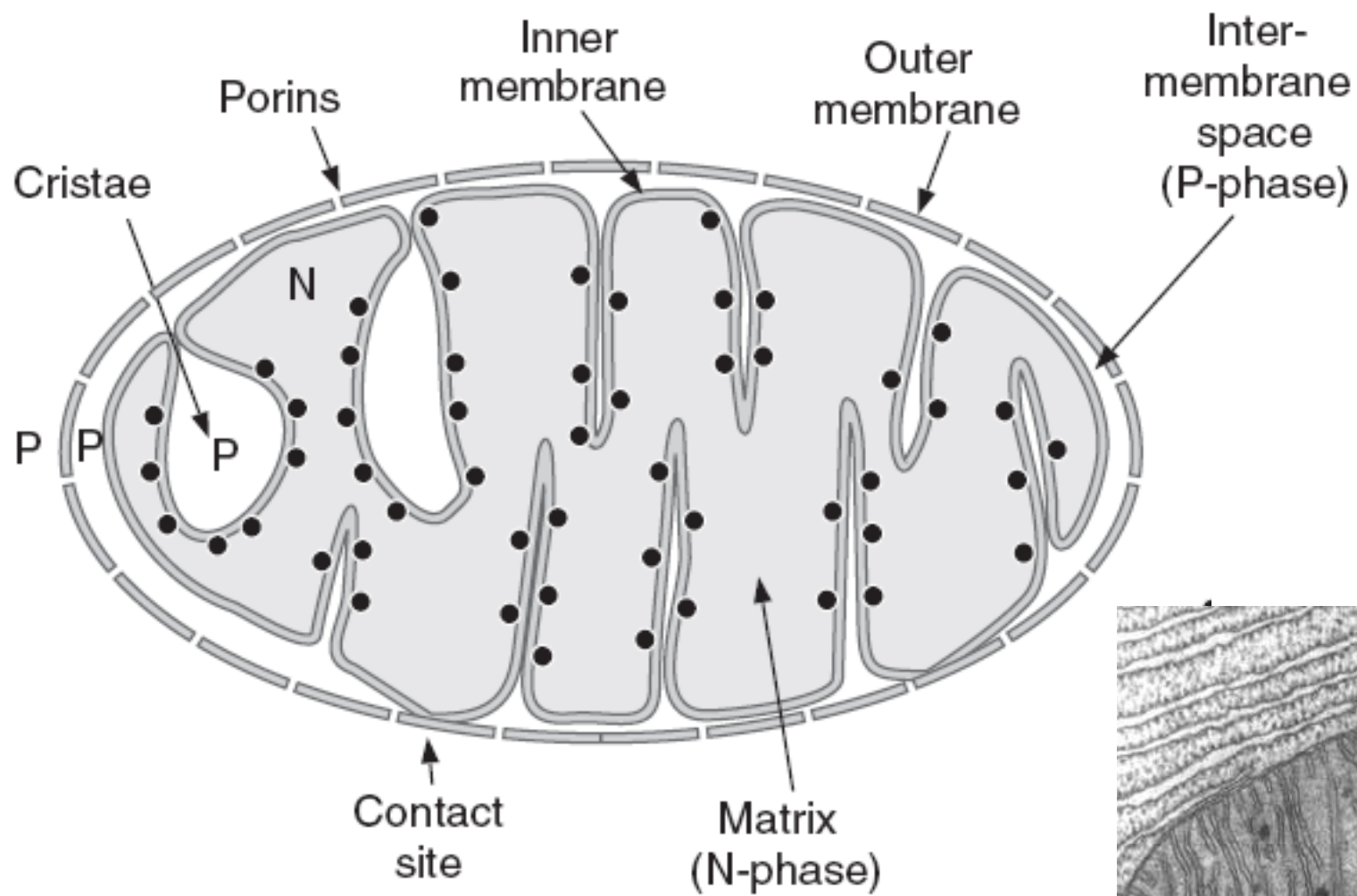


Complejo IV

(aprox. 10 subunid.)

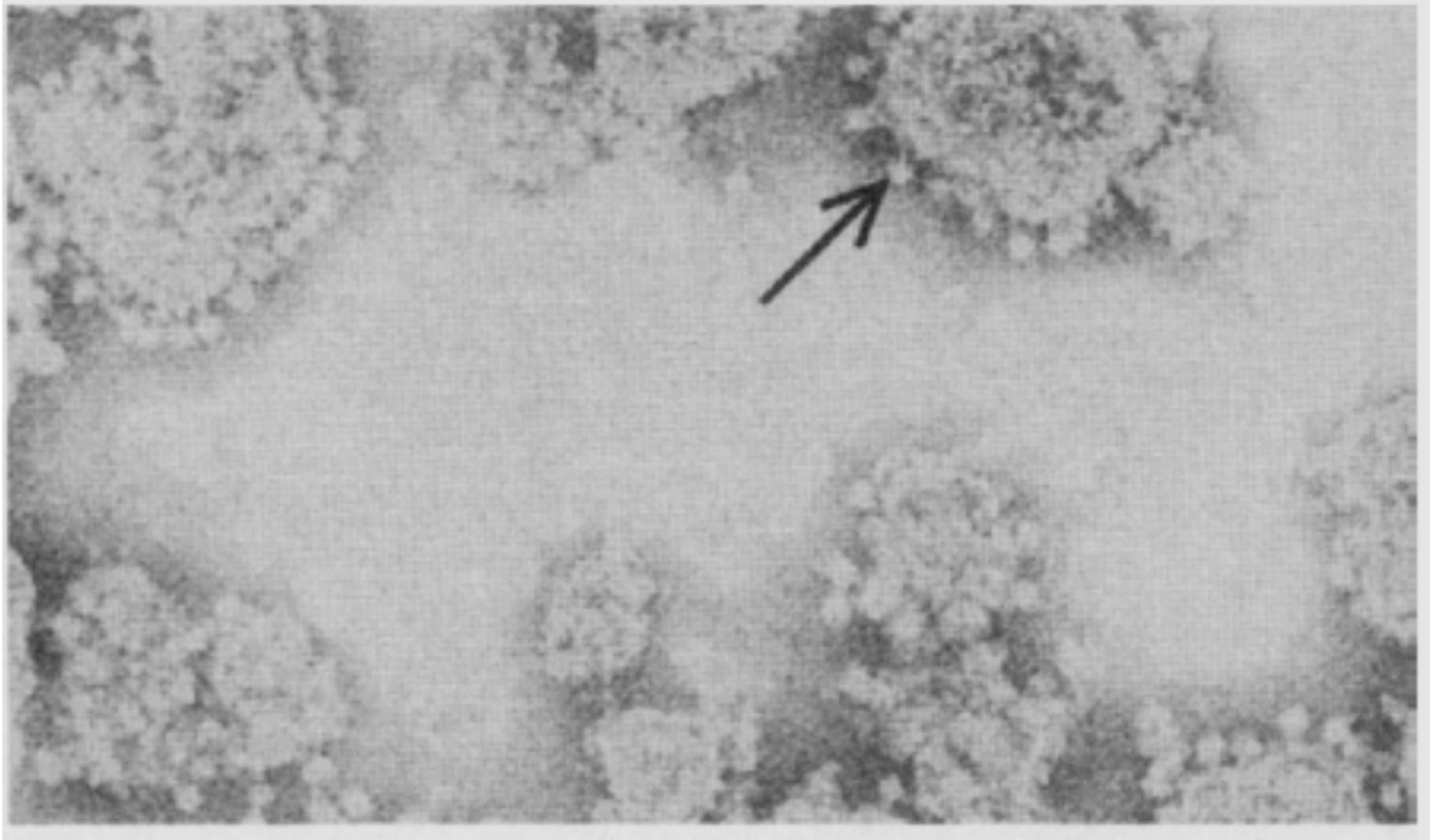




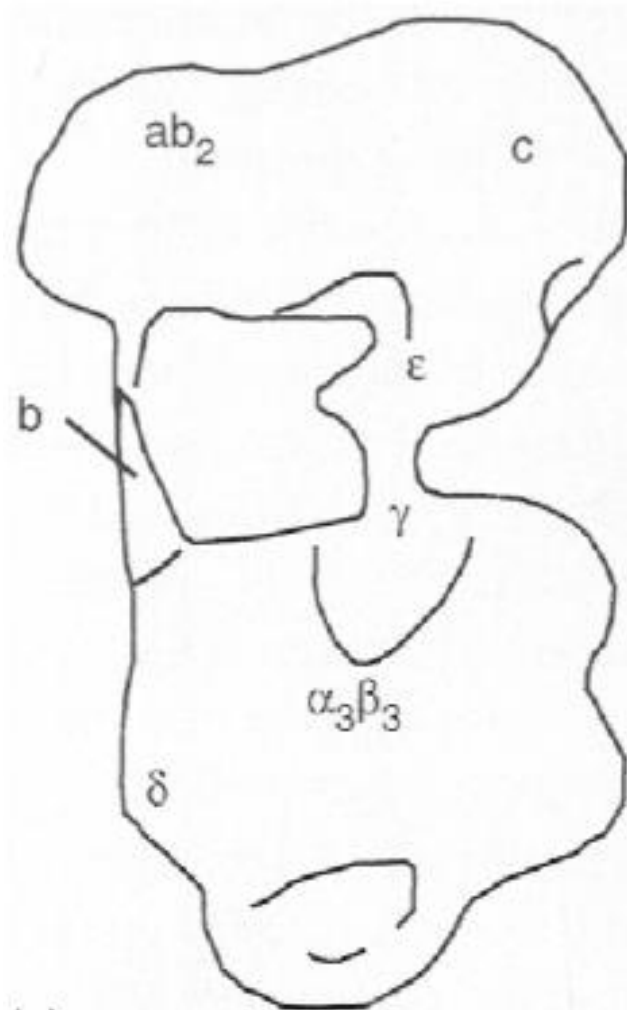


● ATP synthase

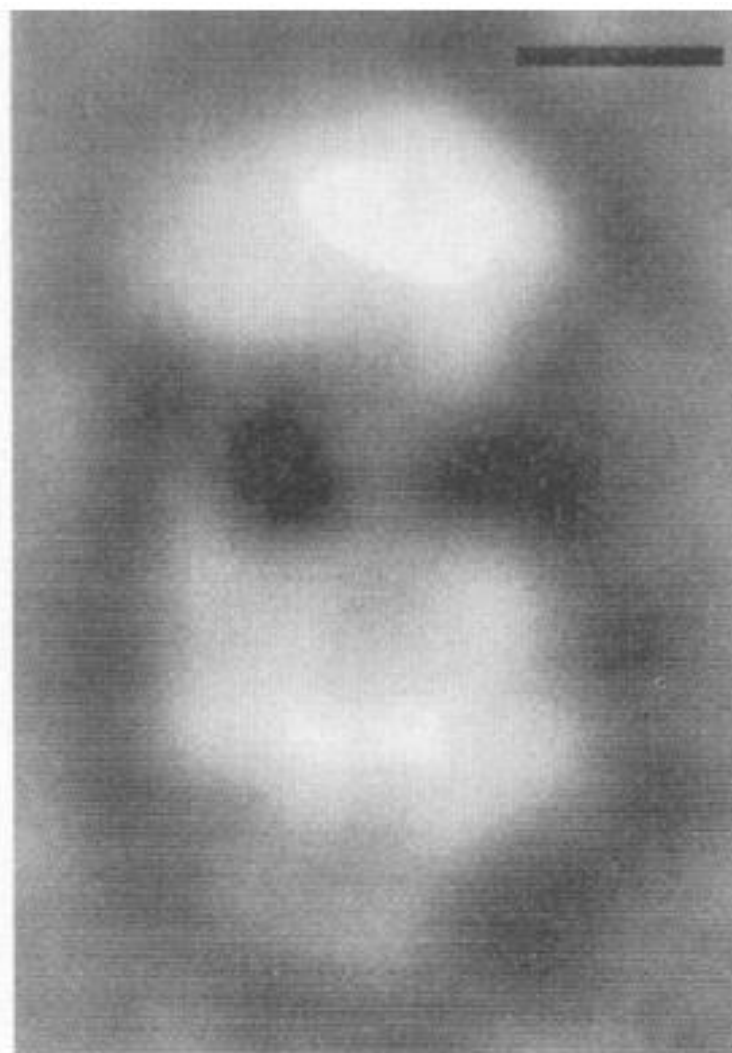




Partícula F1 (175.000X)



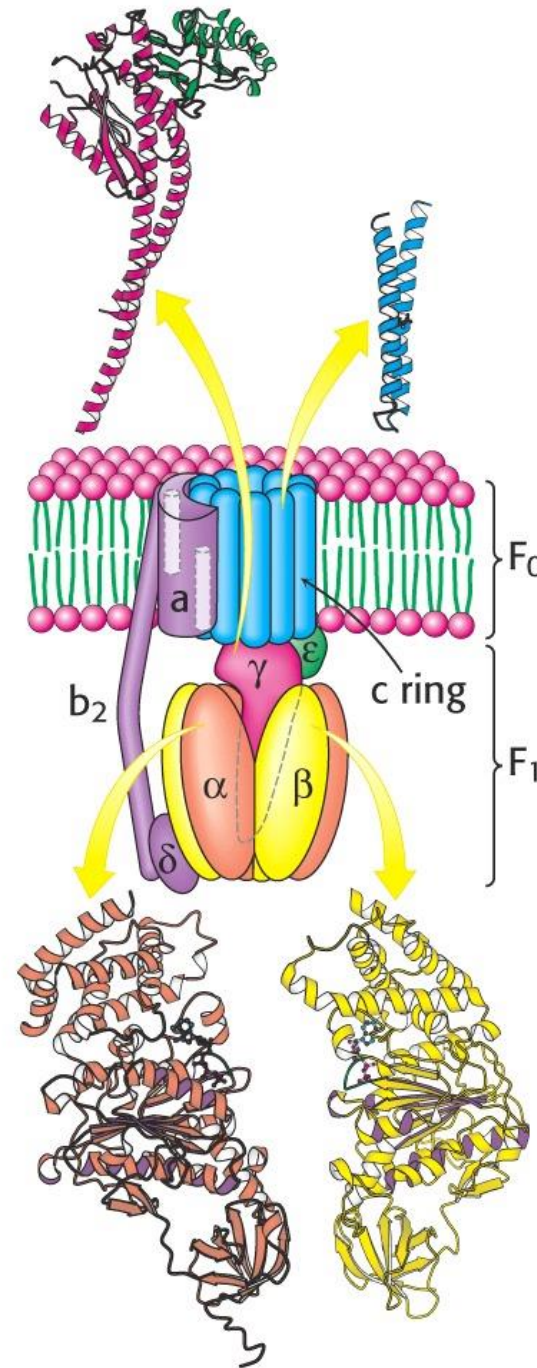
(e)

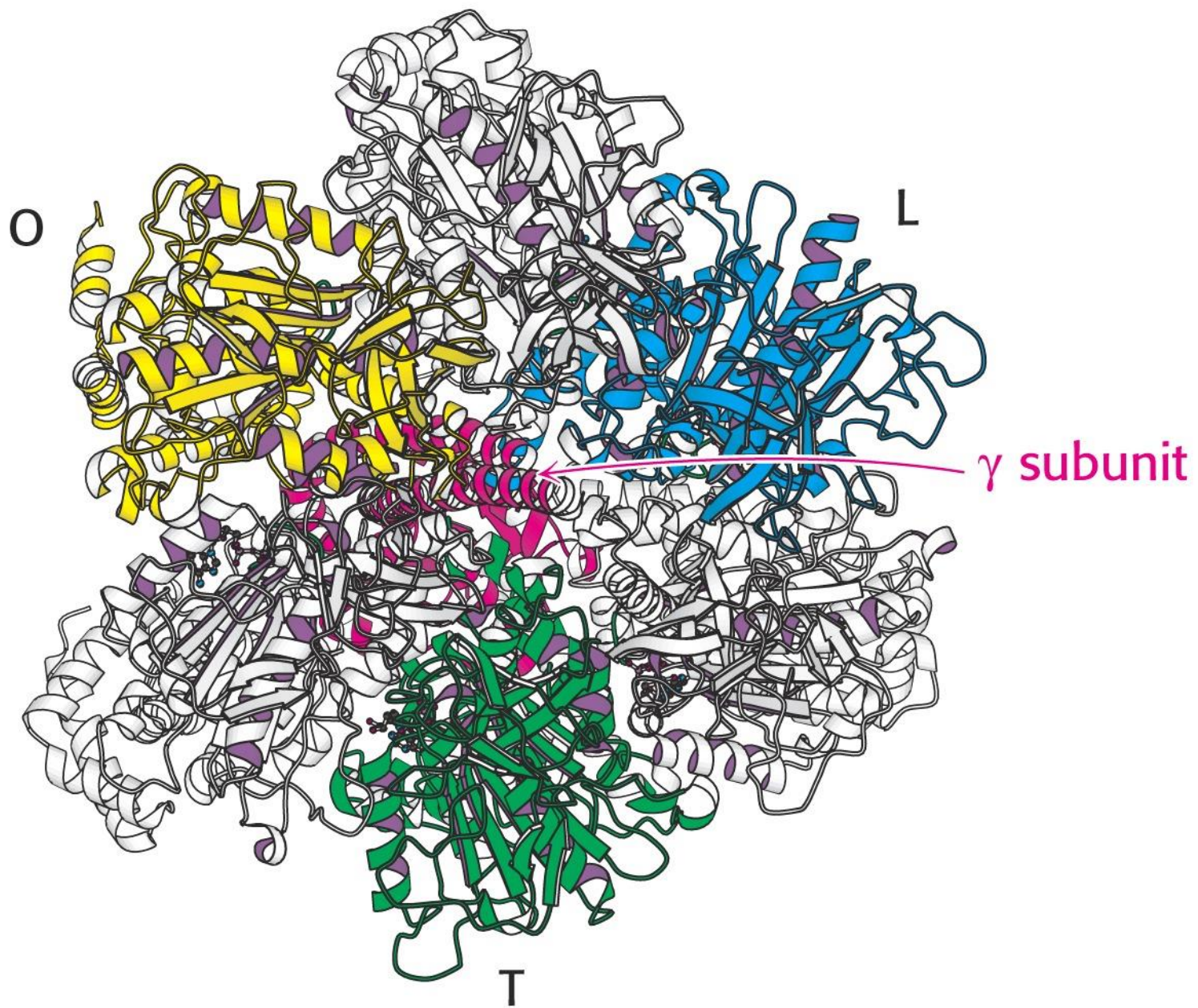


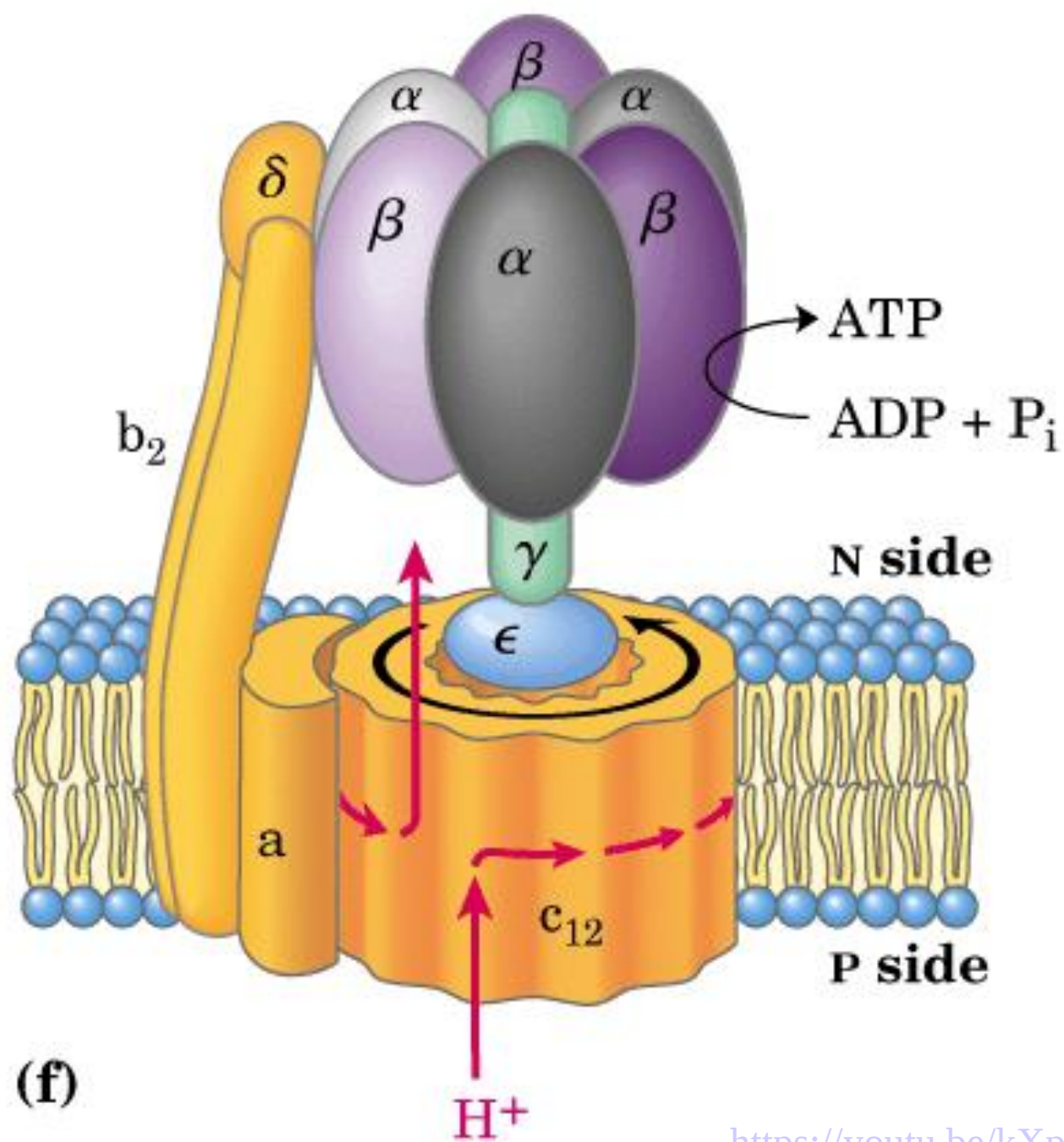
ATP sintasa (complejo F_0F_1)

El complejo F_0 tiene 3 tipos de subunidades a, b y c ($\mathbf{ab}_2\mathbf{c}_{10-12}$)

El complejo F_1 tiene 5 tipos diferentes de subunidades:
 $\alpha_3\beta_3\gamma\delta\epsilon$







Potenciales estandar de reducción de la cadena respiratoria y transportadores de electrones relacionados

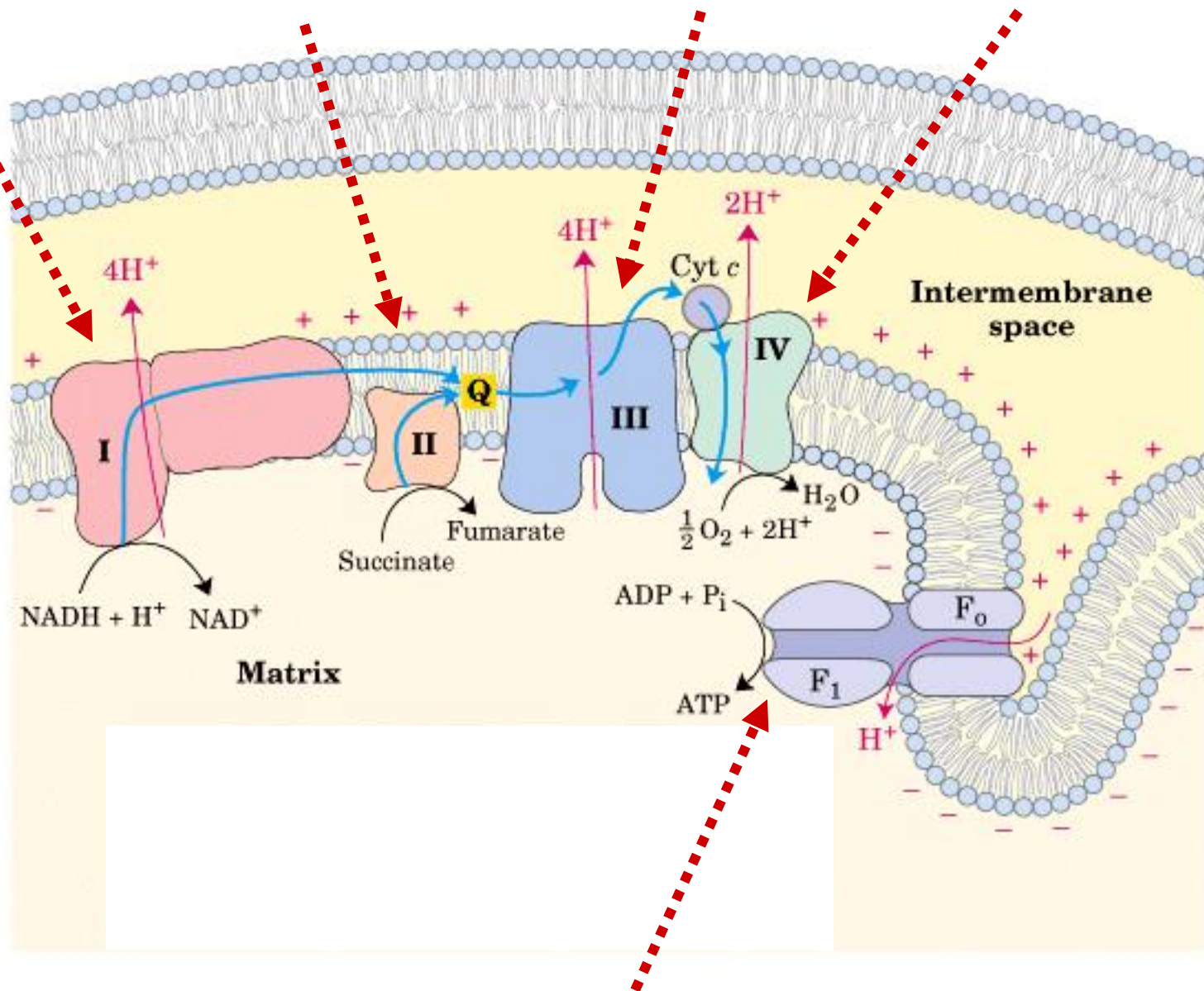
Reacción redox (semi-reacción)	<i>E'</i> ° (V)
2H ⁺ + 2e ⁻ → H ₂	-0.414
NAD ⁺ + H ⁺ + 2e ⁻ → NADH	-0.320
NADP ⁺ + H ⁺ + 2e ⁻ → NADPH	-0.324
NADH dehydrogenase (FMN) + 2H ⁺ + 2e ⁻ → NADH dehydrogenase (FMNH ₂)	-0.30
Ubiquinone + 2H ⁺ + 2e ⁻ → ubiquinol	0.045
Cytochrome <i>b</i> (Fe ³⁺) + e ⁻ → cytochrome <i>b</i> (Fe ²⁺)	0.077
Cytochrome <i>c</i> ₁ (Fe ³⁺) + e ⁻ → cytochrome <i>c</i> ₁ (Fe ²⁺)	0.22
Cytochrome <i>c</i> (Fe ³⁺) + e ⁻ → cytochrome <i>c</i> (Fe ²⁺)	0.254
Cytochrome <i>a</i> (Fe ³⁺) + e ⁻ → cytochrome <i>a</i> (Fe ²⁺)	0.29
Cytochrome <i>a</i> ₃ (Fe ³⁺) + e ⁻ → cytochrome <i>a</i> ₃ (Fe ²⁺)	0.55
$\frac{1}{2}$ O ₂ + 2H ⁺ + 2e ⁻ → H ₂ O	0.816

Complejo I

Complejo II

Complejo III

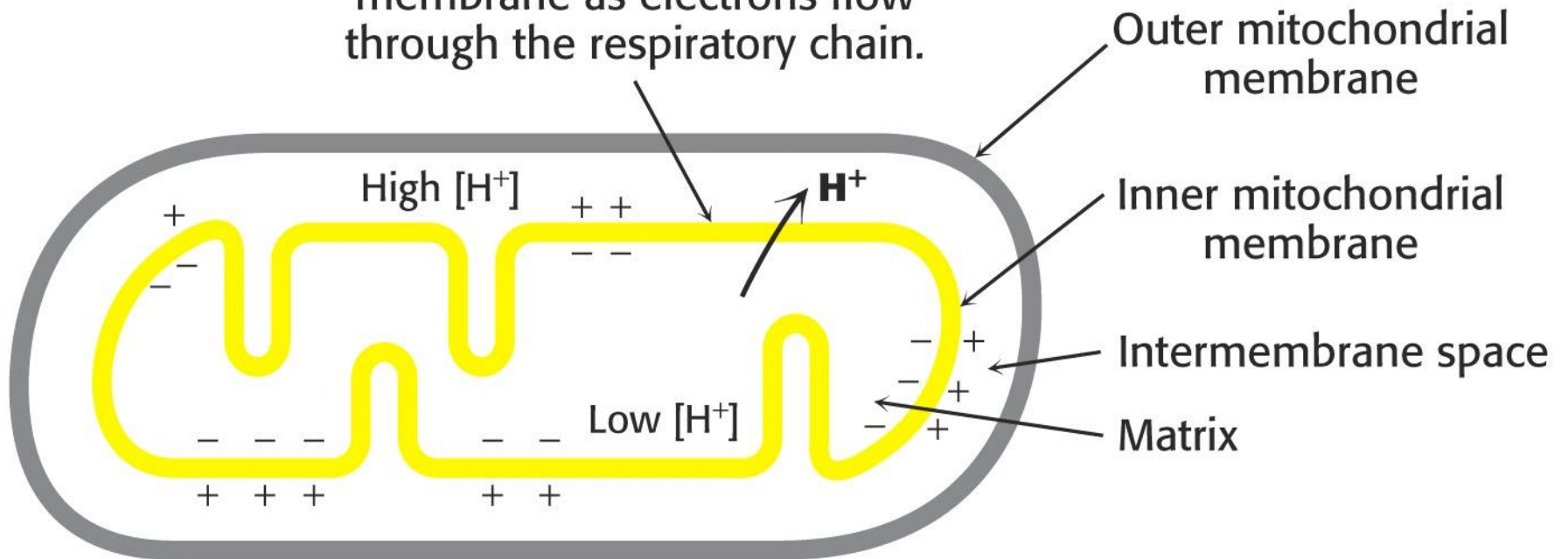
Complejo IV



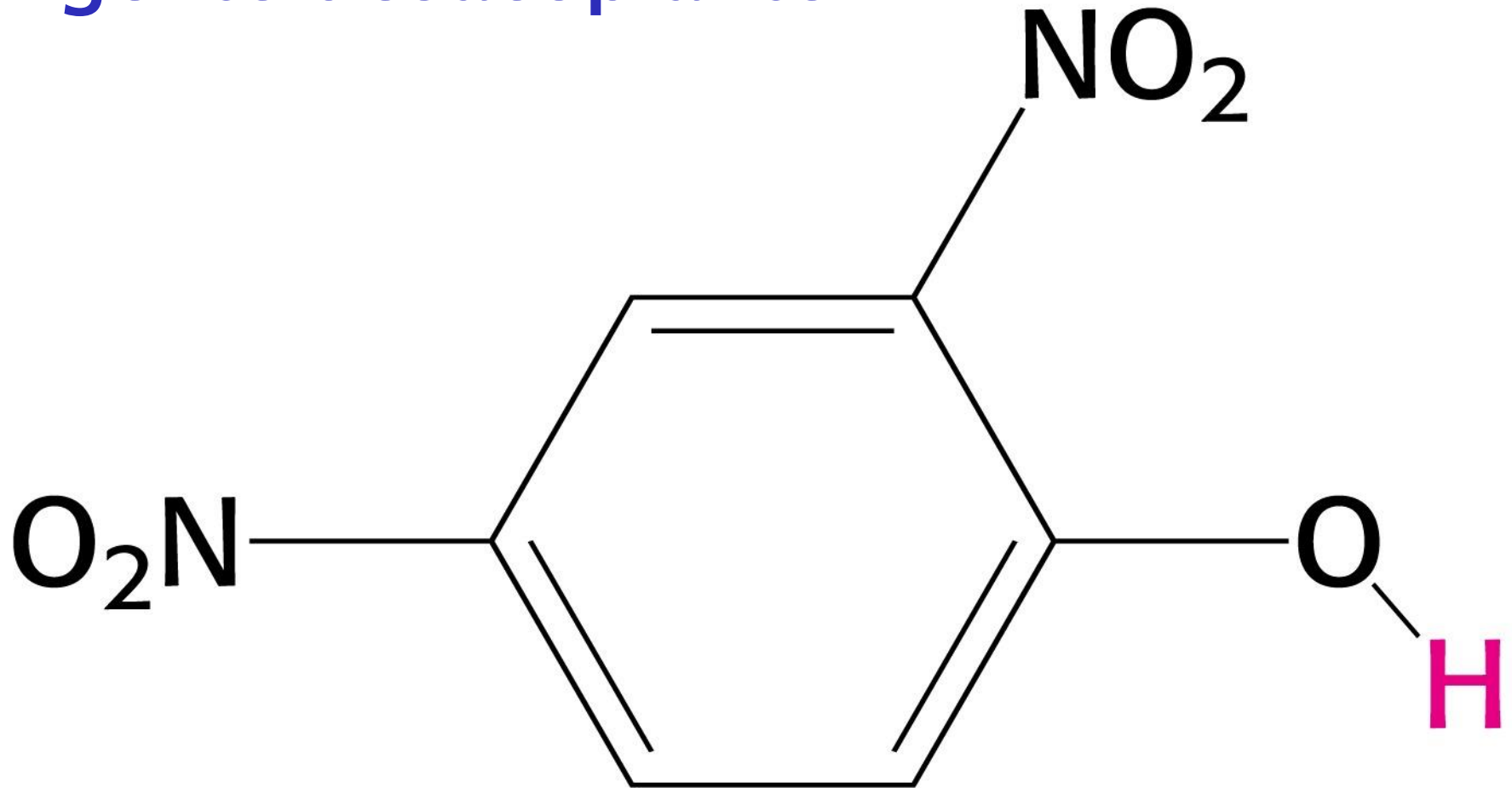
Complejo IV



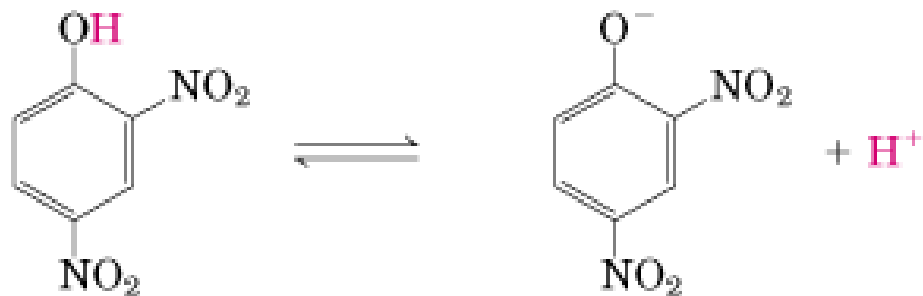
Protons are pumped across this membrane as electrons flow through the respiratory chain.



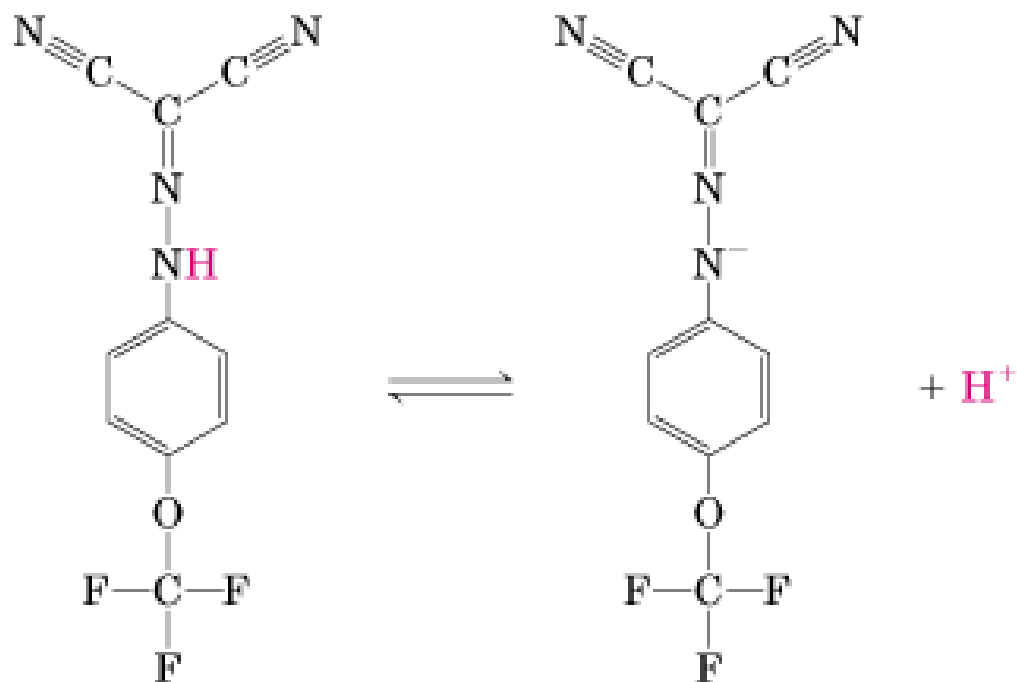
Agente desacoplante



2,4 – Dinitrofenol (DNP)



2,4-dinitrofenol



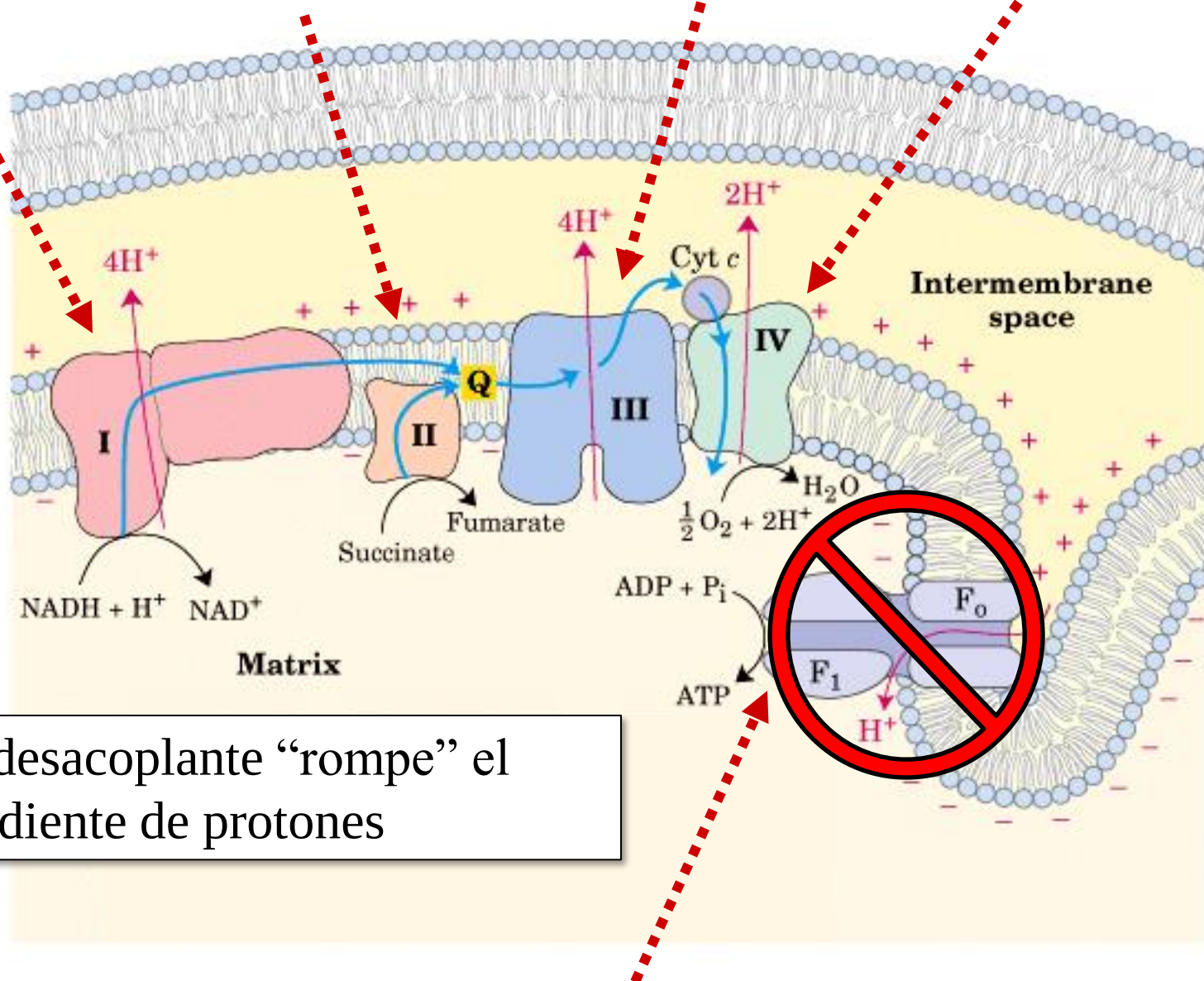
Carbonilcianuro-p-trifluorometoxifenilhidrazona
(FCCP)

Complejo I

Complejo II

Complejo III

Complejo IV

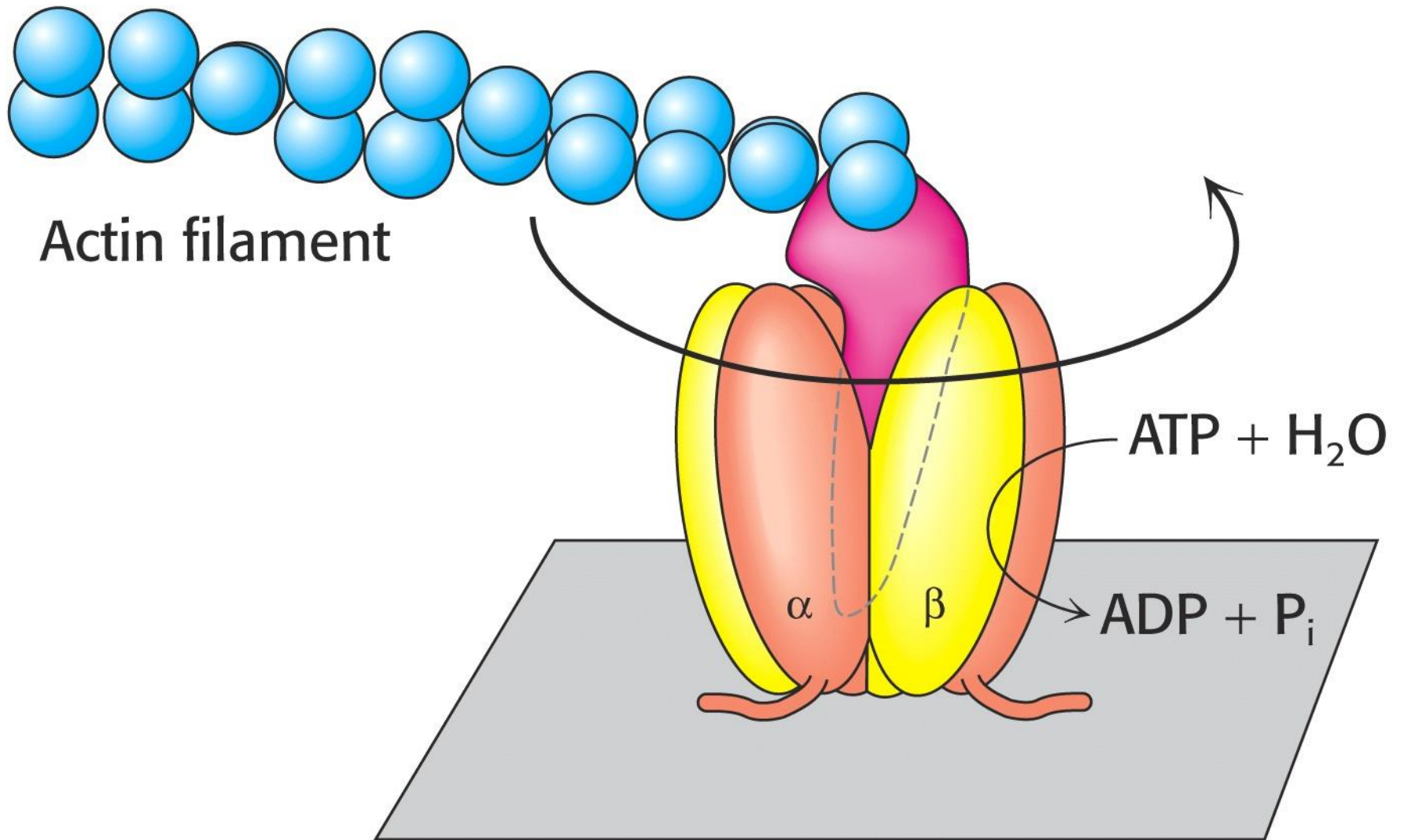


El desacoplante “rompe” el gradiente de protones

ATP sintasa

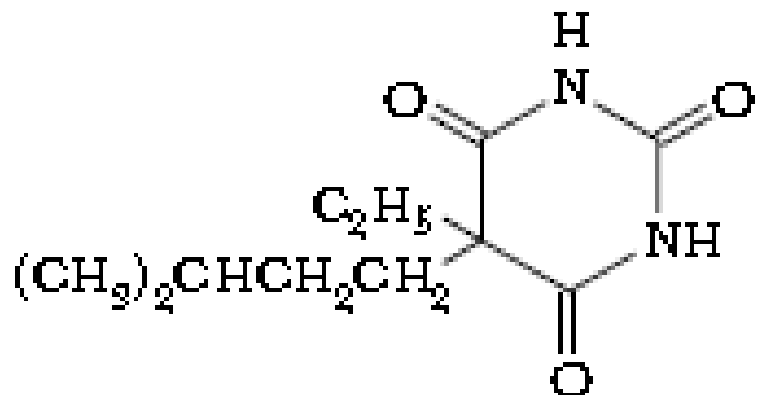
Yasuda y colaboradores, en 1998 publicaron en la revista Cell, una demostración de la rotación de la porción F1-ATPasa de la ATP sintasa mitocondrial.

Cell 1998, 93:1117-1124

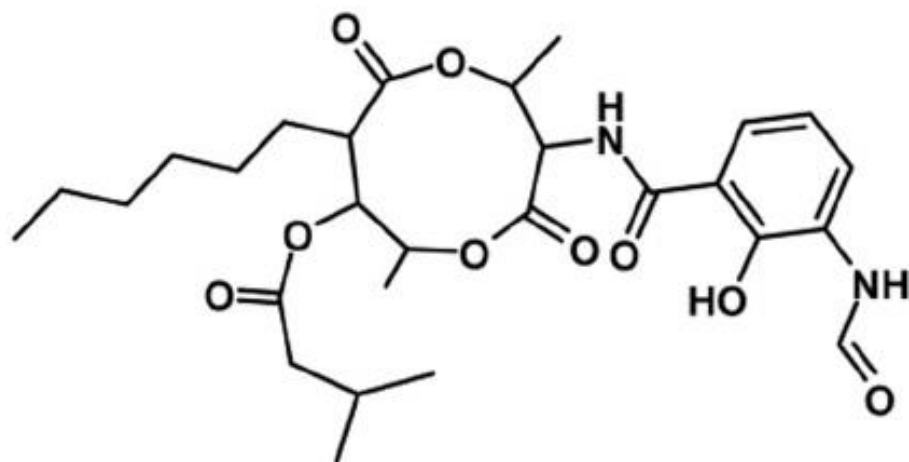


Inhibidores de la Fosforilación Oxidativa

Nombre	Función	Sitio de Acción
Rotenona	inhibidor del transporte de e^-	Complejo I
Amital	inhibidor del transporte de e^-	Complejo I
Antimicina A	inhibidor del transporte de e^-	Complejo III
Cianuro	inhibidor del transporte de e^-	Complejo IV
Monóxido de Carbono	inhibidor del transporte de e^-	Complejo IV
Azida	inhibidor del transporte de e^-	Complejo IV
2,4,-dinitrofenol	Agente desacoplante	Transportador transmembrana de H^+
Pentaclorofenol	Agente desacoplante	Transportador transmembrana de H^+
Oligomicina	Inhibe la sintasa de ATP	Fracción OSCP de la sintasa de ATP

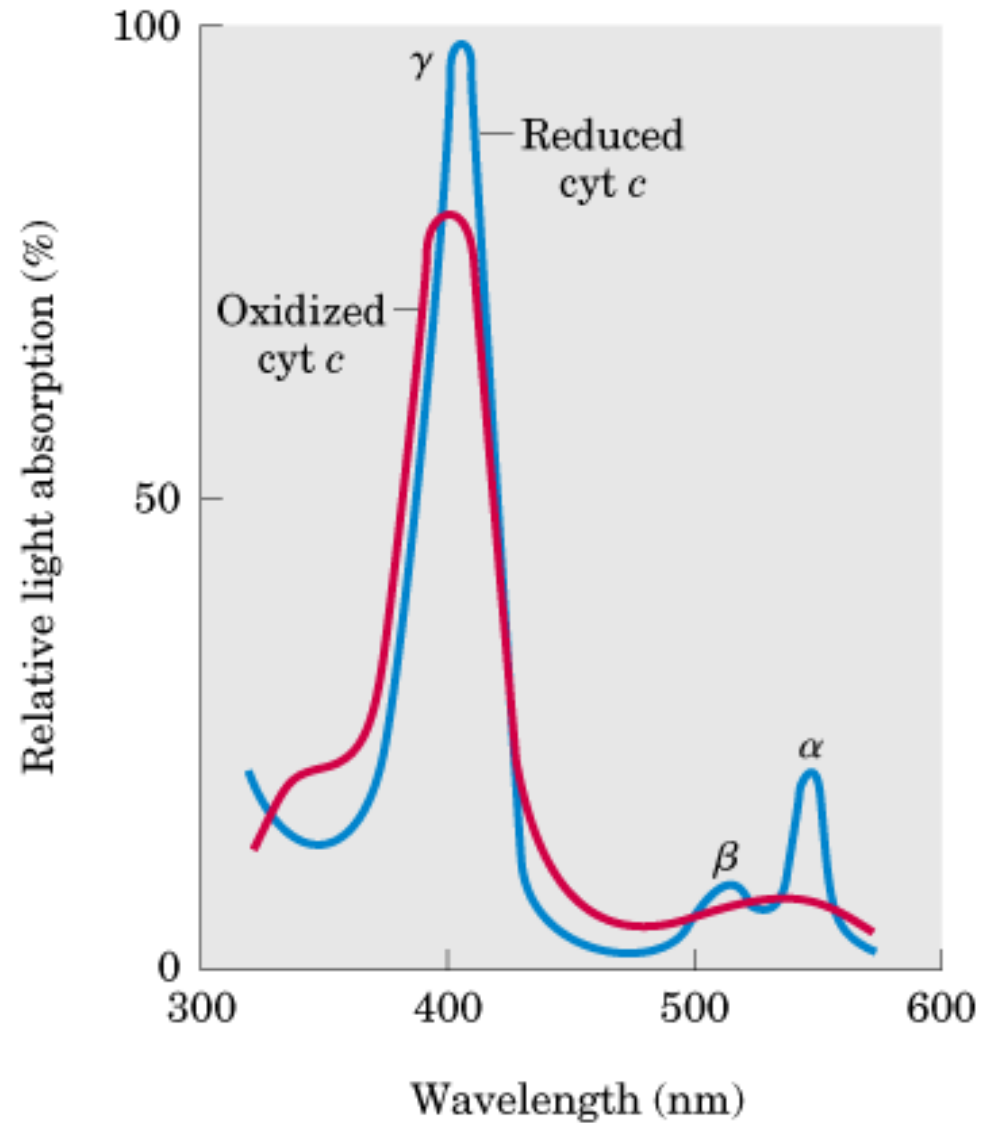


Amytal
(amobarbital)



Antimicina A1

Se puede distinguir la forma redox del citocromo por su espectro de absorción de luz



El uso de inhibidores específicos ayudó a dilucidar el orden en que los complejos participaban en la cadena transportadora de electrones.

Reducido

Oxidados

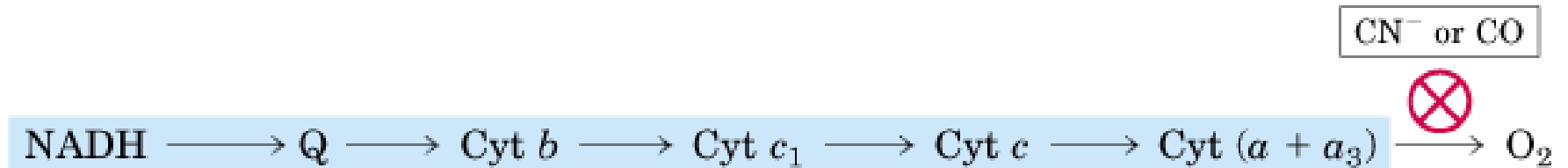
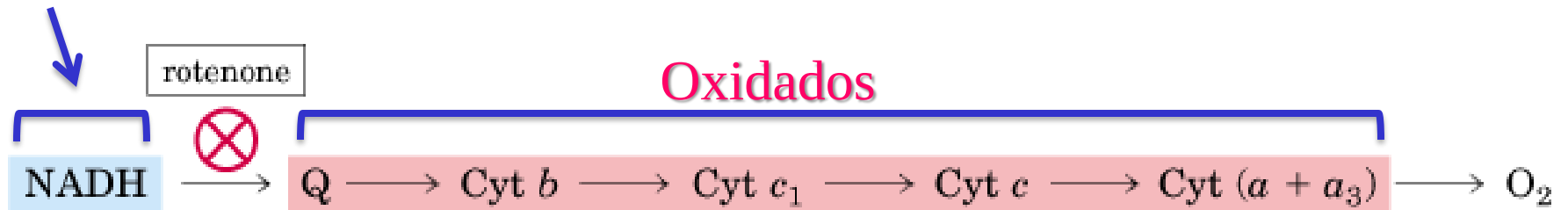


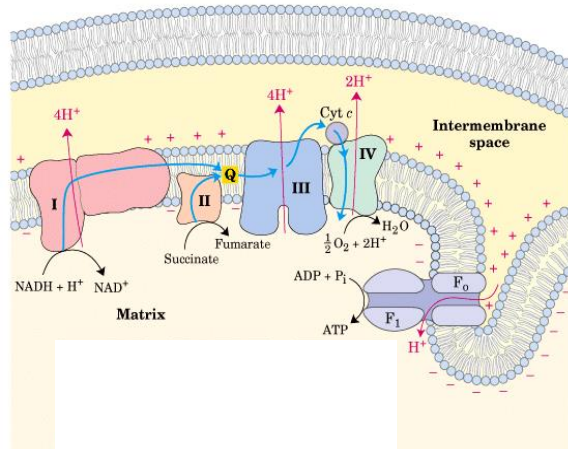
table 19–5

ATP Yield from Complete Oxidation of Glucose

Process	Direct product	Final ATP
Glycolysis	2 NADH (cytosolic)	3 or 5*
	2 ATP	2
Pyruvate oxidation (two per glucose)	2 NADH (mitochondrial matrix)	5
Acetyl-CoA oxidation in citric acid cycle (two per glucose)	6 NADH (mitochondrial matrix)	15
	2 FADH ₂	3
	2 ATP or 2 GTP	2
Total yield per glucose		30 or 32

*The number depends on which shuttle system transfers reducing equivalents into mitochondria.

Transporte de en la membrana interna



Intermembrane space

Matrix

Adenine nucleotide translocase (antiporter)

ATP⁴⁻
ADP³⁻

ATP⁴⁻
ADP³⁻

ATP synthase

H⁺

H⁺

Phosphate translocase (symporter)

H₂PO₄⁻

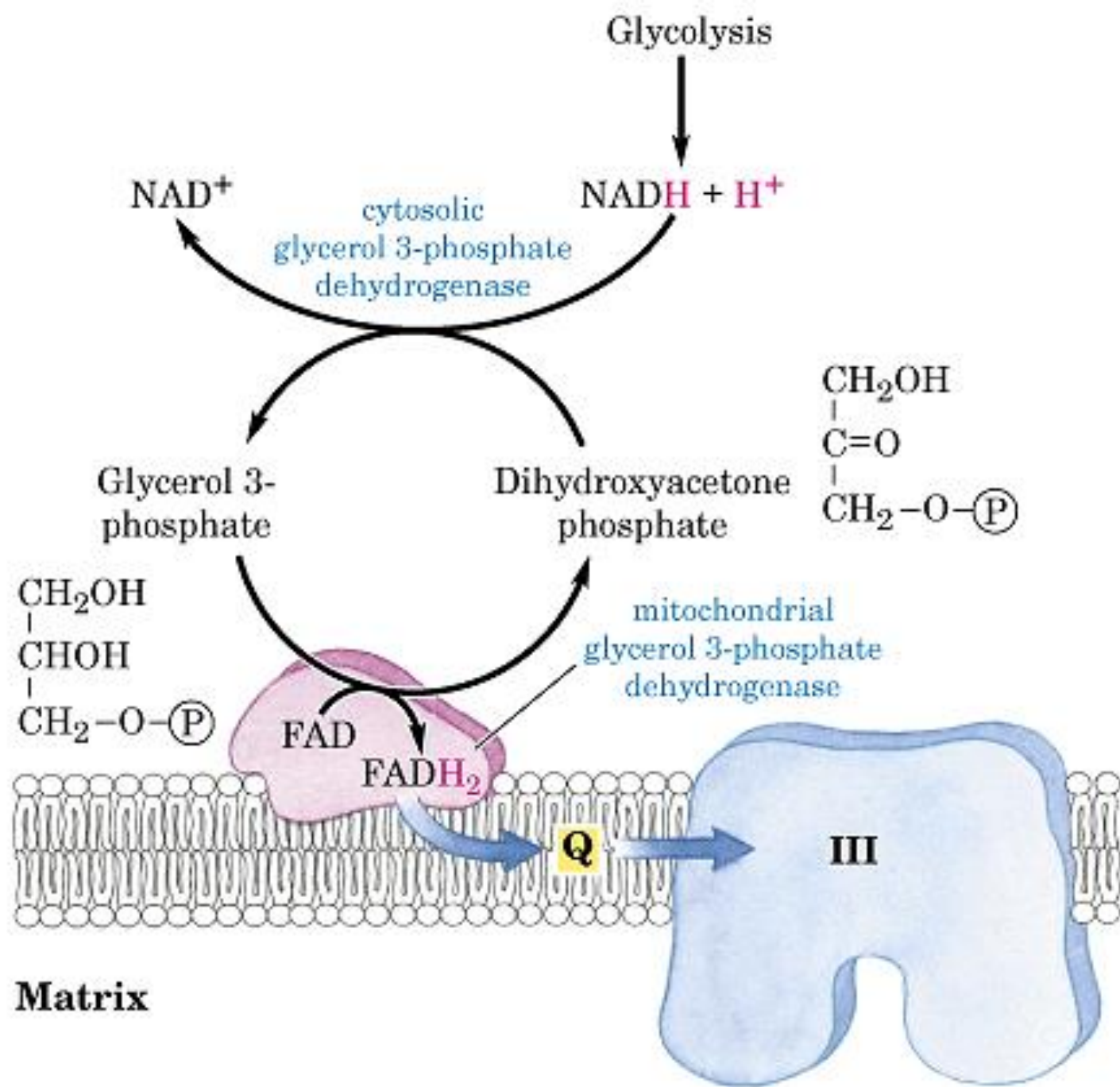
H₂PO₄⁻

H⁺

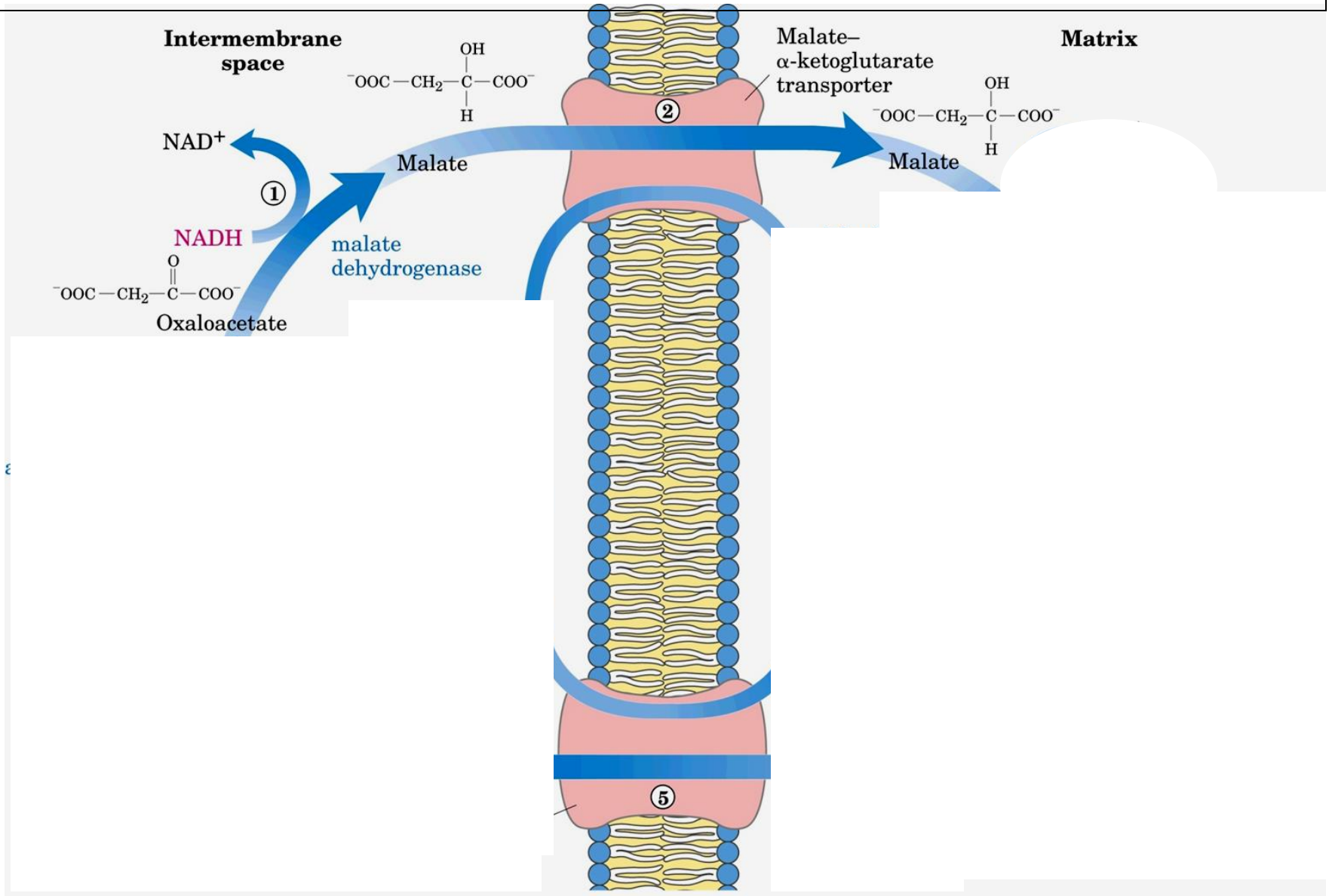
H⁺

La membrana interna de la mitocondria es impermeable al NADH.

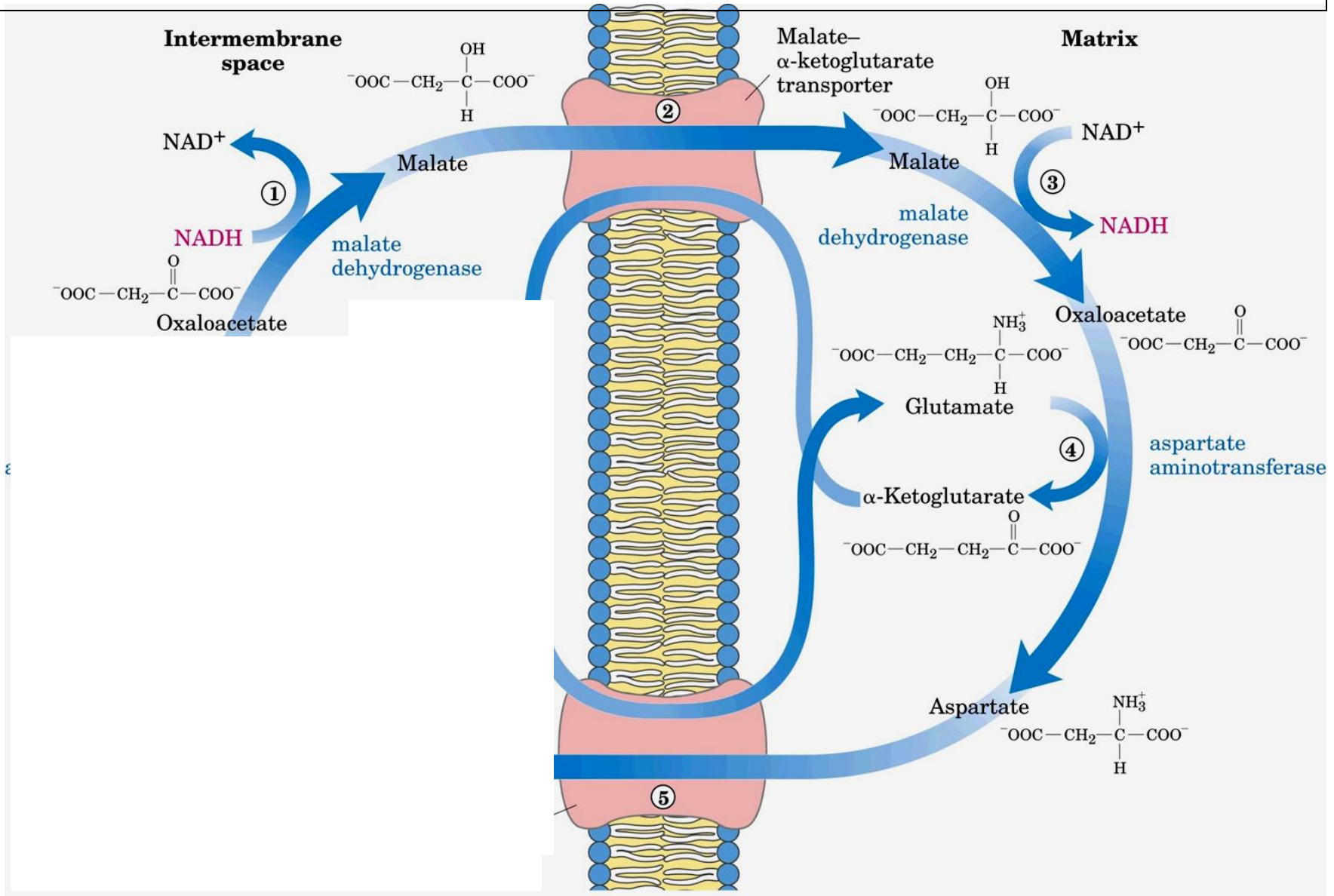
¿Cómo ingresa el NADH generado en el citosol a la matriz mitocondrial?



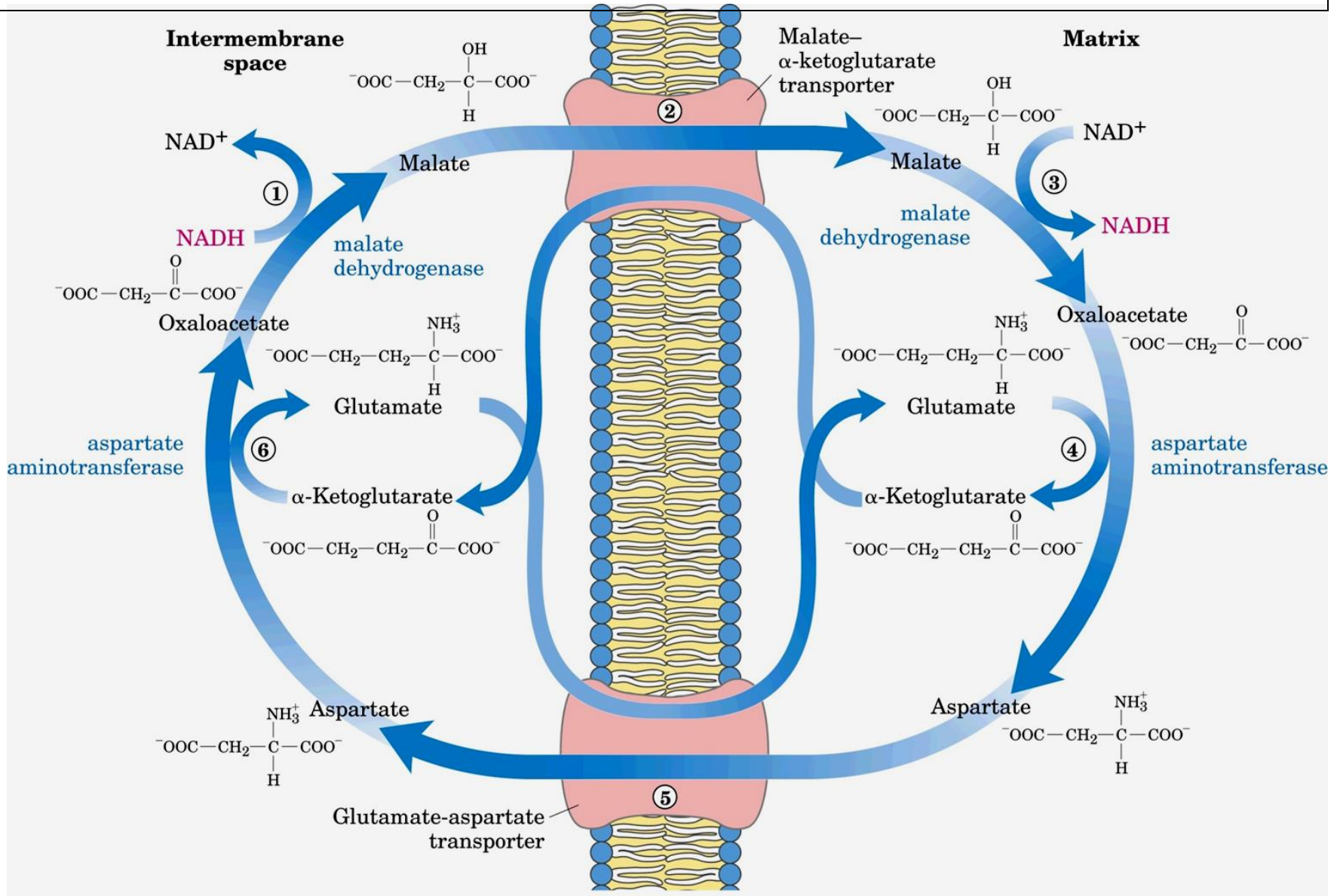
Lanzadera de malato-aspartato: permite el transporte de NADH desde el citosol hacia la mitocondria



Lanzadera de malato-aspartato: permite el transporte de NADH desde el citosol hacia la mitocondria



Lanzadera de malato-aspartato: permite el transporte de NADH desde el citosol hacia la mitocondria



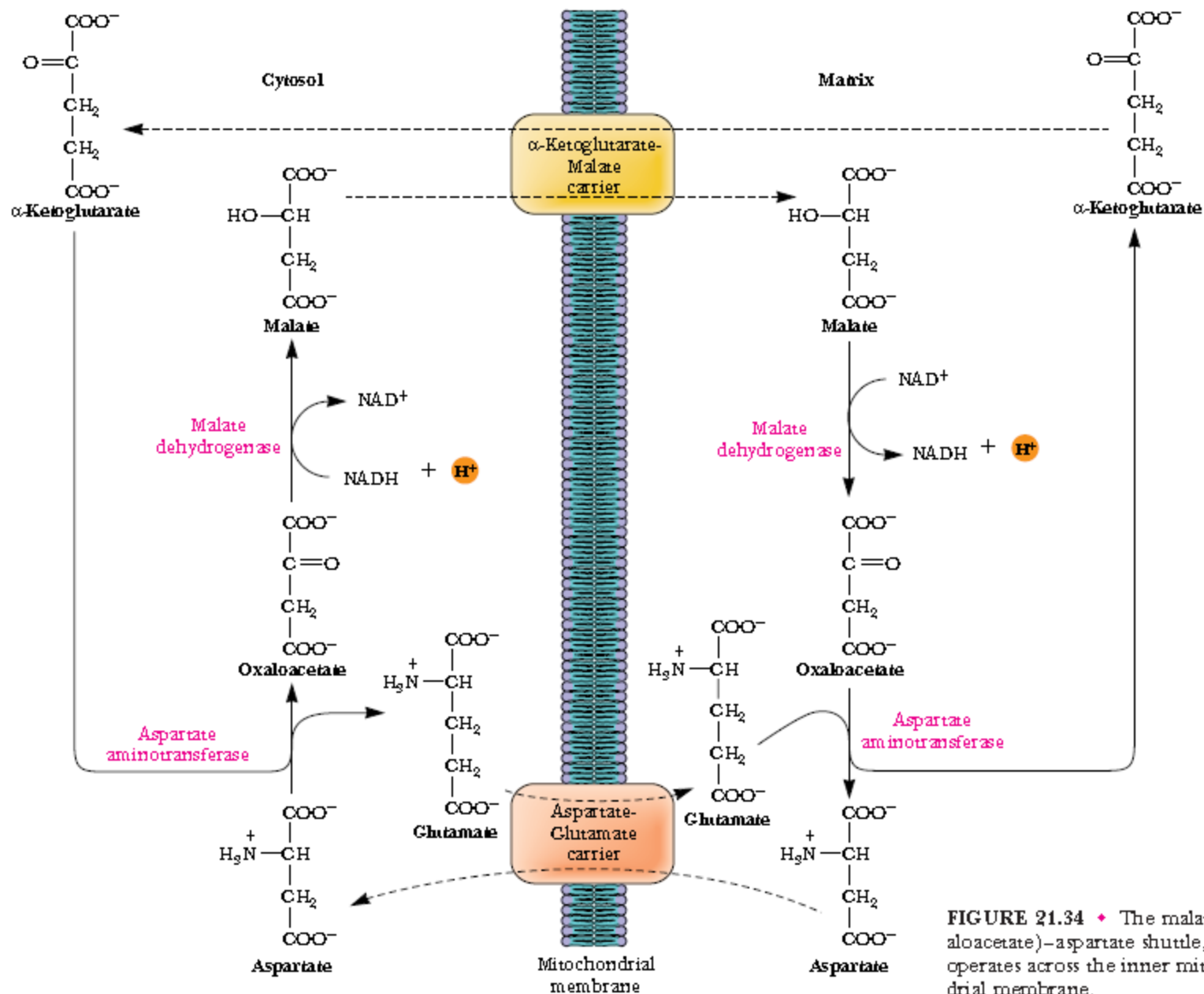


FIGURE 21.34 • The malate (oxaloacetate)-aspartate shuttle, which operates across the inner mitochondrial membrane.

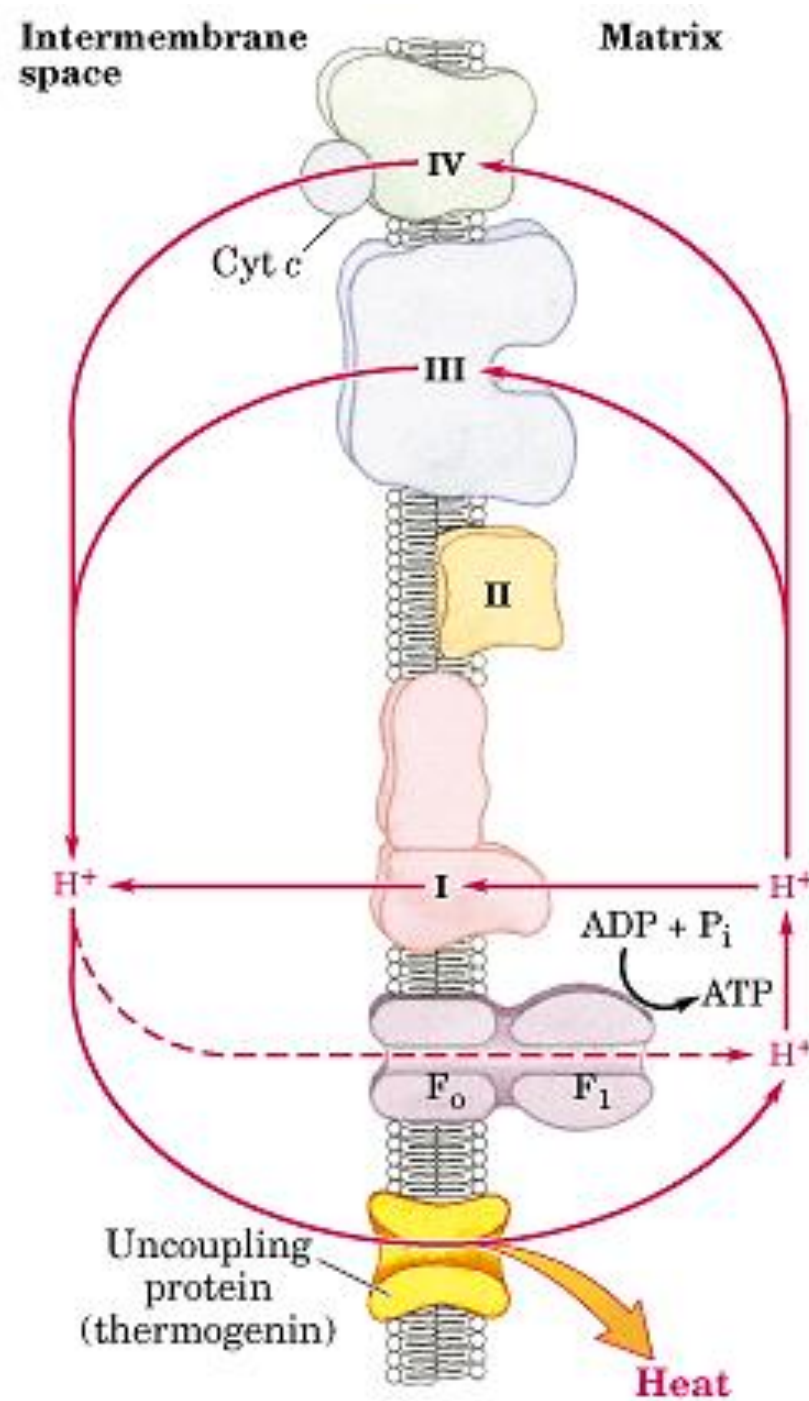
table 19–5

ATP Yield from Complete Oxidation of Glucose

Process	Direct product	Final ATP
Glycolysis	2 NADH (cytosolic)	3 or 5*
	2 ATP	2
Pyruvate oxidation (two per glucose)	2 NADH (mitochondrial matrix)	5
Acetyl-CoA oxidation in citric acid cycle (two per glucose)	6 NADH (mitochondrial matrix)	15
	2 FADH ₂	3
	2 ATP or 2 GTP	2
Total yield per glucose		30 or 32

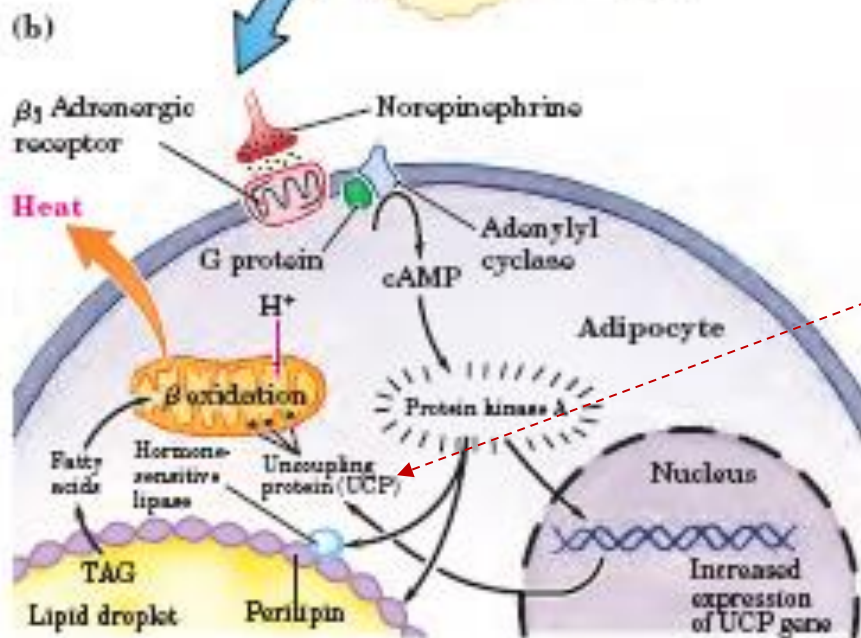
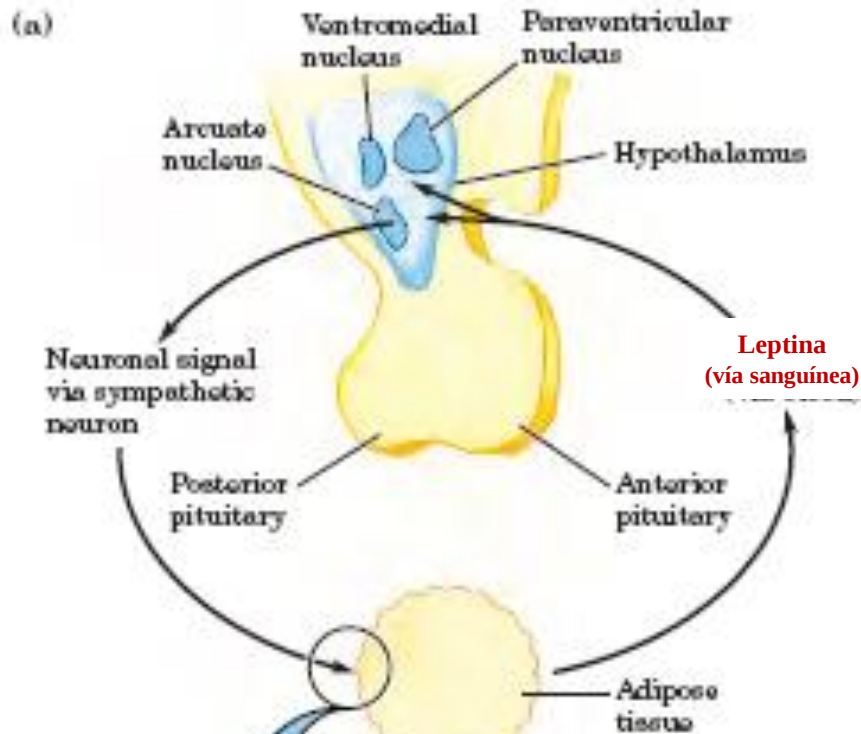
*The number depends on which shuttle system transfers reducing equivalents into mitochondria.

Termogenina





La rata obesa fue manipulada genéticamente. No tiene el gen que codifica para la leptina. Ambas ratas tienen la misma dieta. El exceso de alimentos induce normalmente termogénesis.

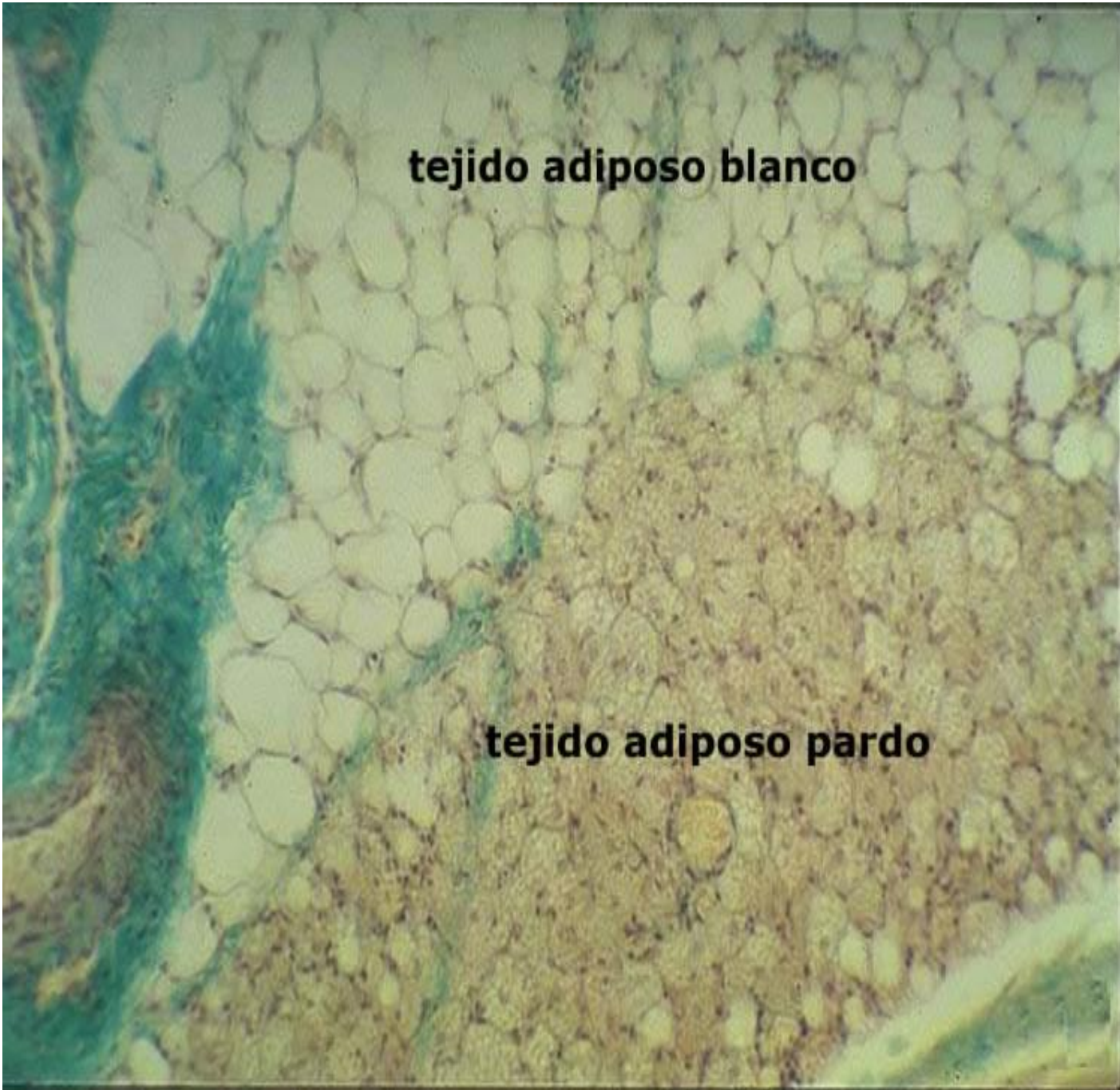


TERMOGÉNESIS. Regulación hipotalámica de la ingesta de alimentos y liberación de energía calórica. (a) Anatomía del hipotálamo. (b) Interacción entre el hipotálamo y un adipocito.

“Uncoupling Protein” UCP

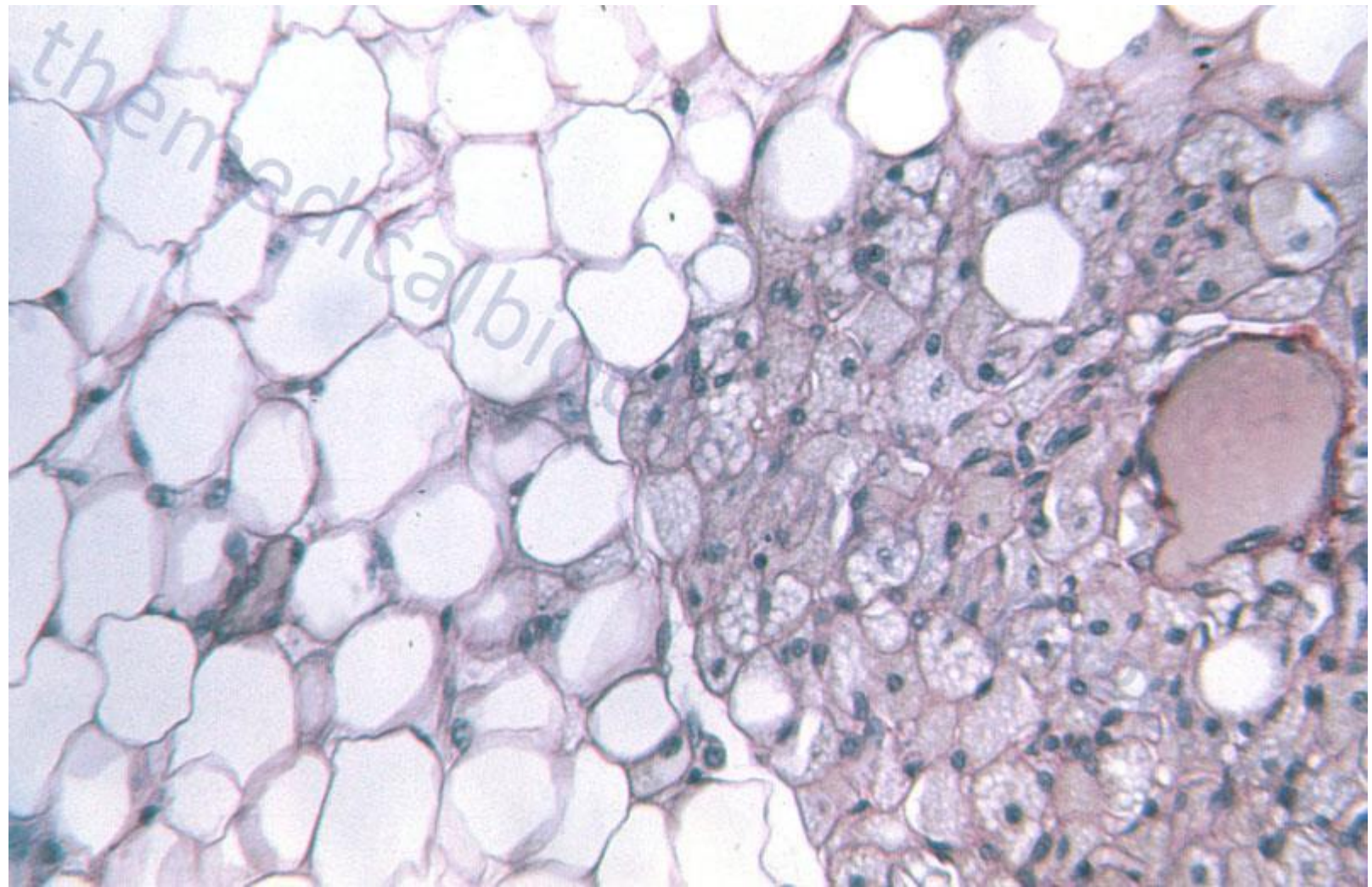


Obesity caused by defective leptin production. Both these mice, which are the same age, have defects in the OB gene. The mouse on the right was provided with purified leptin by daily injection, and weighs 35 g. The mouse on the left got no leptin, consequently ate more food and was less active, and weighs 67 g.

A microscopic image showing two types of adipose tissue. The upper portion contains white adipose tissue, characterized by large, clear, circular lipid droplets. The lower portion contains brown adipose tissue, which has a more granular appearance with smaller lipid droplets and more visible nuclei. A vertical band of green-stained connective tissue separates the two regions.

tejido adiposo blanco

tejido adiposo pardo



Hibernación



El frío induce termogénesis



Termogénesis en plantas







Proteínas de desacoplamiento (UCP): desacoplan la fosforilación oxidativa (protonóforos)

	Función	Distribución tisular	Regulación por hormonas tiroideas	Otros reguladores
UCP1 (Termogenina)	• Termogénesis sin escalofrío en neonatos y en mamíferos no primates.	Tejido adiposo pardo (<i>TAP-BAT</i>)	• Aumentan la transcripción. • Aumentan la sensibilidad a las catecolaminas por sobreregulación de receptores β_3. • Hipertiroidismo: inhibición paradójica de la termogénesis en <i>TAP</i>.	• Activación en el frío vía sistema simpaticoadrenal. • La leptina activa, en casos. • El ATP inhibe.
UCP2	• Regulación del peso corporal y del balance energético. • Defensa contra la generación de radicales libres. Fiebre.	La mayoría de los tejidos: músculos estriados esquelético y cardíaco, bazo, timo, leucocitos, hígado, <i>TAB</i> .	Baja respuesta.	• Leptina vía activación del sistema simpaticoadrenal. • La restricción calórica aumenta su RNAm • Ácidos grasos. • Catecolaminas vía receptores β_2. • El ATP inhibe.
UCP3	• Es el principal componente de la termogénesis sin escalofrío en los adultos.	Alta expresión en el músculo esquelético, baja en el cardíaco, <i>TAP</i> .	• Transcripción: baja en hipotiroidismo, alta en hipertiroidismo. • Aumenta la sensibilidad al estímulo simpático por sobreregulación del receptor β_3.	• Leptina vía activación del sistema simpaticoadrenal. • La restricción calórica aumenta su RNAm • Ácidos grasos. • Catecolaminas vía receptores β_2. • El ATP inhibe.
UCP4	• ¿Apoptosis?	Prototipo ancestral. Cerebro.		
BMCP (UCP5)		Cerebro.		

Electron potential
 ΔE

Heat
production

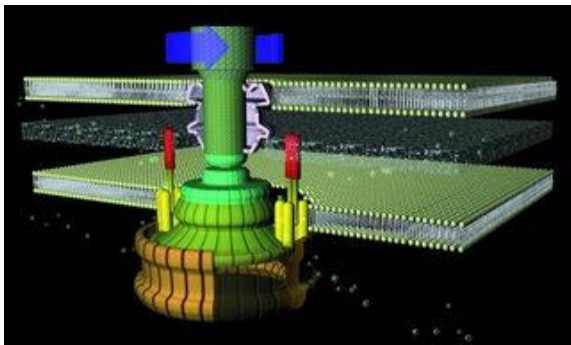
Active
transport

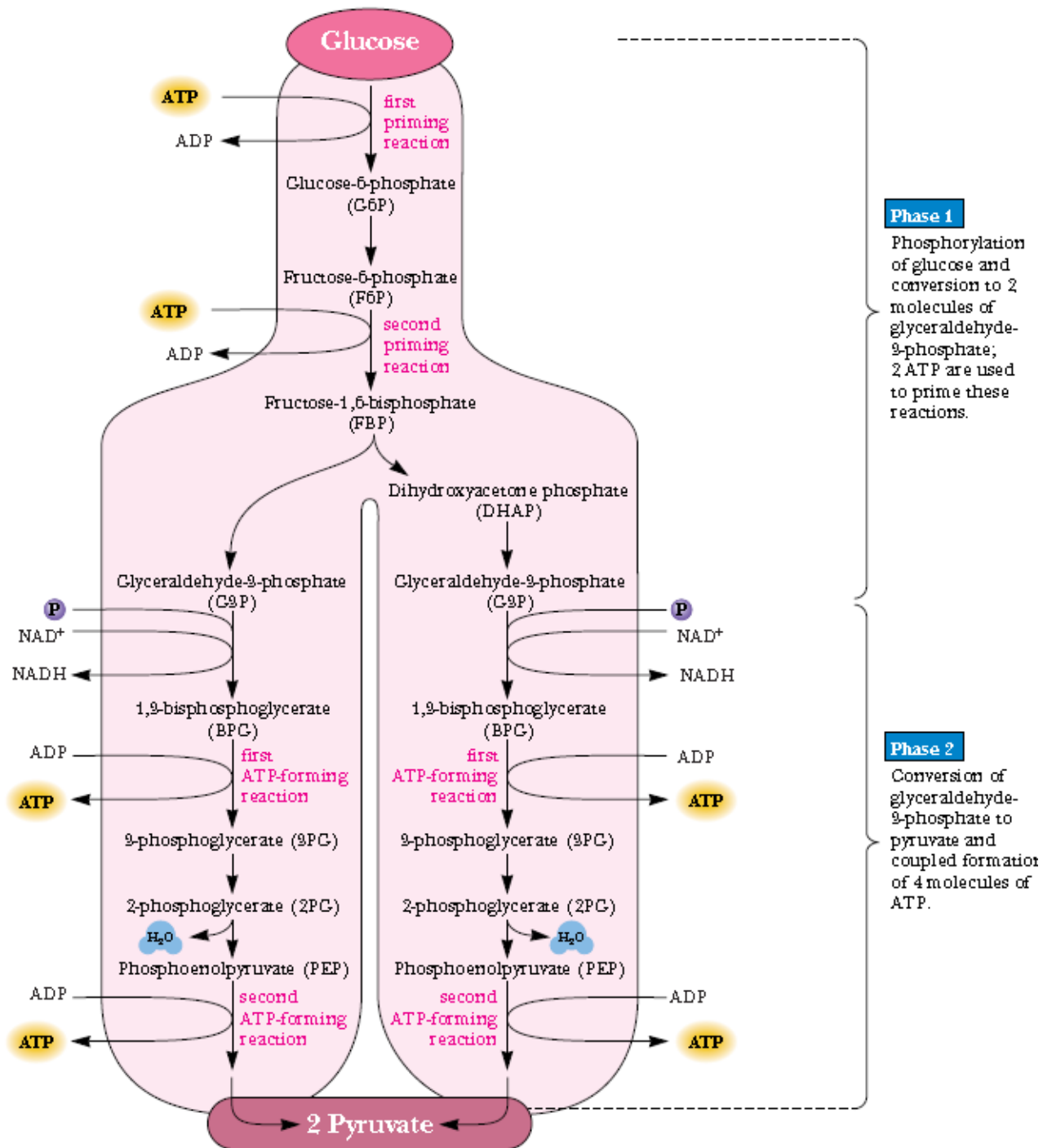
PROTON GRADIENT
 Δp

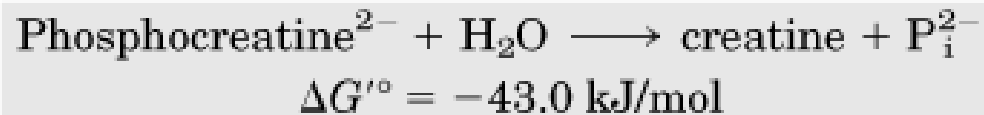
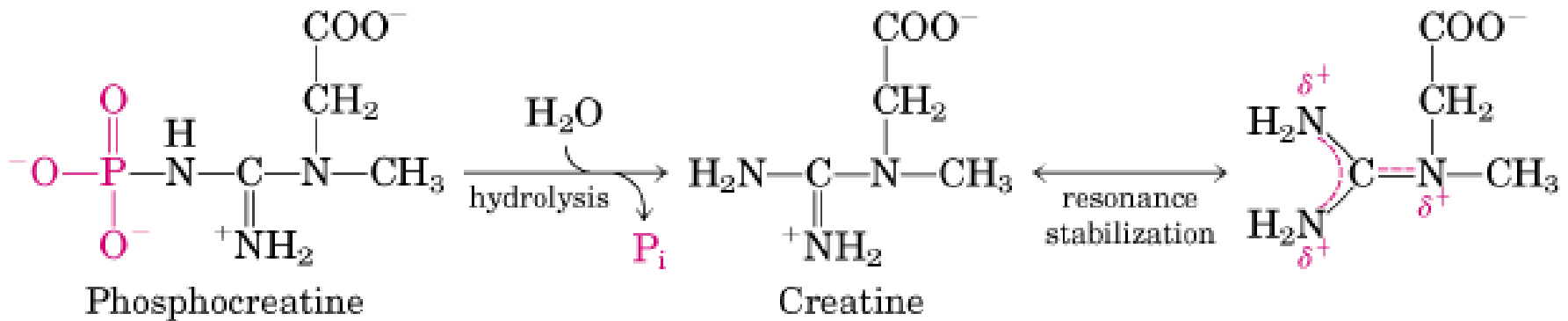
NADPH
synthesis

ATP
 $\sim P$

Flagellar
rotation







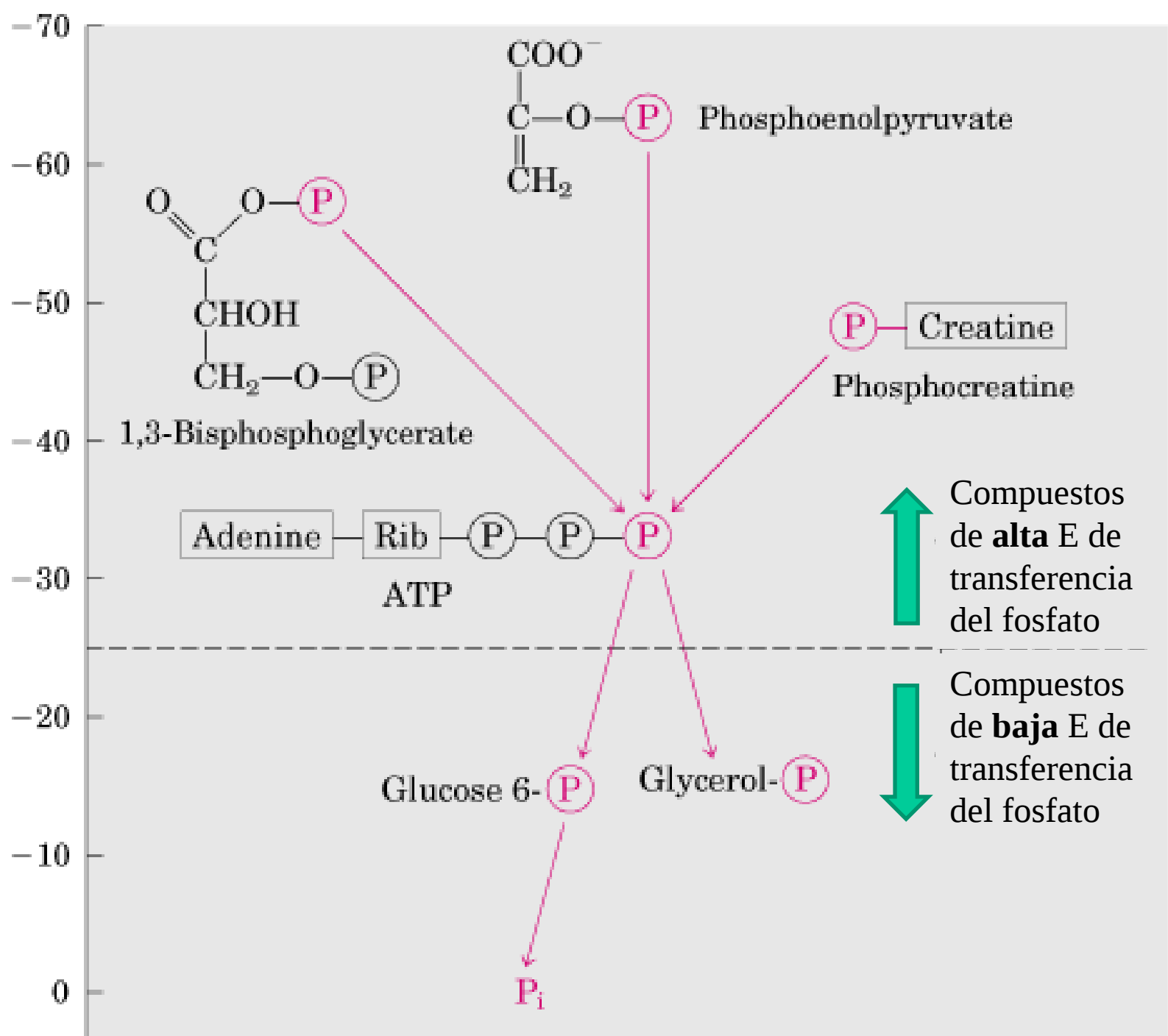
La fosfocreatina tiene tendencia a transferir el grupo fosfato. Puede transferirlo al ADP para formar ATP.



$$\Delta G = -12,5 \text{ kJ/mol}$$

El músculo esquelético tiene una concentración de 30 mM de fosfocreatina, diez veces más que [ATP]. De acuerdo al principio de Le Chatelier el equilibrio se puede desplazar hacia la formación de ATP si baja su concentración demasiado. Por lo tanto este sistema funciona como “buffer” de ATP. Estas sustancias se llaman **fosfágenos**.

$\Delta G'^0$ de hidrólisis (kJ/mol)



	Moles de ATP/min
Sistema de los fosfágenos	4
Sistema del glucógeno-ácido láctico	2,5
Sistema aeróbico	1

Cuando se comparan los mismos sistemas para la resistencia, los valores relativos son los siguientes:

	Tiempo
Sistema de los fosfágenos	De 8 a 10 s
Sistema del glucógeno-ácido láctico	De 1,3 a 1,6 min
Sistema aeróbico	Tiempo ilimitado (tanto como duren los nutrientes)

Un ser humano de 70 kg requiere en promedio 11.700 kJ de energía diariamente (2.800 kcalorías). Asumiendo una eficiencia de un 50% en la producción de ATP producto del metabolismo, si se ingiere el requerimiento diario de 11.700 kJ en forma de alimentos, se generaría una energía equivalente 5.400 kJ de síntesis de ATP. Si en condiciones celulares la hidrólisis de 1 mol de ATP genera aproximadamente 50 kJ de energía, esto equivale a **117 moles** .

Esto traducido a masa de ATP (masas molecular = 551) corresponde a 65 kg diarios !!!

Un ser humano de 70 kg contiene
aproximadamente 50 g de **ATP/ADP**

Por lo tanto el **ATP** debe ser reciclado
casi 1.300 veces diariamente