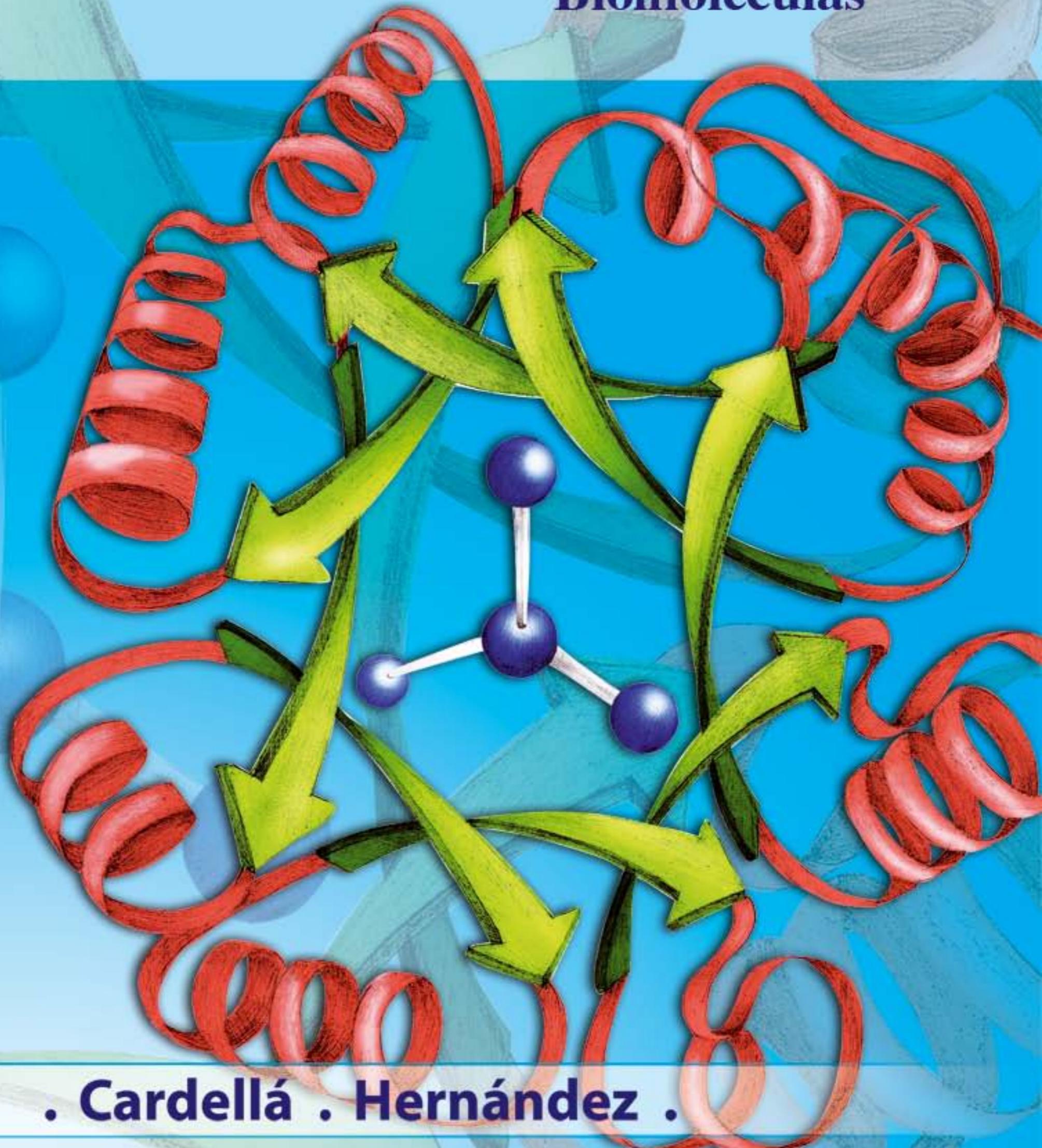
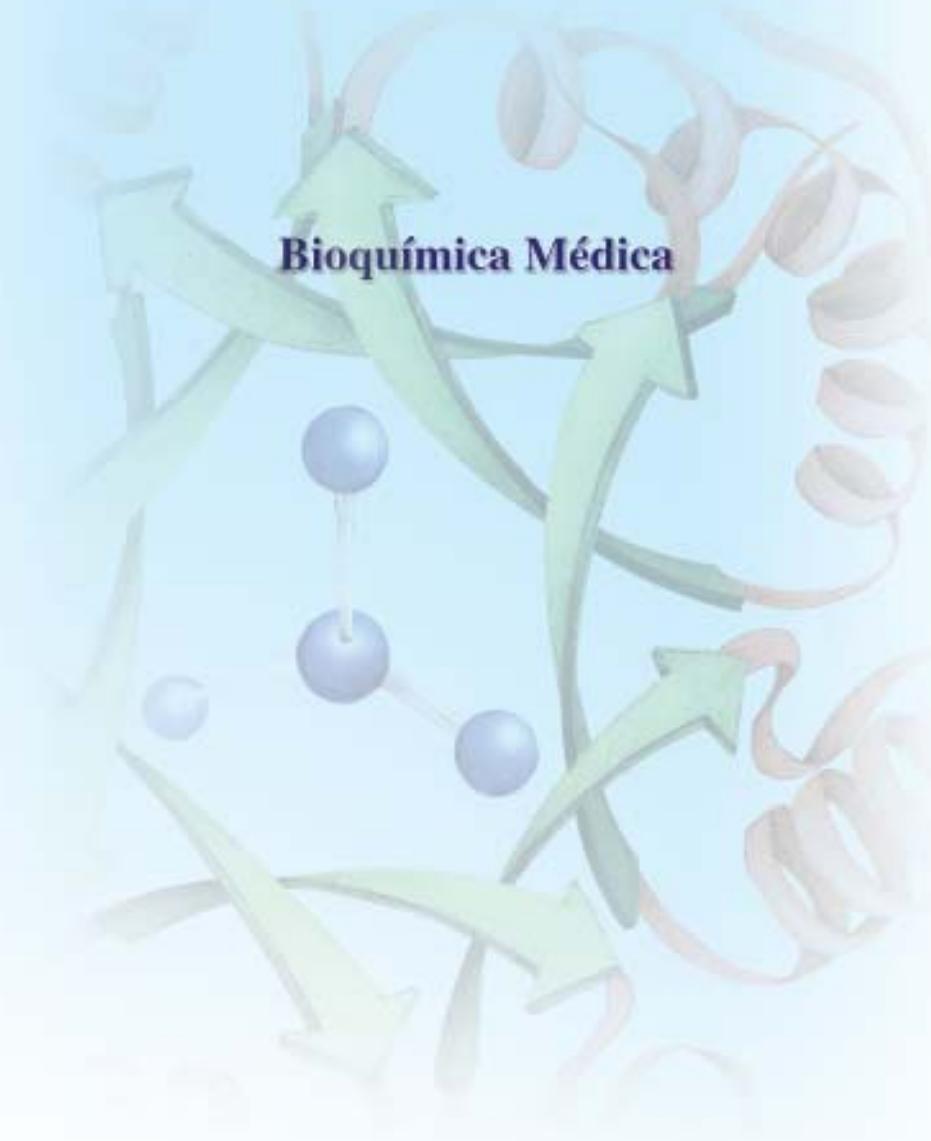


Bioquímica Médica

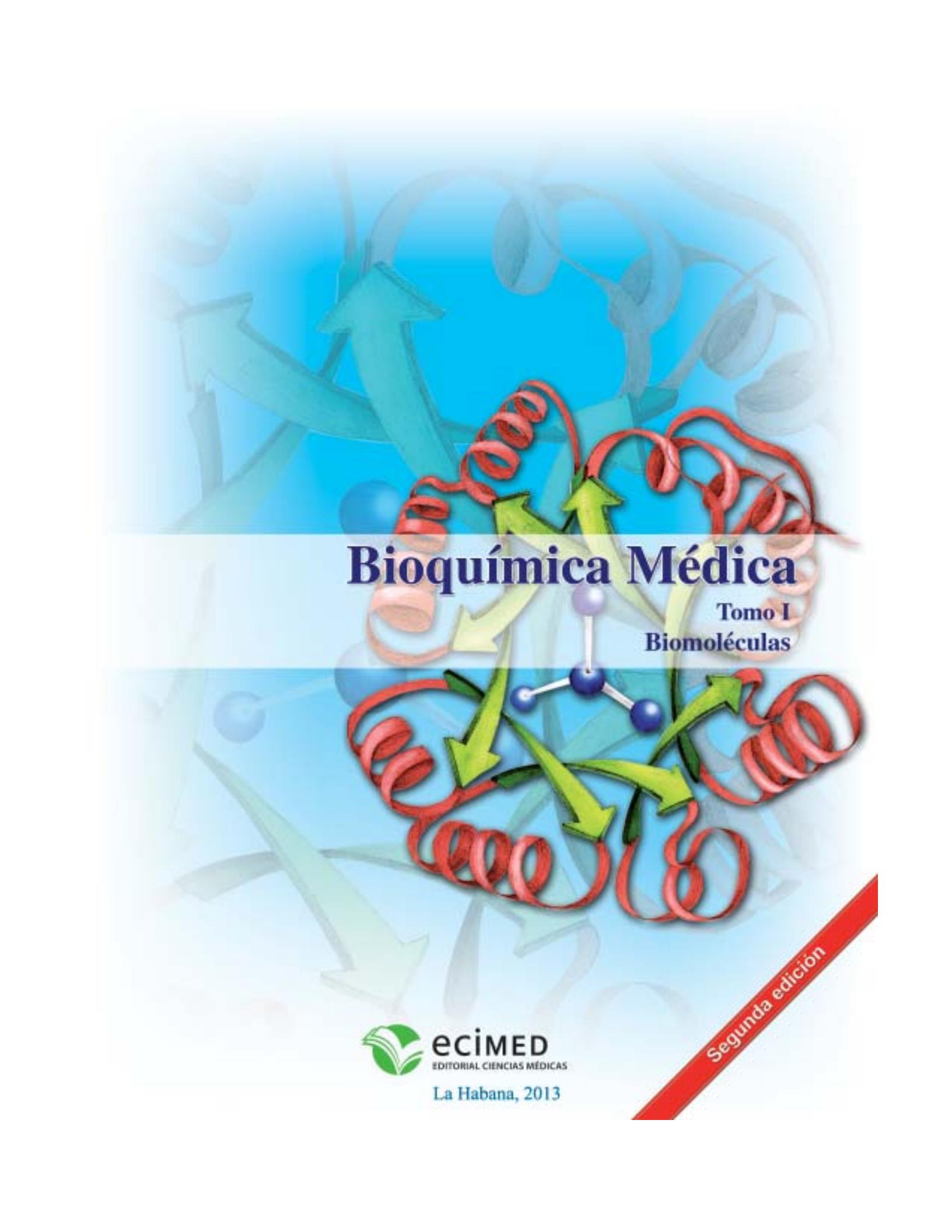
Tomo I
Biomoléculas



. Cardellá . Hernández .



Bioquímica Médica



Bioquímica Médica

Tomo I
Biomoléculas



La Habana, 2013

Segunda edición

Catalogación Editorial Ciencias Médicas

Bioquímica médica. Tomo I / Colectivo de autores; editores científicos

y revisores: Lidia Cardellá Rosales y Rogelio

Hernández

Fernández. — La Habana: Editorial Ciencias Médicas, 2013.

4 t. il. tab. (Libros dexto)

-

-

Bioquímica

QU 4

Primera edición, 1999

Revisión técnica: Dra. Lidia Cardellá Rosales

Edición: Dra. Nancy Cheping Sánchez

y Lic. María Emilia Remedios Hernández

Diseño: D.I. José M. Oubiña González

Ilustraciones: Marcos Rubén Ramos Mesa

Emplane: Amarelis González La O

© Lidia Cardellá Rosales,

Rolando Hernández Fernández, 2013

© Sobre la presente edición, Editorial Ciencias Médicas, 2013

ISBN 978-959-212-873-6

ISBN 978-959-212-874-3

Editorial Ciencias Médicas

Calle 23 No. 654 entre D y E, El Vedado

La Habana, Cuba, CP 10 400

Teléfono: 836 1893

Correo electrónico: ecimed@infomed.sld.cu

<http://www.ecimed.sld.cu>

AUTORES PRINCIPALES

Dra. Lidia Cardellá Rosales

Doctora en Ciencias Biológicas. Especialista de II Grado en Bioquímica Clínica. Investigadora Titular. Profesora Titular, Consultante y de Mérito de la Escuela Latinoamericana de Medicina.

Dr. Rolando Hernández Fernández

Especialista de II Grado en Bioquímica Clínica. Profesor Titular y Consultante del Departamento de Bioquímica del Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas “Victoria de Girón”, Universidad de Ciencias Médicas de La Habana.

AUTORES

Dra. Celia Upmann Ponce de León

Doctora en Ciencias Médicas. Especialista de I Grado en Bioquímica Clínica. Profesora Titular y Consultante del Departamento de Bioquímica del Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas “Victoria de Girón”, Universidad de Ciencias Médicas de La Habana.

Dr. Agustín Vicedo Tomey

Doctor en Ciencias Médicas. Especialista de II Grado en Bioquímica Clínica. Profesor Titular y Consultante del Departamento de Bioquímica del Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas “Victoria de Girón”, Universidad de Ciencias Médicas de La Habana.

Dr. Simón Sierra Figueredo

Especialista de II Grado en Bioquímica Clínica. Profesor Titular del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Ciencias Médicas “Salvador Allende”, Universidad de Ciencias Médicas de La Habana.

Dra. Estrella Rubio Bernal

Especialista de II Grado en Bioquímica Clínica. Máster en Ciencias en Bioquímica. Profesora Auxiliar y Consultante del Departamento de Bioquímica de la Escuela Latinoamericana de Medicina.

Dr. Raúl Fernández Regalado

Doctor en Ciencias Médicas. Especialista de II Grado en Bioquímica Clínica. Profesor Titular del Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas “Victoria de Girón”, Universidad de Ciencias Médicas de La Habana.

Dra. Vivian Kourí Cardellá

Doctora en Ciencias Médicas. Especialista de II Grado en Microbiología. Profesora Titular. Investigadora Titular del Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri”.

Dr. Andrés Pérez Díaz

Especialista de II Grado en Bioquímica Clínica. Profesor Titular.

“. . . yo sé que la palabra Bioquímica produce determinados reflejos condicionados en nuestros estudiantes. Y cuando los vemos traumatizados por la Bioquímica, horrorizados por la Bioquímica, decimos: ¿Cómo es posible, siendo tan interesante, tan maravillosa y tan útil la Bioquímica?”

Fidel Castro Ruz

Al querido profesor *Roberto Alonso Borges*, quien dedicó una parte importante de su vida laboral a enseñar Bioquímica a médicos y estomatólogos, y fuera, además, el principal promotor del primer texto cubano *Temas de Bioquímica*, por el que estudiaron esta disciplina, durante muchos años, decenas de miles de estudiantes de las ciencias médicas en nuestro país.

Constituya esta obra un homenaje de recordación, admiración y respeto a quien fue tan insigne profesor.

ÍNDICE GENERAL

Biomoléculas

TOMO I

Prólogo

Contenido

Presentación

Sección I. Introducción a la bioquímica

Introducción a la sección

Capítulo 1. La ciencia bioquímica

Capítulo 2. La disciplina Bioquímica

Capítulo 3. La materia viva

Capítulo 4. Formas básicas de organización de la materia viva

Resumen de la sección

Sección II. Estructura y función de las biomoléculas

Introducción a la sección

Capítulo 5. Introducción al estudio de las biomoléculas

Capítulo 6. Aminoácidos

Capítulo 7. Monosacáridos

Capítulo 8. Nucleótidos

Capítulo 9. Características generales de las macromoléculas

Capítulo 10. Polisacáridos

Capítulo 11. Estructura de los ácidos nucleicos

Capítulo 12. Proteínas

Capítulo 13. Estructura de los lípidos

Resumen de la sección

Sección III. Biocatalizadores

- Introducción a la sección
- Capítulo 14. Reacciones químicas y catalizadores
- Capítulo 15. Enzimas y centro activo
- Capítulo 16. Cinética enzimática
- Capítulo 17. Regulación de la actividad enzimática
- Capítulo 18. Organización de las enzimas
- Capítulo 19. Cofactores enzimáticos
- Resumen de la sección

Bibliografía

Índice alfabético

Componentes celulares y genética molecular

TOMO II

- Prólogo
- Contenido
- Presentación
- Sección IV. Componentes celulares

- Introducción a la sección
- Capítulo 20. Membranas biológicas
- Capítulo 21. Organelos membranosos intracelulares
- Capítulo 22. Citoesqueleto
- Capítulo 23. Núcleo celular
- Resumen de la sección

Sección V. Genética molecular

- Introducción a la sección
- Capítulo 24. El ciclo celular
- Capítulo 25. Replicación de los ADN
- Capítulo 26. Organización del genoma eucarionte
- Capítulo 27. Transcripción del ADN
- Capítulo 28. Código genético
- Capítulo 29. Ribosomas
- Capítulo 30. Traducción
- Capítulo 31. Recombinación genética
- Capítulo 32. Mutaciones
- Capítulo 33. Conservación de la información genética
- Capítulo 34. Regulación de la expresión genética
- Capítulo 35. Tecnología del ADN recombinante
- Resumen de la sección

Bibliografía

Índice alfabético

Metabolismo intermedio y su regulación

TOMO III

Prólogo

Contenido

Presentación

Sección VI. Respiración celular

Introducción a la sección

Capítulo 36. Introducción al metabolismo celular

Capítulo 37. Flujo catabólico de sustancia y energía

Capítulo 38. Ciclo de los ácidos tricarboxílicos

Capítulo 39. Cadena transportadora de electrones

Capítulo 40. Fosforilación oxidativa

Capítulo 41. Introducción al metabolismo intermedio

Resumen de la sección

Sección VII. Metabolismo de los glúcidos

Introducción a la sección

Capítulo 42. Digestión y absorción de los glúcidos

Capítulo 43. Metabolismo del glucógeno

Capítulo 44. Metabolismo de la glucosa

Capítulo 45. Fotosíntesis

Capítulo 46. Síntesis de oligosacáridos y glicoconjungados

Resumen de la sección

Sección VIII. Metabolismo de los lípidos

Introducción a la sección

Capítulo 47. Digestión y absorción de los lípidos

Capítulo 48. Transporte de lípidos y lipoproteínas

Capítulo 49. Lipogénesis

Capítulo 50. Lipólisis

Capítulo 51. Metabolismo de los cuerpos cetónicos

Capítulo 52. Metabolismo de los fosfátidos de glicerina y de los esfingolípidos

Capítulo 53. Metabolismo de los esteroides

Resumen de la sección

Sección IX. Metabolismo de compuestos nitrogenados de bajo peso molecular

Introducción a la sección

Capítulo 54. Digestión de las proteínas

Capítulo 55. Metabolismo general de los aminoácidos
Capítulo 56. Eliminación del nitrógeno del organismo
Capítulo 57. Metabolismo de nucleótidos
Capítulo 58. Metabolismo de las porfirinas
Resumen de la sección

Sección X. Integración y regulación del metabolismo intermedio

Introducción a la sección
Capítulo 59. Comunicación entre las células del organismo
Capítulo 60. Acción hormonal
Capítulo 61. Regulación del metabolismo
Capítulo 62. Integración del metabolismo
Resumen de la sección

Bibliografía
Índice alfabético

Bioquímica especializada

TOMO IV

Prólogo
Contenido
Presentación
Sección XI. Especificidades bioquímicas de algunos tejidos

Introducción a la sección
Capítulo 63. La sangre
Capítulo 64. Tejido nervioso
Capítulo 65. Aspectos bioquímicos de la visión
Capítulo 66. Tejido muscular
Capítulo 67. Tejido adiposo
Capítulo 68. Tejido conectivo
Capítulo 69. Bioquímica dental
Resumen de la sección

Sección XII. Bases moleculares de la nutrición humana

Introducción a la sección
Capítulo 70. Requerimientos nutricionales en el ser humano
Capítulo 71. Proteínas en la dieta humana
Capítulo 72. Glúcidos y lípidos en la dieta humana

Capítulo 73. Vitaminas en la nutrición humana
Capítulo 74. Minerales en la nutrición humana
Resumen de la sección

Sección XIII. Aspectos bioquímicos en la patología

Introducción a la sección
Capítulo 75. Alteraciones metabólicas de causas múltiples
Capítulo 76. Enfermedades moleculares
Capítulo 77. Endocrinopatías
Capítulo 78. Los virus
Capítulo 79. Enzimología clínica
Resumen de la sección

Sección XIV. Problemas actuales de la bioquímica

Introducción a la sección
Capítulo 80. Cáncer
Capítulo 81. Morfogénesis
Capítulo 82. Producción de anticuerpos
Capítulo 83. Estrés oxidativo
Capítulo 84. Virus de inmunodeficiencia humana
Capítulo 85. Origen de la vida
Capítulo 86. Evolución molecular
Capítulo 87. Envejecimiento
Resumen de la sección

Bibliografía
Índice alfabético

PREFACIO

La bioquímica es una ciencia que se ha desarrollado con un ritmo muy acelerado en los últimos siglos. Los logros alcanzados en los últimos años en el conocimiento de esta ciencia han influido decisivamente en el progreso de numerosas ramas científicas afines, en particular las biomédicas. Muchos hallazgos de la bioquímica han incidido directa o indirectamente en la teoría y la práctica médica; por ello resulta imprescindible el dominio de los aspectos fundamentales de esta disciplina por parte de médicos, estomatólogos, licenciados en enfermería y tecnología de la salud, y en general por todo el personal profesional relacionado con la asistencia, docencia e investigación en el campo de las ciencias médicas.

El texto fue elaborado teniendo en cuenta los intereses de las diferentes especialidades de las ciencias médicas. De igual modo, este puede ser de utilidad a estudiantes de cualquier otra carrera biológica. En el tomo IV se tratan, además, algunos aspectos especializados de la bioquímica, de interés clínico actual, lo que permite a estudiantes de años superiores y graduados de las diferentes ramas de las ciencias médicas complementar y aplicar conocimientos adquiridos al cursar las ciencias básicas.

Nuestros propósitos son contribuir a mejorar la comprensión de la disciplina Bioquímica y destacar su importancia en la formación de profesionales de las especialidades médicas. Corresponde principalmente a nuestros estudiantes evaluar en qué medida ello se ha logrado.

Los autores

CONTENIDO

PRESENTACIÓN

SECCIÓN I. INTRODUCCIÓN A LA BIOQUÍMICA

INTRODUCCIÓN A LA SECCIÓN/ 1

Capítulo
1

La ciencia bioquímica/ 3

- Surgimiento y desarrollo de la bioquímica/ 4
- Raíces y surgimiento de la bioquímica/ 4
- Desarrollo y perspectivas de la bioquímica/ 6
- Aportes de la bioquímica a otras ciencias biológicas/ 9
- Aplicación de la bioquímica a las ciencias médicas/ 11
- Objeto de estudio de la bioquímica/ 13
- Resumen/ 19
- Ejercicios/ 19

Capítulo
2

La disciplina Bioquímica/ 21

- La disciplina Bioquímica en el plan de estudio del profesional de las ciencias médicas/ 21
- Categorías, principios y conceptos generales/ 22
 - Categorías/ 22
 - Principios/ 23
 - Conceptos generales/ 24
- Método de estudio de la Bioquímica/ 25
- Resumen/ 26
- Ejercicios/ 26

Capítulo
3

La materia viva/ 27

- La materia viva como resultado de la evolución de la materia inorgánica/ 27
- Origen y evolución de la materia viva/ 30
 - Formación de las primeras moléculas biogénas/ 32
 - Formación de biomoléculas sencillas/ 33

- Formación de las primeras macromoléculas/ 35
- Formación de las primeras estructuras vivas/ 38
- Evolución de las células primitivas/ 39
- Teorías evolucionistas/ 40
- Evidencias a favor de la evolución de las especies/ 42
- Resumen/ 43
- Ejercicios/ 44

Capítulo
4

Formas básicas de organización de la materia viva/ 45

- Célula procariota/ 45
- Célula eucariota/ 46
- Virus/ 47
- Protoplasma/ 47
 - Funciones del protoplasma/ 47
 - Organización de una célula eucariota tipo/ 49
 - Organismos pluricelulares/ 50
 - Unión intercelular/ 51
 - Desmosomas y hemidesmosomas/ 53
 - Adhesiones focales/ 54
 - Uniones comunicantes o nexos/ 54
 - Comunicación intercelular/ 55
- Resumen/ 56
- Ejercicios/ 56

Resumen de la sección/ 57

SECCIÓN II. ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE LAS BIOMOLÉCULAS

INTRODUCCIÓN A LA SECCIÓN/ 59

Capítulo
5

Introducción al estudio de las biomoléculas/ 61

- El agua en los organismos vivos/ 61
- Sustancias inorgánicas en la materia viva/ 64

Composición elemental y características generales de las biomoléculas/ 64
Átomos en las biomoléculas/ 65
Átomo de carbono/ 66
Enlaces químicos/ 66
Enlace iónico/ 66
Enlace covalente/ 66
Interacciones débiles/ 68
Puente de hidrógeno/ 68
Interacciones hidrofóbicas/ 68
Interacciones electrostáticas/ 69
Fuerzas de Van der Waals/ 69
Hidrocarburos/ 69
Hidrocarburos alifáticos/ 69
Hidrocarburos cíclicos/ 71
Agrupaciones o grupos funcionales en las biomoléculas/ 72
Grupo hidroxilo/ 72
Grupo carbonilo/ 73
Grupo carboxilo/ 73
Grupo sulfidrilo/ 74
Grupo amino/ 74
Amidas/ 75
Agrupaciones atómicas derivadas/ 75
Hemiacetales/ 75
Acetales/ 75
Ésteres/ 76
Enlace éter/ 76
Tioésteres/ 77
Enlace amida/ 77
Anhídrido de ácido/ 77
Isomería/ 78
Isomería estructural/ 78
Isomería espacial/ 79
Conformaciones distintas de las moléculas/ 82
Sistemas dispersos/ 82
Formas de expresar la concentración/ 83
Resumen/ 83
Ejercicios/ 84

Capítulo 6

Aminoácidos/ 89

Concepto y características generales/ 89
Estructura de los aminoácidos que constituyen las proteínas/ 90
Clasificación de los aminoácidos/ 93
Propiedades físicas de los aminoácidos/ 94
Propiedades ópticas de los aminoácidos.
Series estéricas L y D/ 94
Propiedades eléctricas de los aminoácidos/ 95
Especies iónicas de los aminoácidos/ 97
Importancia de los grupos en la cadena R de los aminoácidos/ 101
Reacciones químicas de los aminoácidos/ 101
Reacción de la ninhidrina/ 102

Formación del enlace peptídico/ 102
Resumen/ 103
Ejercicios/ 104

Capítulo 7

Monosacáridos/ 105

Concepto y clasificación/ 105
Monosacáridos simples/ 105
Interconversiones entre aldosas y cetosas/ 109
Formas cíclicas de los monosacáridos: el hemiacetal interno/ 109
Anómeros alfa y beta/ 111
Monosacáridos derivados/ 112
Derivados glicosídicos/ 115
Carácter reductor/ 116
Funciones de los monosacáridos/ 117
Resumen/ 117
Ejercicios/ 118

Capítulo 8

Nucleótidos/ 119

Concepto/ 119
Clasificación/ 120
Según la base nitrogenada/ 120
Según el tipo de azúcar/ 121
Según el número de fosfatos/ 122
Nucleósidos/ 122
Nomenclatura/ 122
Propiedades fisicoquímicas de los nucleótidos/ 122
Carácter hidrofílico/ 122
Propiedades eléctricas/ 123
Tautomería/ 123
Absorción de la luz ultravioleta/ 123
Otras características químicas y estructurales de los nucleótidos/ 124
Formación del enlace diéster fosfato/ 124
Análogos de nucleótidos artificiales/ 124
Funciones de los nucleótidos/ 125
Resumen/ 125
Ejercicios/ 126

Capítulo 9

Características generales de las macromoléculas/ 127

Características generales/ 128
Elevado peso molecular/ 128
Carácter polimérico/ 129

- Carácter uniforme/ 129
Carácter lineal/ 130
Carácter tridimensional/ 131
Carácter informacional/ 136
Tendencia a la agregación/ 137
Relación estructura-función/ 138
Propiedades generales/ 139
Difusión/ 139
Diálisis/ 139
Sedimentación/ 140
Visualización/ 141
Hidrólisis/ 141
Difracción de rayos X/ 142
Métodos empleados en el estudio de las macromoléculas/ 142
Obtención de la macromolécula/ 143
Separación de la macromolécula/ 144
Criterios de pureza/ 145
Caracterización de la macromolécula/ 147
Una incógnita/ 147
Resumen/ 148
Ejercicios/ 149

Capítulo
10

Polisacáridos/ 151

- Oligosacáridos/ 151
Disacáridos/ 152
Importancia de los disacáridos/ 153
Glicoproteínas/ 154
Glicoescifolípidos/ 154
Polisacáridos/ 155
Homopolisacáridos/ 155
Heteropolisacáridos/ 158
Proteoglicanas/ 161
Resumen/ 162
Ejercicios/ 163

Capítulo
11

Estructura de los ácidos nucleicos/ 165

- Tipos y funciones/ 165
ADN como material genético/ 166
Estructura primaria de los ADN/ 167
Conformación de los nucleótidos/ 169
Relación base-pentosa/ 169
Conformación de la pentosa/ 170
Relación pentosa-fosfato/ 170
Estructura secundaria de los ADN/ 171
Accidentes en la doble hélice/ 173
ADN Z/ 175
Otras estructuras del ADN/ 177
Estabilidad de la doble hélice/ 178

- ADN superenrollado/ 178
Desnaturalización del ADN/ 179
Formas de presentación del ADN/ 181
ADN virales/ 181
Plásmidos/ 181
ADN mitocondrial/ 182
Cromosoma bacteriano/ 182
Cromosoma eucarionte/ 182
Métodos empleados en el estudio del ADN/ 183
Obtención del ADN/ 183
Separación de los ADN/ 184
Localización de ADN específicos/ 184
Estructura general de los ARN/ 185
ARN de transferencia/ 188
ARN ribosomal/ 191
ARN mensajero/ 192
ARN pequeños/ 192
Métodos empleados para el estudio de los ARN/ 193
ARN como material genético/ 193
Resumen/ 194
Ejercicios/ 195

Capítulo
12

Proteínas/ 197

- Péptidos y proteínas/ 197
Estructura de los péptidos/ 197
Funciones biológicas/ 199
Importancia biomédica/ 199
Proteínas/ 200
Clasificación de las proteínas/ 200
Estructura primaria/ 200
Organización tridimensional/ 203
Estructura secundaria/ 204
Estructura terciaria/ 208
Estructura cuaternaria/ 212
Relación estructura-función
de las proteínas/ 213
Desnaturalización/ 213
Proteínas alostéricas/ 213
Propiedades fisicoquímicas de las proteínas/ 214
Electroforesis/ 216
Aspectos estructurales de algunas proteínas fibrosas/ 216
α-queratinas/ 216
Triple hélice o tropocolágena/ 217
Resumen/ 218
Ejercicios/ 219

Capítulo
13

Estructura de los lípidos/ 221

- Concepto y clasificación/ 221

Función biológica/ 222
Ácidos grasos/ 222
Propiedades físicas de los ácidos grasos/ 226
Propiedades químicas de los ácidos grasos/ 226
Ceras/ 227
Acilgliceroles/ 227
Fosfátidos de glicerina o glicerofosfátidos/ 229
Funciones de los fosfátidos de glicerina/ 231
Esfingolípidos/ 232
Funciones de los esfingolípidos/ 233
Terpenos/ 233
Esteroides/ 234
Icosanoïdes/ 237
Resumen/ 239
Ejercicios/ 240

Resumen de la sección/ 241

SECCIÓN III . BIOCATALIZADORES

INTRODUCCIÓN A LA SECCIÓN/ 243

Capítulo
14

Reacciones químicas y catalizadores/ 245

Reacciones químicas/ 246
Energética de las reacciones químicas/ 246
Energía libre/ 248
Reacciones acopladas/ 251
Velocidad de reacción/ 254
Orden de reacción/ 255
Reversibilidad y equilibrio/ 257
Energía de activación/ 259
Catalizadores/ 261
Resumen/ 263
Ejercicios/ 264

Capítulo
15

Enzimas y centro activo/ 265

Biocatalizadores/ 265
Mecanismo básico de acción de las enzimas/ 267
Centro activo/ 268
Formación del complejo enzima-sustrato/ 270
Mecanismos de la catálisis/ 271
Modificaciones del centro activo/ 272
Especificidad de las enzimas/ 273
Centro activo de la quimotripsina y la tripsina/ 274
Clasificación y nomenclatura de las enzimas/ 276

Resumen/ 281
Ejercicios/ 282

Capítulo
16

Cinética enzimática/ 283

Condiciones para los estudios cinéticos/ 283
Efecto de la concentración de enzima/ 284
Efecto de la concentración de sustrato/ 285
Efecto de la concentración de cofactores/ 291
Efecto del pH/ 291
Efecto de la temperatura/ 292
Efecto de los activadores/ 292
Efecto de los inhibidores/ 293
Resumen/ 296
Ejercicios/ 297

Capítulo
17

Regulación de la actividad enzimática/ 299

Formas básicas de la regulación enzimática/ 299
Componentes de un sistema de regulación/ 300
Regulación alostérica/ 302
Modelo simétrico o concertado/ 302
Modelo secuencial/ 304
Características generales de las enzimas alostéricas/ 306
Modificación covalente/ 307
Modificación por fosforilación-desfosforilación/ 308
Modificación por adenilación-desadenilación/ 310
Otros tipos de modificaciones/ 311
Fenómeno de amplificación/ 312
Otros mecanismos de regulación/ 313
Proteólisis limitada/ 313
Variación en el estado de agregación/ 313
Interacción proteína-proteína/ 314
Translocalización de enzimas/ 314
Cambios en la especificidad/ 315
Isoenzimas/ 317
Resumen/ 318
Ejercicios/ 319

Capítulo
18

Organización de las enzimas/ 321

Citotopografía de las enzimas/ 321
Formas básicas de existencia de las enzimas/ 323
Enzimas simples/ 323

Complejos multienzimáticos/	323
Enzimas multifuncionales/	324
Enzimas unidas a membranas/	325
Asociación enzimas-proteínas/	327
Fenómeno de canalización/	327
Asociaciones supraenzimáticas/	329
Topografía de las enzimas/	330
Resumen/	331
Ejercicios/	332

Capítulo
19

Cofactores enzimáticos/ 333

Tipos de cofactores/	333
Formas de actuar los cofactores inorgánicos/	334
Formas de actuar las coenzimas/	334
Coenzimas y vitaminas/	335
Piridín nucleótidos/	335
Flavín nucleótidos/	337
Ácido lipoico/	338
Glutatión/	339
Porfirinas/	340
Biotina/	340
Pirofosfato de tiamina/	341
Ácido tetrahidrofólico/	342
S-adenosil-metionina/	344
Coenzima A/	344
Fosfato de piridoxal/	345
Coenzima B ₁₂ (5-adenosil-cobalamina)/	347
Nucleósidos trifosfatados/	349
Resumen/	351
Ejercicios/	351

Resumen de la sección/ 352

Bibliografía/ 355

Índice de materia/ 359

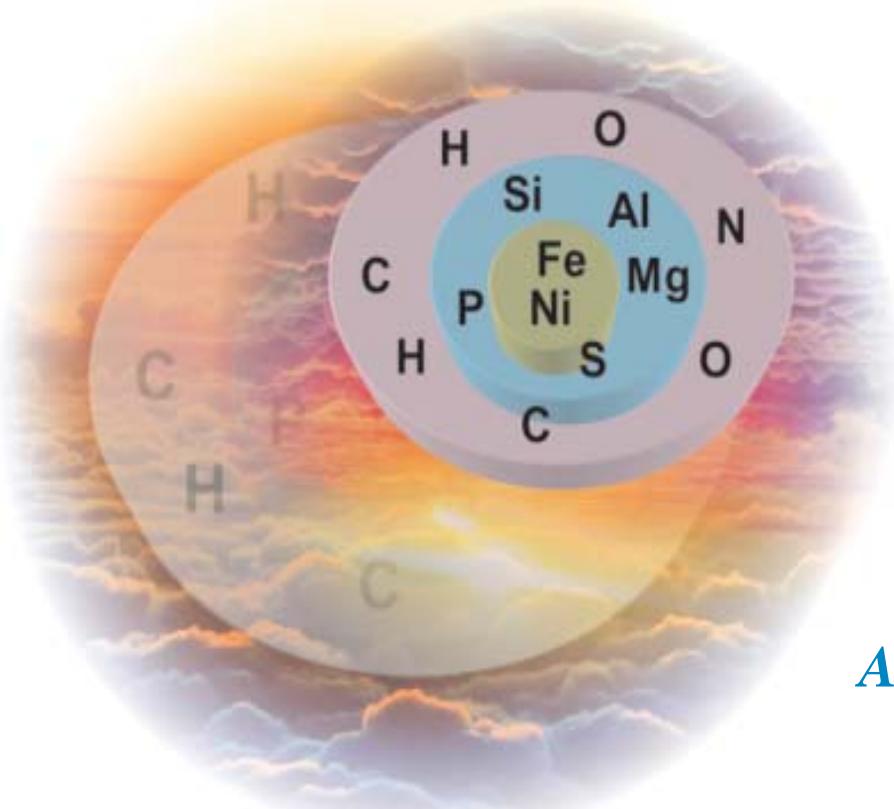
PRESENTACIÓN

La bioquímica es una ciencia relativamente nueva, pero ha tenido un desarrollo vertiginoso en los últimos siglos; las ciencias médicas se han beneficiado con los aportes que esta les ha brindado.

La materia viva se formó a partir de la inorgánica, durante un largo proceso evolutivo, y aunque muchos elementos se encuentran formando parte de ambas materias, la composición relativa de estos y su organización molecular son diferencias fundamentales entre ellas. Las moléculas características de la materia viva son las biomoléculas.

El esclarecimiento de la relación entre la composición y la conformación de las biomoléculas, en especial de las macromoléculas, ha permitido una mejor comprensión de su relación estructura-función; todo ello ha contribuido a esclarecer el carácter informacional que estas poseen, en el cual se fundamentan sus funciones específicas.

En los capítulos de este primer tomo se tiene como objetivo proveer al lector de los conocimientos básicos relacionados con la materia viva y su composición, haciendo énfasis en la relación estructura-función de las biomoléculas, como un requisito indispensable para el estudio posterior de otros temas de la bioquímica. Solo un conocimiento profundo de la estructura y función de todas las biomoléculas, aportará al lector las bases moleculares necesarias para adentrarse en el estudio de todos y cada uno de los diferentes procesos bioquímicos que caracterizan a los organismos vivos.



SECCIÓN I

INTRODUCCIÓN A LA BIOQUÍMICA

Introducción a la sección

La bioquímica es la ciencia que estudia la “química de la vida”. El extraordinario auge experimentado por esta ciencia en los últimos años ha contribuido mucho a la profundización del conocimiento de los procesos vitales, a su vez, ha impulsado el desarrollo de numerosas ciencias afines, especialmente las biomédicas, y contribuido a la introducción de numerosos adelantos tecnológicos en la práctica médica como: nuevos medicamentos, vacunas y técnicas diagnósticas, entre otros.

De todo ello se infiere la necesidad del estudio de la bioquímica para los profesionales de la medicina. Esta sección se propone adentrar al lector en los aspectos más generales y básicos de esta ciencia, en sus raíces y objeto de estudio y en las evidencias de su aplicación a las ciencias médicas; a este propósito se dedica el capítulo 1. En el capítulo 2 se brinda una panorámica de la disciplina Bioquímica, de su alcance, de la necesidad de su estudio para los profesionales de las ciencias médicas y se tratan también las categorías, principios y conceptos generales de esta disciplina. En el capítulo 3 se exponen las características y atributos esenciales de la materia viva, así como algunos aspectos acerca de su génesis y evolución. Por último, el capítulo 4 se dedica a las diversas formas de organización de la materia viva, desde los virus hasta los organismos pluricelulares más complejos. Esta sección tiene el objetivo de preparar de forma preliminar al lector para el estudio de las secciones siguientes.

La ciencia bioquímica

La palabra *bioquímica* significa etimológicamente “química de la vida”, o sea, la ciencia que se ocupa de las bases moleculares de la vida. Por lo tanto aborda el estudio de la composición química de la materia viva, la relación estructural y función de las moléculas –características de los seres vivos– así como las transformaciones químicas que se llevan a cabo, y además los mecanismos moleculares que intervienen en la regulación de tales transformaciones.

La bioquímica es una ciencia que se consolida como tal a inicios del siglo xx y , aunque sus raíces pueden ubicarse a fines de XVIII, es solo en los últimos años de XIX que comienza a perfilarse como una ciencia independiente y de hecho, el término bioquímica se emplea por primera vez en el siglo XX.

La química orgánica, la fisicoquímica, la biología general, la microbiología, la fisiología vegetal y en particular la humana aportaron elementos valiosos y fueron las fuentes científicas principales que contribuyeron al nacimiento de la bioquímica, la cual se fue conformando poco a poco. Se debe resaltar la interacción histórica que existe entre la bioquímica y otras ciencias biológicas, ya que si bien estas desempeñaron una función importante en el surgimiento de aquella, como fuera ya señalado, la bioquímica ha impulsado de manera considerable el desarrollo y avance de las demás ramas biológicas, en particular las biomédicas.

En los avances experimentados durante los últimos años en las ciencias médicas, los aportes de la bioquímica han desempeñado una función destacada: la comprensión de las causas moleculares de numerosas enfermedades, el desarrollo de variadas técnicas diagnósticas de laboratorio y el empleo de algunos medicamentos en el tratamiento de determinadas afecciones, son ejemplos de la aplicación directa de esta ciencia a la práctica médica.

En este capítulo se hará una breve revisión del desarrollo histórico de la bioquímica, sus aportes a otras ciencias biológicas y a las ciencias médicas, resaltando la importancia de su estudio para los profesionales de la medicina, además de dejar sentado el objeto de estudio de esta importante rama de la ciencia.

Surgimiento y desarrollo de la bioquímica

El origen y desarrollo de la bioquímica son un proceso histórico continuo, aunque su mayor auge se alcanza en el siglo xx. Solo con fines didácticos abordaremos en dos etapas el estudio del desarrollo histórico de esta ciencia: raíces y surgimiento; desarrollo y perspectivas.

En raíces y surgiemiento nos referiremos a los estudios más tempranos realizados desde los tiempos de los alquimistas hasta el reconocimiento de la bioquímica como ciencia independiente, por lo que esta etapa se extiende desde mediados del siglo XVIII hasta inicios del siglo XX.

En desarrollo y perspectivas trataremos los estudios llevados a cabo en los siglos XX y XXI hasta nuestros días y se plantearán algunos de los alcances probables de esta ciencia en los próximos años.

Raíces y surgimiento de la bioquímica

Las raíces u orígenes de la bioquímica se relacionan con las primeras investigaciones realizadas por distintos científicos en relación con la composición química de las sustancias naturales, así como con los estudios iniciales de algunas transformaciones químicas o procesos característicos de organismos vivos.

Los trabajos experimentales que se consideran pioneros en este sentido son los realizados a finales del siglo XVIII por el farmacéutico sueco Karle Scheele, quien logró aislar e identificar a partir de tejidos vegetales y animales un grupo de compuestos como: glicerina (a partir de aceites vegetales), caseína (a partir de la leche), además de los ácidos cítrico, láctico, málico, tartárico y úrico, de fuentes diversas. Distintos investigadores de forma independiente obtuvieron variados compuestos biológicos a partir de diferentes productos naturales.

Estos trabajos iniciales, que abrieron una etapa importante en el conocimiento de la composición química de los seres vivos, aportaron elementos básicos en el reconocimiento de su carácter material, y también suministraron evidencias en cuanto a la similitud entre los componentes químicos de especies distintas. Con el desarrollo de las técnicas del análisis químico, cuantitativo y elemental, los investigadores Jons Berzelius y Justus Liebig, en los primeros años del siglo XIX, demostraron la presencia significativa de carbono en todos los compuestos aislados por Scheele, hecho fundamental en la comprensión de la función del carbono en la química orgánica.

De los trabajos iniciales relacionados con el estudio de las transformaciones químicas que ocurren en los seres vivos, se les confiere importancia fundamental a dos resultados que corresponden también con los años finales del siglo XVIII. El primero de ellos realizado por Antoine Lavoiser, entre 1779 y 1784, acerca de la respiración celular Lavoiser efectuó un estudio comparativo del calor desprendido en la respiración en organismos vivos y en la combustión de algunos compuestos carbonados en una bomba calorimétrica, con lo cual llegó a la conclusión de que la respiración celular era un proceso de combustión del carbono con intervención del oxígeno molecular, es decir, un proceso oxidativo. Estos trabajos se consideran básicos para el estudio del metabolismo. Como consecuencia de estos resultados a principios del siglo XIX se establecieron los valores calóricos (calor desprendido por su combustión) por cada gramo de carbohidratos, grasas y proteínas.

El segundo hallazgo, realizado en 1783 por Lázaro Spallanzani, se considera también ligado al nacimiento de la bioquímica y está relacionado con el proceso de la digestión gástrica. En este trabajo se demuestra que el proceso digestivo de las proteínas ingeridas en la dieta consistía en transformaciones químicas, que podían ser reproducidas con

bastante similitud en el laboratorio, si se utilizaban “determinadas sustancias gástricas”, obtenidas mediante fistulas quirúrgicas en animales de experimentación.

A partir del reconocimiento de la presencia de carbono en los distintos compuestos obtenidos de la materia viva, se realizaron numerosos intentos para lograr su síntesis en el laboratorio, lo cual constituía por esa época un serio reto, pues la religión y determinadas corrientes oscurantistas, muy arraigadas, como el vitalismo, planteaban que los compuestos orgánicos solo podían ser producidos por los organismos vivos, ya que era necesaria la presencia de una “fuerza o aliento vital” que existía solo en estos.

Correspondió a Friedrich Wohler el mérito de lograr por vez primera en el laboratorio, en 1828, la síntesis de un compuesto biológico: la urea, una sustancia que se excreta por la orina, como resultado del metabolismo de compuestos nitrogenados; con esto aportó una evidencia importante en contra del vitalismo. Unos años más tarde Adolf Kolh sintetizaba también el ácido acético. Sin embargo, solo después de los trabajos de Marcellin Berthelot, quien obtuvo la síntesis química de varios compuestos existentes en los seres vivos, la teoría vitalista quedó científicamente demolida.

Mucho le debe la bioquímica a las investigaciones acerca de la fermentación. Después que Theodor Schwann había identificado la fermentación alcohólica como un proceso biológico, Joseph Gay Lussac, en 1815, añadía que este proceso consistía en reacciones químicas, y ya en 1839 Berzelius y Liebig lo identificaron como un proceso catalítico.

De particular relevancia fueron los aportes de Louis Pasteur relacionados con los procesos fermentativos. En 1850 Pasteur planteó que la fermentación de la glucosa por la levadura se debía a la acción catalítica de fermentos, nombre con el que comenzó a identificarse las biomoléculas, que hoy reconocemos como enzimas; además, este mismo investigador constató la existencia de organismos aerobios y anaerobios y describió la función inhibitoria del oxígeno molecular en el proceso fermentativo (efecto Pasteur).

En 1893, Wilhem Friedrick Ostwald expone que los fermentos cumplen los atributos físico-químicos de los catalizadores.

Años más tarde, en 1897, se obtiene un importante avance en este campo, cuando Eduard Buchner y su hermano Hans lograron producir la fermentación en extractos libres de células, lo que permitió la identificación de las enzimas y reacciones involucradas en este proceso. Los estudios acerca de la fermentación se pueden considerar como las bases de la enzimología y los procesos metabólicos.

Durante este siglo XIX se formularon tres aportes fundamentales al conocimiento de la biología, que influyeron de manera notable en el pensamiento científico de la época. Estos aportes constituyeron verdaderas revoluciones biológicas, ellas son: la teoría celular, formulada por Mathias Jacok Schleiden y Theodor Schawann, en 1838; la teoría de la evolución, de Charles Darwin, en 1859, y las leyes de la genética expuestas por Gregor Mendel, en 1865. Estos aportes trascendentales contribuyeron mucho a la comprensión de la unidad básica de la materia viva en toda la naturaleza.

Corresponden también a esta etapa los estudios iniciales en relación con la estructura química de biomoléculas complejas; al respecto merecen destacarse los trabajos realizados por Michel Chevreul, quien a partir de la reacción de saponificación (hidrólisis alcalina) de las grasas demostró que están formadas por glicerina y ácidos grasos.

En 1868 Friedrich Miescher identifica el primer ácido nucleico a partir de células de pus, procedentes de vendajes quirúrgicos y otras fuentes. Este resultado abrió el estudio de un nuevo campo, que ha sido sin lugar a duda, uno de los que ha contribuido decisivamente al desarrollo de la biología molecular, decir, el estudio de la estructura y función de los ácidos nucleicos.

En el estudio de la estructura de las biomoléculas merecen especial mención los aportes importantes de Emil Fischer, en relación con la estructura de carbohidratos, grasas y aminoácidos.

Un aporte también relevante fue la obtención de aminoácidos a partir de un hidrolizado de proteínas, por Muldeş Liebig y otros, lo cual permitió que en 1902, apenas comenzado el siglo xx, Hobmeister y Fischer concibieran a las proteínas como polímeros de aminoácidos.

Con todos estos resultados la bioquímica se consolida como ciencia independiente, y en efecto, en los inicios del siglo xx, en 1903, Carl Neuberg empleó por vez primera este término para identificarla.

Desarrollo y perspectivas de la bioquímica

En el siglo xx se experimenta un notable auge en las investigaciones relacionadas con la bioquímica, causado en gran parte por el desarrollo tecnológico alcanzado, lo que dio lugar a la introducción de nuevas técnicas como: la microscopía electrónica, la difracción de rayos X, la ultracentrifugación, el uso de radioisótopos, la obtención de mutantes en microorganismos, la espectrofotometría, los métodos de determinación de secuencias en macromoléculas y otras.

Todo ello permitió un rápido avance en la elucidación de vías metabólicas. En 1905 Franz Knoop describió que la degradación de los ácidos grasos (oxidación) se producía por acortamiento de unidades bicarbonatadas. En 1912 se realiza por Neuberg la primera propuesta de las secuencias de reacciones del proceso de fermentación, el que sería completado años más tarde por Gustav Embden, Otto Meyerhof y otros investigadores. En 1932 Hans Krebs y Kurt Henseleit describen las reacciones del ciclo de la ornitina, y en 1937 de nuevo Krebs y Knoop, conjuntamente con Carl Martius, describieron las reacciones del ciclo de los ácidos tricarboxílicos, conocido también como ciclo de Krebs. Al año siguiente Alexander Braunstein y Kritzmann, caracterizaron las reacciones de transa-minación.

A partir del esclarecimiento de estas vías básicas y centrales del metabolismo, en los años siguientes se fue completando el conocimiento de las distintas rutas metabólicas, lo cual ha significado un aporte valioso a la comprensión de los procesos vitales y a una mejor interpretación de las afecciones metabólicas que pueden presentarse durante una serie de enfermedades.

En los primeros lustros del siglo xx se obtuvieron resultados importantes en relación con las investigaciones enzimáticas y del metabolismo. A inicios de ese siglo Fischer efectuó los primeros estudios de especificidad enzimática. En 1926 se logra por James Sumner la cristalización de la primera enzima: la ureasa. Él comprobó la naturaleza proteínica de esta y postuló que las enzimas son proteínas; sin embargo, esta proposición fue muy rechazada por otros investigadores, los que sostuvieron que el resultado obtenido por Sumner podía ser causado por una contaminación. No es hasta 1930, en que John Northrop y otros obtuvieron pepsina y tripsina cristalizadas, corroborando los resultados de Sumner, y es aceptada de forma general la naturaleza proteínica de los biocatalizadores. En relación con el mecanismo de acción de las enzimas, y la cinética y regulación de su actividad, son muchos los hallazgos realizados durante estos últimos años, pero estos aspectos serán abordados en la sección dedicada a los biocatalizadores.

Otro descubrimiento notable fue el del adenosín trifosfato (ATP), realizado en 1925 por Lohmann, Fiske y Subarow y el reconocimiento de este como transportador principal y universal de energía, por Fritz Lipmann y Herman Kalckar, en 1941. Por otra parte David Keilin esclarece los mecanismos involucrados en las oxidaciones biológicas en 1934, y ya en 1961 Peter Mitchell postula la primera versión del mecanismo quimioosmótico del proceso de síntesis mitocondrial del ATP (fosforilación oxidativa), la cual ha sido enriquecida con experiencias ulteriores y esencialmente confirmada, por lo que en la actualidad es la teoría universalmente aceptada para explicar este proceso.

Los estudios acerca de la estructura primaria de las proteínas obtuvieron sus primeros resultados significativos con la determinación de la secuencia de aminoácidos de la hormona insulina, culminados por Frederick Sanger en 1953. Por esta época, los investigadores Linus Pauling y Robert Corey propusieron el modelo α -hélice como estructura regular presente en un grupo de proteínas, lo que fue complementado después con la identificación de otros tipos de ordenamientos regulares y no regulares que se encuentran en el nivel secundario de las proteínas; años más tarde John Kendrew y Max Perutz determinaron la estructura tridimensional de las proteínas mioglobina y hemoglobina mediante la técnica de difracción de rayos X.

En la actualidad esos estudios se han profundizado y ampliado, por lo que se conoce la estructura completa de numerosas proteínas tanto en lo referente al número y disposición de los aminoácidos en la molécula, como a su conformación espacial, la caracterización de sus distintos niveles estructurales y el papel de los dominios en ellas, lo cual ha permitido comprender la estrecha relación entre la estructura y función de estas importantes macromoléculas biológicas, así como también ha puesto de manifiesto la estrecha semejanza entre proteínas que cumplen la misma función en organismos distintos; pero estos aspectos se abordarán con más detalles en el capítulo correspondiente.

Si numerosos son los resultados obtenidos en este siglo en las investigaciones relacionadas con las proteínas en general y las enzimas en particular, los avances alcanzados en el conocimiento de la estructura y función de los ácidos nucleicos no se quedaron a la zaga, y puede afirmarse que los descubrimientos más importantes en el terreno de la biología en los últimos años están de alguna manera relacionados con estos compuestos, que desempeñan tan importantes funciones biológicas.

El modelo de la estructura en doble hélice, propuesto por James Watson y Francis Crick en 1953, para el ácido desoxirribonucleico (ADN), permitió aproximarse a la comprensión sobre los mecanismos moleculares de la transmisión y expresión de la información genética. En 1961 Marshall Nirenberg, Heinrich Matthei y Severo Ochoa propusieron una regla para la interpretación del código genético, la cual queda totalmente identificada años más tarde, en 1966, por el propio Nirenberg y Philip Leder.

En 1955 se descubre la primera ADN polimerasa por Arthur Kornberg, es decir, una enzima involucrada en la formación de cadenas de ADN; unos años después se descubren otras enzimas de este tipo, así como la ADN ligasa que fuera descrita en el año 1967 por varios laboratorios simultáneamente, y más tarde IR Lehman caracterizó su estructura y función; todo ello permitió que se comenzara a desentrañar el complejo proceso de la replicación del ADN. En la actualidad han podido aislar y conocerse la función específica de otras enzimas y factores proteínicos involucrados en este proceso, lo que ha posibilitado la mejor comprensión de la replicación del ADN. Estos resultados condujeron al nacimiento de la biología molecular, ciencia que ha experimentado un vertiginoso desarrollo durante la última mitad del siglo pasado.

Los avances obtenidos en la bioquímica en los últimos años, particularmente los relacionados con la biología molecular dirigidos hacia aspectos básicos de la inmunología y la genética, han contribuido al desarrollo impetuoso experimentado por esta rama de la ciencia. Así el descubrimiento de la primera enzima de restricción en 1968 por Meselson y Yuan, que poco después fuera caracterizada en su especificidad de corte de las cadenas de ADN por Smith y Wilcox, constituyó un hito importante para la formación de nuevos genes; hoy día se cuenta con todo un “arsenal” de estas enzimas, que permiten su utilización de forma rutinaria en los laboratorios; el aislamiento del repressor por Gilbert y Muller-Hill en 1966; el desarrollo del primer sistema libre de células, en 1969, por Zubay y Lederman para el estudio de la regulación de la expresión genética; el descubrimiento de la transcriptasa inversa en 1970 por Howard Temin y David Baltimore; la realización de los primeros experimentos de clonación del ADN en 1973 por Cohen,

Chang, Boyer y Helling el desarrollo de un método rápido y eficaz para la secuenciación del ADN en 1975 por Maxan y Gilbert y la amplificación del ADN por la reacción en cadena de la polimerasa, lograda por Mullis en 1983 son algunos de los descubrimientos bioquímicos trascendentales que aportaron la base fundamental para el desarrollo de la ingeniería genética y la biotecnología.

El esclarecimiento de las causas de numerosas enfermedades moleculares abre nuevos horizontes en cuanto a su detección precoz y perspectivas de tratamiento. Estos avances han propiciado, además, una mejor comprensión de las alteraciones inmunológicas. En 1975 Kohlen y César Milstein lograron obtener la fusión de células tumorales y células productoras de anticuerpos (hibridomas); la población celular formada poseía la capacidad de multiplicarse en cultivo, de forma continua, y de producir anticuerpos específicos.

Años más tarde el propio Milstein consigue producir a partir de los hibridomas, los anticuerpos monoclonales, uno de los aportes de mayores perspectivas de la biología en los últimos años. Estos anticuerpos monoclonales han podido emplearse con éxito en la identificación de hormonas y en la detección de células cancerosas, entre otras muchas aplicaciones.

Pero los avances de la bioquímica han sido importantes no solo para la genética y la inmunología, sino que abarcan muchos otros campos. Algunos hallazgos se han alcanzado en relación con la caracterización de las alteraciones del metabolismo lipídico en general, y particularmente en cuanto a los factores que favorecen la aparición de arteriosclerosis. En 1968 Glomset propuso la teoría del transporte reversible de colesterol y el papel de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) en el retorno de este esteroide al hígado; en 1975 Brown y Goldstein describen la ruta de los receptores de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) para estas partículas, vía importante en la regulación del colesterol sanguíneo.

En 1986, Furchtgott identifica al óxido nítrico como el factor relajante del endotelio (EDRF) causante de la relajación de las células del músculo liso; en 1988 Moncada describió la biosíntesis del óxido nítrico en las células endoteliales, a partir de la L-arginina, y años más tarde Ignarro describe la regulación de su síntesis.

Por esta época, Murad había identificado el papel de la guanilato ciclase y del GMPc en el mecanismo de acción del EDRF, aunque él no lo identificó como el óxido nítrico. Por el conjunto de estos resultados, en el esclarecimiento del papel del óxido nítrico como molécula señal en el sistema cardiovascular les fue conferido el premio Nobel en 1998, del cual fue excluido Moncada, sin que la comunidad científica tuviera alguna explicación para esta omisión.

La unión de grupos fosfatos a determinadas proteínas era conocida desde el siglo XIX, sin haberse identificado aún su enorme relevancia en mecanismos de regulación de muchas de ellas. En 1955 los trabajos de Fisher y Krebs, así como de Wosilait y Sutherland pusieron en evidencia la importancia de la fosforilación y desfosforilación en la regulación de enzimas del metabolismo del glucógeno. Muchas investigaciones posteriores demostraron la importancia de este mecanismo en el control de la actividad de numerosas proteínas, y hoy día se plantea que alrededor de la tercera parte de las proteínas de células de mamíferos experimentan el proceso de fosforilación-desfosforilación, lo que modifica acciones en actividad enzimática, movimiento de proteínas hacia compartimentos subcelulares, marcaje de proteínas para su degradación, respuesta de algunos receptores hormonales a la unión de su ligando y de canales iónicos ante moléculas señales, entre otras.

En 1992 se les entregó el premio Nobel de Medicina a Fisher y Krebs por sus trabajos pioneros en el fenómeno de fosforilación-defosforilación.

En 1977 Ross y Gilman reportaron que una proteína de 40 kDa que unía GTP , era capaz de activar a la adenilato ciclase, esta proteína era la proteína Gs. Cassel y Selinger determinaron que la unión de las hormonas glucagón y adrenalina (epinefrina) interactuaba con la proteína G En 1986 estudios deADNc permitieron deducir la estructura de las tres subunidades de algunas de las proteínas G y años más tarde varios trabajos de diferentes autores esclarecían el papel de la proteína G como mediadora en la acción de algunas hormonas. En 1994 Ross y Gilman recibieron el premio Nobel por el descubrimiento de la proteína G

Hunt descubre en 1980 las ciclinas, importantes proteínas que intervienen en el control del ciclo celular; trabajos ulteriores de Hartwell establecen el papel de determinados genes llamados *start* (del inglés, inicio) que controlaban el primer paso del ciclo celular; otros resultados obtenidos por el propio Hartwell y Nurse esclarecen el papel de las quinasas dependientes de ciclinas en la regulación del ciclo celular. A partir de estos resultados han sido numerosas las investigaciones relacionadas con la regulación del ciclo celular en condiciones normales, así como su afectación en diferentes enfermedades relacionadas con el cáncer. El premio Nobel de 2001 fue otorgado a Hartwell, Hunt y Nurse por sus trabajos pioneros relacionados con las ciclinas, las quinasas dependientes de ciclinas y la regulación del ciclo celular.

Un resultado de trascendental importancia fue el que obtuvo Robert Horvitz en 1986, al esclarecer las reglas fundamentales de los procesos programados de muerte celular , usando en sus investigaciones el modelo bien caracterizado del nematodo *Caenorhabditis elegans*. En 2002 le fue otorgado el premio Nobel a Horvitz, Brenner y Sulston por su descubrimiento relativo a la regulación genética del desarrollo de los órganos y la muerte celular programada.

Por otra parte, también se han obtenido avances en el esclarecimiento de adaptaciones metabólicas que ocurren en células cancerosas, lo que unido al descubrimiento de los oncogenes y a los estudios realizados con el proceso de transformación celular constituyen una esperanzadora perspectiva para un futuro prometedor en la lucha contra esta terrible enfermedad.

El avance vertiginoso experimentado por la ingeniería genética y la biotecnología, así como la inmunología, en cuyos desarrollos ha contribuido significativamente la bioquímica, han permitido que sean posibles sus aplicaciones al diagnóstico, a la elaboración de vacunas y productos naturales y se señalen perspectivas futuras para el tratamiento de enfermedades hasta ahora incurables.

En relación con los avances científicos, la tabla 1.1, al final del capítulo, muestra la relación de galardonados con el premio Nobel en Medicina, Fisiología y ciencias afines desde 1901 hasta 2011.

Aportes de la bioquímica a otras ciencias biológicas

Por ser la bioquímica la ciencia que explica las bases moleculares de la vida, resulta fácil comprender cómo los logros y avances de aquella repercuten en las demás ciencias biológicas; puede por tanto decirse que todos los descubrimientos, todo el progreso científico alcanzado por la bioquímica ha implicado un aporte para las demás ramas de la biología, y en la medida que aquella se desarrollaba, impulsaba el progreso de ciencias afines.

Asimismo el conocimiento de la composición química de numerosas sustancias naturales presentes en los seres vivos, el estudio de la estructura de las biomoléculas, sus propiedades y organización macromolecular demostraron la relación indisoluble entre la estructura de todas ellas y la función que desempeñan.

La bioquímica ha aportado elementos importantes de apoyo a la teoría evolucionista, como son: la similitud estructural de moléculas que desempeñan las mismas funciones en

distintas especies, la universalidad del código genético y la existencia de numerosas vías metabólicas semejantes en distintos organismos, por solo citar algunos.

Experiencias de simulación en los laboratorios, que reproducen con determinada fidelidad aspectos esenciales de las condiciones presumiblemente existentes en la Tierra primitiva, han aportado valiosos datos a la teoría del origen abiótico de la vida y a la comprensión de los eventos que pudieran haber ocurrido en el largo proceso de la formación de la materia orgánica y de los primeros organismos vivos.

La dilucidación de la estructura tridimensional de biopolímeros permitió comprender además, los mecanismos moleculares de su función, lo que ha significado un avance tremendo en el conocimiento de la forma en que se realizan procesos tan fundamentales para la vida, como la acción catalítica de las proteínas enzimáticas (los biocatalizadores) y entender la manera en que otras proteínas realizan su función.

El modelo de Watson y Crick en la estructura del ADN y el descifrado del código genético hicieron posible la comprensión de los mecanismos generales del almacenamiento, transmisión y expresión de la información genética. El esclarecimiento de estos procesos en células procariotas y eucariotas ha permitido aplicar algunos de los conocimientos adquiridos en ramas diversas como: la agricultura, la microbiología, las medicinas humana y veterinaria, etcétera; muchos de los aportes de la bioquímica en esta temática han sido de aplicación en la preparación de medicamentos variados, como muchos antibióticos y citostáticos.

La comprensión al nivel molecular de fenómenos biológicos de gran importancia como mutación, duplicación y recombinación de genes, ha permitido entender las fuentes de variación poblacional, base de la teoría evolucionista, así como la resistencia a antibióticos desarrollada por algunas cepas de microorganismos; a su vez que ha facilitado la identificación de enfermedades moleculares y otras alteraciones hereditarias, lo que ha significado un avance fundamental a las ciencias médicas, como veremos más adelante con más detalle.

Los aportes de la bioquímica a la genética han sido numerosos y trascendentales. El aislamiento y caracterización funcional de algunas enzimas y otros compuestos importantes involucrados en la biosíntesis de proteínas y transmisión de la información genética, han sido fundamentales para el surgimiento de la ingeniería genética.

La dilucidación de las distintas vías metabólicas como la fotosíntesis y la respiración celular, así como la función de la molécula de ATP en el almacenamiento y transferencia de energía en los distintos organismos vivos, han permitido la comprensión molecular de aspectos esenciales de la vida, como el intercambio de sustancia y energía con el medio y la autorregulación, así como los mecanismos de la biotransducción; esto es, la capacidad que tienen los organismos vivos de cambiar un tipo de energía en otro.

Tanto el conocimiento de la estructura tridimensional de las proteínas, con función de anticuerpos (las inmunoglobulinas) como el esclarecimiento de los mecanismos de almacenamiento y expresión de la información genética, han permitido esclarecer en gran medida la capacidad de estas moléculas, para reconocer compuestos variados y reaccionar específicamente con estos. Ello ha contribuido al desarrollo de la inmunología y las ciencias relacionadas y constituye un valioso ejemplo del reconocimiento molecular que se manifiesta también en las interacciones hormona-receptor y enzima-sustrato.

El estudio de las asociaciones supramoleculares ha significado un salto cualitativo en la biología celular y ha dado lugar al desarrollo de la biología molecular; de esta manera, el estudio de la asociación de distintos tipos de lípidos complejos, proteínas y algunos glúcidos permitió dilucidar la estructura íntima de las membranas biológicas y comprender mejor algunas de sus funciones, como el transporte selectivo de sustancias. Por otra parte, la constitución de los ribosomas y la cromatina ha podido entenderse mucho mejor en la medida que se ha profundizado en las interacciones de las proteínas y los ácidos nucleicos.

La microbiología, la botánica, la agricultura, la industria farmacéutica, la biología celular, la inmunología, la genética, la ingeniería genética y la biotecnología, así como las ciencias médicas, tanto la veterinaria como la humana, han recibido importantes beneficios en las aplicaciones concretas de numerosos descubrimientos bioquímicos a sus intereses particulares, lo que ha redundado en avances importantes de estas ciencias afines.

No podemos olvidar el aporte tecnológico y metodológico que la bioquímica ha entregado a otras ramas biológicas, entre las que pueden mencionarse: las técnicas cromatográficas, las electroforéticas, las de ultracentrifugación, las enzimáticas, el marrage radioisotópico, la síntesis de macromoléculas, el aislamiento de genes y su inclusión en el material genético de una célula ajena y la amplificación y recombinación de genes, por solo citar algunas de las más universalmente empleadas.

Aplicación de la bioquímica a las ciencias médicas

En el acápite anterior tratamos los aportes de esta ciencia a otras ramas biológicas de forma general, ahora abordaremos el estudio de la contribución de la bioquímica a las ciencias médicas de forma particular.

Desde la antigüedad se conocía que con el aporte de determinados alimentos a la dieta se lograba obtener la cura de algunas enfermedades, más tarde identificadas como enfermedades nutricionales. La bioquímica ha sido principalmente la que pudo esclarecer la función de cada uno de los distintos nutrientes en el organismo, proporcionando con ello mejores condiciones a la práctica médica, en la prevención y tratamiento de las enfermedades nutricionales por carencia y por exceso, al haberse establecido las cantidades requeridas de cada uno de estos nutrientes para el desarrollo normal del individuo.

Algo similar pudiera decirse acerca de las enfermedades endocrinas, las que se presentan por carencia o exceso de las hormonas. Las hormonas son compuestos biológicos que aunque poseen naturaleza química variada, desempeñan todas ellas funciones de regulación en los organismos pluricelulares. Para comprender mejor las endocrinopatías se hizo necesario esclarecer las funciones de las hormonas.

La diabetes mellitus, enfermedad muy difundida en el mundo, se manifiesta por aumento de la glucosa sanguínea, la que puede también aparecer en la orina. Los enfermos diabéticos no tratados pueden sufrir múltiples complicaciones, pero los síntomas se reivierten en la mayoría de los casos, por la administración de la hormona insulina o compuestos que estimulan su secreción, y con una dieta apropiada. El diabético se reconoce como un enfermo que presenta déficit de acción insulínica, que resulta fundamental en la regulación del metabolismo.

Por disminución de la síntesis de hormona o por exceso se presentan una serie de enfermedades, las que han podido ser mejor interpretadas y por lo tanto eficientemente controladas, en la misma medida en que se han ido conociendo la estructura, las propiedades y el mecanismo íntimo de acción de la hormona correspondiente. Por otra parte, el conocimiento de la estructura de las que presentan naturaleza proteínica, como la insulina y la hormona del crecimiento, ha permitido su síntesis química lo que también se ha logrado por medio de la ingeniería genética.

El conocimiento de las enfermedades moleculares adquiere especial relieve, su causa radica en un déficit de alguna proteína (con frecuencia una enzima) o en la síntesis de proteínas anormales, por presentar uno o más aminoácidos diferentes en relación con la normal, tal es el caso de numerosos cuadros que se transmiten de forma hereditaria. Con el avance actual pueden ser detectados los portadores y realizarse, cuando proceda, el diagnóstico intraútero, lo que permite a los padres decidir con la asesoría de un especialista, la interrupción o no del embarazo.

Existen muchas enfermedades de este tipo, ejemplo de ellas es la drepanocitosis o anemia falciforme, enfermedad que se caracteriza por la presencia de una hemoglobina anormal, que provoca serias alteraciones del glóbulo rojo y su eventual destrucción implícita cuadros hemolíticos u obstructivos que pueden ser muy severos. Estos casos son detectados en nuestro país y se orientan a las parejas portadoras, de acuerdo con su descendencia.

Otras enfermedades moleculares conocidas también como “errores congénitos del metabolismo”, se presentan por un déficit de alguna enzima o la formación de proteínas enzimáticas anormales. Un caso importante de este tipo de enfermedad es la oligofreñia fenilpirúvica o fenilcetonuria, la cual se produce por la carencia de una enzima necesaria para el metabolismo de algunos aminoácidos; como consecuencia se forman algunos metabolitos colaterales en grandes cantidades y se origina un significativo retraso mental. Este retraso puede ser evitado si se realiza el diagnóstico precoz, después del nacimiento y se somete al niño afectado a un tratamiento dietético especial. La prueba bioquímica diagnóstica para detectar estas enfermedades se realiza en nuestro país a todos los recién nacidos, lo que permite su tratamiento oportuno y se evita la aparición del retraso mental.

La importancia del conocimiento de las alteraciones bioquímicas no se aplica solo a las enfermedades moleculares, sino a muchas otras. En distintos países del mundo se realizan numerosas investigaciones para estudiar las bases moleculares de la transformación de una célula normal en cancerosa.

A nuestras embarazadas se les determina de manera precoz la presencia en suero sanguíneo de una proteína fetal (α -feto proteína), la cual aumenta en el suero materno cuando existen alteraciones en el desarrollo del feto; la positividad de esta prueba, con el estudio morfológico del feto por ultrasonido, puede aconsejar la interrupción del embarazo, si se detecta alguna anomalía congénita severa, lo que brinda una mayor seguridad para la futura madre.

Estos programas de detección y tratamiento precoz a embarazadas y recién nacidos son parte del ambicioso plan de salud de nuestro país, y se caracterizan por poner en manos de nuestra población de forma gratuita la utilización del desarrollo científico y tecnológico, entre los que ocupan un lugar importante los aportados por la bioquímica.

En el diagnóstico clínico se utilizan muchos indicadores bioquímicos, enzimáticos o no, que resultan de apreciado valor como ejemplo pudiéramos citar el estudio de determinadas transaminasas, las cuales se liberan al suero sanguíneo durante afecciones que implican daño de las células hepáticas.

Igual principio se aplica en la determinación de un gran conjunto de enzimas relacionadas con el daño hístico en diversos órganos, como es la determinación de las enzimas láctico deshidrogenasa, creatinoquinasa y las propias transaminasas en el diagnóstico del infarto del miocardio; ello no solo es útil en el diagnóstico, permite seguir la evolución del paciente y a menudo tiene valor para poder predecir la respuesta del enfermo (valor pronóstico).

Además de las investigaciones enzimáticas, en los laboratorios clínicos se emplea de manera corriente la determinación de concentraciones de distintas sustancias, que pueden indicar alteraciones metabólicas y algunas complicaciones que se sobreañaden a un cuadro clínico. Podemos ver cómo se determinan las concentraciones de glucosa, cuerpos cetónicos, proteínas séricas, ácido láctico y lípidos, por solo citar algunos indicadores de gran valor en la práctica médica.

Es de resaltar la rapidez con la cual en los últimos años se logran llevar a la práctica médica los adelantos de la bioquímica, que tienen relevancia en el diagnóstico o tratamiento de enfermedades.

La farmacología ha aplicado también de manera exitosa resultados obtenidos en bioquímica en la preparación de medicamentos. Muchos inhibidores de las enzimas y de la síntesis de proteínas han mostrado ser de utilidad en el tratamiento médico, ejemplo: prostaglandinas y otros derivados lipídicos, quimioterápicos, antibióticos y citostáticos. Una mención especial para los medicamentos utilizados en el tratamiento del sida, los cuales constituyen inhibidores de enzimas virales esenciales para su replicación o patogenicidad.

La respuesta inmunológica ante agentes extraños, aspecto de fundamental importancia en la defensa del organismo, en especial ante infecciones, ha podido ser mejor comprendida por los estudios de la estructura y mecanismos de síntesis de las immunoglobulinas, lo cual han favorecido la interpretación de las respuestas inmunológicas deficientes, las enfermedades alérgicas y la histocompatibilidad.

Los avances de la biología molecular de la ingeniería genética y la biotecnología en los últimos años han abierto posibilidades insospechadas en las ramas biomédicas hace apenas unos años. En el tomo IV de este libro, en las secciones: “Alteraciones bioquímicas en la patología humana”, “Problemas actuales de la bioquímica”, “Bases moleculares de la nutrición humana” y en general en todo el texto, se irán tratando con mayor profundidad estos y otros aspectos relacionados con los aportes de la bioquímica a las ciencias médicas.

Objeto de estudio de la bioquímica

Después de haber realizado una revisión somera del surgimiento y desarrollo de la bioquímica como ciencia, y detallado algunos de sus aportes a las ciencias biológicas en general y a las ciencias médicas en particular, restamos en condiciones de concretar su objeto de estudio. La bioquímica y en especial la bioquímica humana se ocupa del estudio de:

1. La relación composición-conformación-función de las *biomoléculas*, o sea, el estudio de la composición elemental y estructura química de las moléculas biológicas, que incluyen su conformación tridimensional y la relación íntima entre esta y la función específica de cada una de ellas.
2. Las *asociaciones supramoleculares* que constituyen la base de las estructuras celulares, los tejidos y organismo, así como las bases moleculares de la diferenciación y especialización de los tejidos en los organismos pluricelulares.
3. Los mecanismos íntimos de acción de los *biocatalizadores* y su regulación.
4. La *biotransducción*, o sea, los procesos mediante los cuales ocurre el cambio de un tipo de energía en otro en los organismos vivos.
5. Las bases moleculares de la *conservación, transferencia y expresión de la información genética* y su regulación.
6. Los *procesos metabólicos* celulares e hísticos y sus mecanismos reguladores.
7. Las *alteraciones bioquímicas* en diversas enfermedades.

Tabla 1.1. Relación de galardonados con el Premio Nobel de Medicina, Fisiología y Ciencias afines desde 1901 hasta 2011 y los aportes científicos por el que fueron premiados

Año	Nombre de los laureados	Apunte científico
1901	Emil Adolf von Behring	Terapia sérica y su aplicación contra la difteria
1902	Sir Ronald Ross	Papel de los insectos como vectores en el ciclo de infección (malaria)
1903	Niels Ryberg Finsen	Contribución al tratamiento de enfermedades, especialmente <i>Lupus vulgaris</i> , con radiación luminosa
1904	Iván Petrovich Pavlov	Fisiología de la digestión (reflejos condicionados)
1905	Robert Koch	Descubrimiento del bacilo de Koch, causante de la tuberculosis
1906	Camilo Golgi	Estructura del sistema nervioso y Santiago Ramón y Cajal
1907	Charles Louis Alphonse Laveran	Papel de los protozoos en la causa de enfermedades
1908	Iliá Mechnikov	Trabajo sobre inmunidad y Paul Ehrlich
1909	Emil Theodor Kocher	Fisiología, patología y cirugía de la glándula tiroides
1910	Albrecht Kossel	Química celular, especialmente sobre proteínas y sustancias nucleicas
1911	Allvar Gullstrand	Dioptías del ojo
1912	Alexis Carrel	Sutura vascular y el trasplante de vasos sanguíneos y órganos
1913	Charles Robert Richet	Anafilaxis
1914	Robert Bárány	Fisiología y patología del aparato vestibular
1915-1918	Desierto. Primera Guerra Mundial	El dinero del premio fue entregado al Fondo Especial para esta sección del Premio Nobel
1919	Jules Bordet	Inmunidad
1920	Schack August Steenberger Krogh	Mecanismos motores reguladores de los capilares
1921	Desierto	El dinero del premio fue entregado al Fondo Especial para esta sección del Premio Nobel
1922	Premio compartido entre: Sir Archibald Vivian Hill y Otto Fritz Meyerhof	Producción de calor por el músculo Relación entre el consumo de oxígeno y el metabolismo del ácido láctico en el músculo
1923	Sir Frederick Grant Banting y John James Richard	Descubrimiento de la insulina
1924	William Einthoven	Mecanismo del electrocardiograma
1925	Desierto	El dinero del premio fue entregado al Fondo Especial para esta sección del Premio Nobel
1926	Johannes Andreas Gris Fibiger	Descubrimiento del Spiroptera carcinoma
1927	Julius Wagner-Jauregg	Valor terapéutico de la inoculación de malaria en el tratamiento de la demencia paralítica

1928	Charles Jules Henri Nicolle	Trabajo sobre el tifus
1929	Compartido entre: Christian Eijkman y Sir Frederick Gowland Hopkins	Descubrimiento de la vitamina antineurítica Descubrimiento de vitaminas estimulantes del crecimiento
1930	Karl Landsteiner	Descubrimiento de los grupos sanguíneos
1931	Otto Heinrich Warburg	Naturaleza y modo de acción de las enzimas respiratorias
1932	Sir Charles Scout y Lord Edgar Douglas Adrian	Descubrimiento de las funciones de las neuronas
1933	Thomas Hunt Morgan	Papel de los cromosomas en la herencia
1934	George Hoyt Whipple, George Richards Minot y William Parry Murphy	Terapia del hígado en casos de anemia
1935	Hans Spemann	Efecto organizador en el desarrollo embrionario
1936	Sir Henry Hallett	Trasmisión química del impulso nervioso y Otto Loewi
1937	Albert Szent-Györgyi von Nagyrapolt	La vitamina C y la catálisis del ácido fumárico
1938	Cornéille Jean y François Heymans	Mecanismos sinusal y aórtico en la regulación de la respiración
1939	Gerhard Domagk	Efecto antibacterial del prontosil
1940-1942	Desierto. Segunda Guerra Mundial	El dinero del premio fue al Fondo principal (1/3) y al Fondo Especial (2/3) de esta sección del Premio Nobel
1943	Compartido entre: Henrik Carl Meter Dam y Edward Adelbert Doisy	Descubrimiento de la vitamina K Naturaleza química de la vitamina K
1944	Joseph Erlanger y Herbert Spencer Gasser	Funciones altamente diferenciadas de las fibras nerviosas
1945	Sir Alexander Fleming, Sir Ernst Boris Chain y Lord Howard Walter Florey	Descubrimiento de la penicilina y su efecto curativo en diferentes enfermedades infecciosas
1946	Hermann Joseph Muller irradiación con rayos X	Producción de mutaciones por medio de la
1947	Compartido entre: Carl Ferdinand Cori Bernardo Alberto Houssay	Descubrimiento de las etapas de la conversión catalítica del glucógeno Papel de la hormona del lóbulo anterior de la hipófisis en el metabolismo de la glucosa
1948	Paul Hermann Müller	Eficacia del DDT como veneno por contacto contra varios artrópodos
1949	Compartido entre: Walter Rudolf Hess y Antonio Caetano de Abreu Freire Egas Montz	Organización funcional de los hemisferios cerebrales como coordinadores de las actividades de los órganos internos Descubrimiento del valor terapéutico de la lobotomía en ciertas psicosis

Tabla 1.1. (continuación)

Año	Nombre de los laureados	Aporte científico
1950	Edward Calvin Kendall, Tadeus Reichstein	Descubrimiento de las hormonas de la corteza adrenal, su estructura y efectos biológicos y Philip Showalter Hench
1951	Max Theiler	La fiebre amarilla y cómo combatirla
1952	Selman Abraham Waksman	Descubrimiento de la estreptomicina, el primer antibiótico efectivo contra la tuberculosis
1953	Compartido entre: Sir Hans Adolf Krebs Fritz Albert Lipmann	Descubrimiento del ciclo del ácido cítrico Descubrimiento de la coenzima A y su importancia en el metabolismo intermedio
1954	John Franklin Enders, Thomas Huckle Séller y Frederick Chapman Robbins	Habilidad del virus de la poliomielitis para crecer en cultivos de diferentes tipos de tejidos
1955	Axel Hugo Theodor Theorell	Naturaleza y modo de acción de enzimas de oxidación
1956	André Frédéric Cournard, Werner Forssmann y Dickinson W. Richards	Cateterización del corazón y cambios patológicos en el sistema cardiocirculatorio
1957	Daniel Bovet	Descubrimiento de compuestos sintéticos que inhiben la acción de ciertas sustancias del organismo y especialmente su acción sobre el sistema vascular y los músculos esqueléticos
1958	Compartido entre: George Wells Beadle y Edward Lawrie Tatum Joshua Lederberg	Descubrimiento de genes que actúan regulando eventos químicos específicos Recombinación genética y organización del material genético de bacterias
1959	Severo Ochoa y Arthur Kornberg	Mecanismo en la biosíntesis de los ácidos ribonucleicos y los ácidos desoxirribonucleicos
1960	Sir Frank MacFarlane y Sir Peter Brian Medawar	Tolerancia inmunológica adquirida
1961	Georg von Békésy	Mecanismo físico de estimulación en la cóclea, oído interno
1962	Francis Harry Compton, James Dewey Watson y Maurice Hugo Frederick Wilkins	Estructura molecular del ADN y su significación en la transmisión de la información genética en los organismos vivos
1963	Sir John Carew Eccles, Sir Alan Lloyd Hodgkin y Andrew Fielding Huxley	Mecanismos iónicos involucrados en la excitación e inhibición de las porciones periféricas y centrales de la membrana de la célula nerviosa
1964	Honrad Bloch y Feodor Lynen	Mecanismo y regulación del metabolismo del colesterol y ácidos grasos
1965	François Jacob, André Lwoff y Jacques Monod	Control genético de la síntesis de enzimas y virus
1966	Peyton Rous Charles Brenton Huggins	Descubrimiento de virus que inducen tumores Tratamiento hormonal del cáncer prostático
1967	Ragnar Granit, Haldan Keffer Hartline y George Wald	Fisiología y química de los procesos visuales en los ojos

1968	Robert W. Holley, Har Gobind Khorana y Marshall W. Nirenberg	Interpretación del código genético y su función en la síntesis de proteínas
1969	Max Delbrück, Alfred D. Hershey y Salvador E. Luria	Mecanismo de replicación y estructura génica de los virus
1970	Sir Bernard Katz, Ulf von Euler y Julius Axelrod	Transmisores humorales en las terminaciones nerviosas y el mecanismo de su almacenamiento, liberación e inactivación
1971	Earl W. Jr. Sutherland	Mecanismo de acción de las hormonas
1972	Gerald M. Edelman y Rodney R. Porter	Estructura química de los anticuerpos
1973	Karl von Frisch, Konrad Lorenz y Nikolaas Tinbergen	Organización y respuesta de los patrones de comportamiento individual y social
1974	Albert Claude, Christian de Duve y George E. Palade	Organización estructural y funcional de la célula
1975	David Baltimore, Renato Dulbecco y Howard Martin T. Temin	Interacción entre virus tumorales y el material genético de la célula
1976	Baruch S. Blumberg y D. Carleton Gajdusek	Nuevos mecanismos para el origen y diseminación de enfermedades infecciosas
1977	Compartido entre: Roger Guillemin y Andrew V. Schally Rosalyn Yalow	Producción de hormonas peptídicas por el cerebro Radioinmunoensayo de hormonas peptídicas
1978	Werner Arber, Daniel Nathans y Hamilton O. Smith	Descubrimiento de enzimas de restricción y su aplicación a problemas de genética molecular
1979	Alan M. Cormack y Sir Godfrey N. Hounsfield	Desarrollo de la tomografía computarizada asistida
1980	Baruj Benacerraf, Jean Dausset y George D. Snell	Estructuras en la superficie celular, genéticamente determinadas, que regulan las reacciones inmunológicas
1981	Roger W. Sperry	Especialización funcional de los hemisferios cerebrales
1982	Sune K. Bergström, Bengt I. Samuelsson y Sir John R. Vane	Descubrimiento de las prostaglandinas y otras sustancias relacionadas biológicamente activas
1983	Barbara McClintock	Descubrimiento de elementos genéticos móviles que afectan la herencia
1984	Niels K. Jerne, Georges J.F. Köhler y César Milstein	Especificidad en el desarrollo y control del sistema inmune y el descubrimiento del principio para la producción de anticuerpos monoclonales
1985	Michael S. Brown y Joseph L. Goldstein	Descubrimiento de los receptores de LDL y su papel en la regulación del metabolismo del colesterol
1986	Stanley Cohen	Descubrimiento de factores de crecimiento y Rita Levi-Montalcini
1987	Susumu Tonegawa	Principio genético de generación de la diversidad de los anticuerpos (recombinación somática)
1988	Sir James W. Black, Gertrude B. Elion y George H. Hitchings	Importantes principios para el tratamiento con drogas

Tabla 1.1. (continuación)

Año	Nombre de los laureados	Aporte científico
1989	J. Michael Bishop y Harold E. Varmus	Origen celular de los oncogenes retrovirales
1990	Joseph E. Murria y E. Donnall Thomas	Trasplantes de órganos y celulares en el tratamiento de enfermedades humanas
1991	Erwin Neher y Bert Sakmann	Función de canales de iones en las célula
1992	Edmond H. Fischer y Edwin G. Krebs	Descubrimiento de la fosforilación reversible de proteínas como un mecanismo de regulación biológica
1993	Richard J. Roberts y Phillip A. Sharp	Descubrimiento independiente de la división de los genes
1994	Alfred G. Gilman y Martin Rodbell	Descubrimiento de las proteínas G y su papel en la transducción de señales en las células
1995	Edward B. Lewis, Christiane Nüsslein-Volhard y Eric F. Wieschaus	Control genético del desarrollo embrionario temprano
1996	Meter C. Doherty y Rolf M. Zinkernagel	Especificidad de la célula en la defensa immune mediata
1997	Stanley B. Prusiner	Descubrimiento de los priones, nuevo principio biológico de infección
1998	Robert F. Furchtgott, Louis J. Ignarro y Ferid Murad	El ácido nítrico como molécula señal en el sistema cardiovascular
1999	Günter Blobel	Las proteínas poseen señales intrínsecas que gobernan su transporte y localización en la célula
2000	Arvid Carlsson, Paul Greengard y Eric Kandel	Transducción de señales en el sistema nervioso
2001	Leland H. Hartwell, R. Timothy Hunt y Paul M. Nurse	Reguladores claves del ciclo celular
2002	Sydney Brenner, H. Robert Horvitz y John E. Sulston	Regulación genética y desarrollo orgánico, y muerte celular programada
2003	Paul C. Lauterbur y Sir Meter Mansfield	Imágenes por resonancia magnética
2004	Richard Axel y Linda B. Buck	Descubrimiento de los receptores de olores y organización del sistema olfatorio
2005	Barry J. Marshall y J. Robin Warren	Descubrimiento del <i>Helicobacter pylori</i> y su papel en la gastritis y la úlcera péptica
2006	Andrew Z Fire y Craig C. Mello	Silenciamiento genético por ARN de doble cadena (ARNdc)
2007	Mario R. Capecchi, Sir Martin J. Evans Oliver Smithies	Descubrimiento de modificaciones genéticas específicas en ratones por el uso de células y madres embrionarias
2008	Dividido: Harald zur Hausen	Descubrimiento de que el virus del papiloma humano causa cáncer cervical

	Françoise Barré-Sinoussi y Luc Montagnier	Descubrimiento del virus de inmunodeficiencia humana (VIH)
2009	Elizabeth H. Blackburn, Carol W. Greider y Jack W. Szostak	El descubrimiento de cómo los cromosomas son protegidos por el telómero y las telomerasas
2010	Robert G. Edwards	Desarrollo de la fertilización in vitro
2011	Dividido: Bruce A. Beutler y Jules A. Hoffmann Ralph M. Steinman	Descubrimiento de la activación de la inmunidad innata Las células dendríticas y su papel en la inmunidad adquirida

Resumen

La bioquímica es una ciencia del siglo pasado, aunque sus raíces se ubican a finales del siglo XVIII, se constituye como tal, alcanza su mayor auge ~~en~~ el siglo XX y se enriquece en el XXI.

La bioquímica ha hecho aportes a otras ramas afines y ha impulsado sus desarrollos. El conocimiento alcanzado en la composición, estructura química y función de las biomoléculas, el esclarecimiento de las distintas vías metabólicas y su regulación, la dilucidación de los mecanismos de la biocatálisis y la biotransducción y de las bases moleculares del almacenamiento, transmisión y expresión de la información genética han redundado en avances en todas las ramas de la biología.

Muchos descubrimientos en aspectos básicos fundamentales de la bioquímica han incidido de forma directa en el desarrollo de la genética, la inmunología, la microbiología y la farmacología, lo cual ha permitido numerosas aplicaciones de estas especialidades a la práctica médica, tanto en el diagnóstico preciso de una serie de enfermedades, preparación de vacunas y otros medicamentos como en la mejor comprensión de las enfermedades moleculares, endocrinas, metabólicas y alteraciones de la respuesta inmunológica, proporcionando la detección precoz de estas enfermedades y la orientación de la conducta médica más apropiada en cada caso.

Los logros alcanzados en los últimos años por la ingeniería genética y la biotecnología, así como sus enormes perspectivas nos hacen presumir que en los años venideros se deben conseguir soluciones definitivas a problemas actuales de la medicina como la arteriosclerosis, algunas afecciones inmunológicas y el cáncer, entre otros.

Ejercicios

1. Mencione cinco aportes de la bioquímica que hayan redundado en el desarrollo de la biología general.
2. Seleccione entre los aportes de la bioquímica a las ciencias biológicas aquellos que apoyan la teoría evolucionista.
3. Mencione los avances científicos de la bioquímica que han incidido en una mejor comprensión de las enfermedades moleculares.
4. ¿Cuáles resultados de la bioquímica han incidido de manera directa en el desarrollo de la inmunología y la genética?
5. Fundamente, al menos con cuatro aspectos concretos, la importancia del estudio de la bioquímica para los alumnos de ciencias médicas.
6. Enuncie los aportes de la bioquímica que han contribuido al desarrollo de la ingeniería genética y la biotecnología.
7. Enuncie los distintos aspectos del objeto de estudio de la bioquímica.

La disciplina Bioquímica

En el capítulo anterior se expusieron numerosos aportes de la bioquímica al desarrollo de las ciencias médicas, que resaltan varias aplicaciones prácticas al diagnóstico y al tratamiento de diversas enfermedades; de ello se infiere la necesidad del conocimiento de esta ciencia para los profesionales de la salud, por lo que su estudio se incluye en los planes de las distintas especialidades médicas.

Además, la Bioquímica brinda los conocimientos básicos que se requieren para la comprensión cabal de numerosos contenidos de otras disciplinas médicas como: Fisiología, Histología, Genética, Inmunología, Microbiología, Laboratorio Clínico y Fisiopatología, entre otras.

La Bioquímica tiene un perfil muy amplio, como se deduce fácilmente de su objeto de estudio (capítulo 1). Por razones obvias, en los programas de esta disciplina, dirigidos a profesionales de las ciencias médicas, independiente del plan de estudio que se trate, incluyendo los niveles de pregrado y posgrado, es imprescindible que se aborden aquellos aspectos básicos esenciales de la bioquímica humana para dichos especialistas, y que estos se traten con un enfoque médico, así como deberán estar ajustados al tiempo asignado para la disciplina según el plan de estudio.

En reserva del tipo de plan de estudio, de su metodología, contenido, sistema de habilidades, etc., es conveniente realizar un enfoque en sistema de esta disciplina y conocer las leyes que la rigen como ciencia, así como las principales generalizaciones, lo cual constituye el objetivo de este capítulo.

La disciplina Bioquímica en el plan de estudio del profesional de las ciencias médicas

La disciplina Bioquímica tiene el propósito de proveer a los alumnos de las diferentes especialidades de las ciencias médicas, de los contenidos básicos generales de esta ciencia aplicables al ser humano, y en lo posible debe estar dirigida hacia los intereses de su perfil profesional, así como contribuir a la concepción científica del mundo, a la consolidación de los valores éticos y morales de la sociedad, con un profundo sentido humanista y acorde con el desarrollo de un pensamiento científico.

Por ello, al elaborar los planes y programas de esta disciplina es conveniente tener en cuenta:

1. Prestar atención preferencial a los aspectos más generales de esta especialidad, haciendo énfasis en las regularidades de mayor universalidad para tratar de brindar a los estudiantes, en el menor contenido posible, una visión actualizada y lograr que se apropien de los métodos y procedimientos que los faculten para el análisis y la interpretación de los fenómenos bioquímicos.
2. Promover un aprendizaje activo, con la aplicación de métodos que contribuyan a formar un pensamiento creador en los alumnos, que los entrenen para incorporar de forma independiente nuevos conocimientos relacionados con esta u otra especialidad.
3. Abordar de forma integral el estudio de los procesos celulares vinculados con la composición y organización supramolecular de las estructuras subcelulares, donde aquellos se llevan a cabo, concibiendo la célula como unidad funcional de los seres vivos.
4. Hacer énfasis especial en la significación biológica de los fenómenos bioquímicos y dedicar mucha atención a su vinculación con los aspectos médicos, preventivos y de promoción de salud.
5. Utilizar las posibilidades que brinda esta ciencia para contribuir a la concepción materialista del mundo y a la formación de valores morales en los estudiantes, acorde con los intereses de nuestra sociedad.

Categorías, principios y conceptos generales

La disciplina Bioquímica como toda ciencia implica un sistema de conocimientos; este incluye conceptos y leyes de variados grados de generalización, desde los más particulares que se aplican solo a aspectos específicos de la especialidad, hasta los más generales que son de aplicación a gran parte o a toda la disciplina. En los conocimientos de mayor grado de generalización que se aplican a toda la disciplina se incluyen las categorías, los conceptos generales y los principios.

Categorías

Son conceptos centrales que abarcan toda la ciencia. Las categorías en la disciplina Bioquímica son:

1. *Las biomoléculas*. Se aplican a las formas de organización de las diversas moléculas específicas de la materia viva y reflejan el carácter material de los constituyentes de los seres vivos.
2. *La biocatálisis*. Refleja las características de todas y cada una de las transformaciones catalizadas por enzimas, que ocurren en los organismos vivos; también incluye su fundamento energético, la eficiencia y especificidad, así como su regulación.
3. *La biotransducción*. Manifiesta los múltiples procesos biológicos que implican la conversión de un tipo de energía en otra, así como los mecanismos íntimos que producen dicha interconversión energética.
4. *La bioinformación*. Refleja la propiedad de los seres vivos de mantener, reproducir y expresar –mediante mecanismos diversos– las características propias de su especie, fundamento de un atributo esencial de los organismos vivos, la autoperpetuación.
5. *Las biotransformaciones*. Incluyen el conjunto de reacciones químicas biocatalizadas, por medio de las cuales se realiza el intercambio de sustancia, energía e información de los seres vivos con el medio, es decir el metabolismo, atributo esencial de la vida.

Principios

Los principios son leyes de carácter universal que se cumplen para toda la Bioquímica. Estos son:

1. *Principio del recambio continuo.* El intercambio continuo de sustancia, energía e información con el medio, es una condición indispensable para la existencia de la vida. Este intercambio implica la renovación permanente de todos los componentes del organismo, lo que transcurre a velocidades distintas en dependencia del organismo, tejido o compuesto de que se trate.
2. *Principio de la organización de las macromoléculas.* Conforman este principio todas aquellas regularidades que presentan las macromoléculas. Incluye su condición de polímeros de monómeros o precursores sencillos, la unión estable de tipo covalente entre ellos, las interacciones que se establecen entre grupos químicos presentes en estos, lo que determina una conformación tridimensional específica y está muy relacionada con la función que desempeña cada macromolécula, entre otras.
3. *Principio de la multiplicidad de utilización.* Cada biomolécula desempeña como regla diversas funciones. Esta diversidad disminuye en la medida que aumenta la complejidad de dichas biomoléculas, ya que a mayor complejidad corresponde mayor especificidad de función.
4. *Principio de la máxima eficiencia.* Los procesos que suceden en los organismos vivos son reacciones químicas biocatalizadas. Los biocatalizadores son muy específicos y eficientes, permiten la formación del mayor número posible de moléculas de producto a partir del sustrato, sin que se formen otros productos colaterales. Además de la especificidad y la eficiencia catalítica de las enzimas, influyen en este principio su inclusión dentro de una secuencia metabólica, así como la localización celular de cada proceso.
5. *Principio de la máxima economía.* Dentro del organismo en su conjunto, en cada tejido o fluido biológico y en los diferentes compartimientos celulares, la concentración de sus distintos componentes se mantiene constante, dentro de algunos límites; esto es consecuencia de los mecanismos eficientes de regulación que garantizan los distintos procesos en la medida en que los productos sean requeridos, solo con la cantidad de sustancia y energía necesarias, lo cual permite su óptimo aprovechamiento por el organismo.
6. *Principio de los cambios graduales.* Los procesos bioquímicos que se producen en los organismos vivos suceden en una secuencia ordenada de reacciones; las sustancias que se transforman experimentan pequeños cambios estructurales y variaciones discretas en cuanto a su contenido energético en cada una de estas reacciones. Al final del proceso el producto puede ser muy diferente del sustrato inicial, pero la transformación de uno en otro sucedió de forma gradual.
7. *Principio de la interrelación.* Los organismos vivos constituyen un todo único y armónico, en que cada uno de sus componentes, cada reacción o proceso metabólico que en él se realiza, está vinculado con el resto, directa o indirectamente. Todos los procesos metabólicos están relacionados entre sí.
8. *Principio del acoplamiento.* Todos los procesos que ocurren en los seres vivos requieren de sustancia o energía, o ambas, que pueden ser provistas por el medio circundante o ser suministradas por otra vía metabólica. De igual modo los productos formados en una determinada ruta metabólica o su energía liberada suelen ser utilizados para el funcionamiento de otra.
9. *Principio de la reciprocidad de las transformaciones.* En las transformaciones bioquímicas se constata como una regularidad, que si a partir de un sustrato deter-

minado se forma un determinado producto, la reacción inversa casi siempre es también posible. En reacciones sencillas esto puede suceder por la simple inversión de ella. Sin embargo, en los procesos metabólicos que implican varias reacciones, la inversión procede por una ruta metabólica total o al menos parcialmente diferente.

10. *Principio de transferencia de información.* Los organismos vivos se caracterizan por presentar un grado elevado de organización estructural y funcional, que es específico para cada especie. La transmisión de estas características, necesaria para el mantenimiento de la especie, ocurre por la capacidad de algunas macromoléculas que presentan carácter informacional; este carácter puede ser secuencial o conformacional. La transferencia de información, independiente de las etapas por las que atravesese, fluye desde una molécula con información secuencial hasta otra con información conformacional.

Conceptos generales

Son elementos de conocimientos o nociones generales que se aplican a gran parte o a la totalidad de la disciplina, aunque no alcanzan el nivel de categorías. Los conceptos generales de la Bioquímica constituyen pares dialécticos, los cuales resultan inseparables para su interpretación y comprensión. Estos son:

1. *Estructura-función.* Este concepto refleja la relación indisoluble entre dos aspectos esenciales de los componentes que constituyen los seres vivos y que se cumple en los diferentes niveles de organización, desde el molecular hasta el de organismo. Cada componente tiene una estructura específica, la cual viene determinada por su composición molecular y las interacciones que se establecen entre los grupos químicos presentes, y a esta estructura corresponde una función.
2. *Conformación-transconformación.* Refleja la propiedad que tienen algunas biomoléculas para presentar varios estados conformacionales interconvertibles, frecuentemente relacionados con actividades diferentes. El cambio de un confórmero a otro, es decir, la transconformación, responde con situaciones concretas del medio e implica una respuesta funcional.
3. *Sustrato-producto.* Todas las transformaciones que ocurren en los organismos vivos implican la transformación catalítica de sustancias conocidas como sustratos en productos; pero como las transformaciones bioquímicas ocurren en secuencias metabólicas, el producto obtenido en una reacción llega a ser sustrato de la reacción siguiente.
4. *Inhibición-activación.* Las diferentes transformaciones bioquímicas que suceden en los organismos vivos pueden modificar su intensidad, se activan o inhiben en un momento determinado, casi siempre como respuesta a una situación metabólica específica. Estos conceptos son antagónicos entre sí, y con bastante frecuencia la activación de un proceso implica la inactivación de otro, que muchas veces resulta el proceso inverso.
5. *Anabolismo-catabolismo.* Constituyen las dos grandes vertientes de las biotransformaciones (metabolismo). El anabolismo representa los procesos biosintéticos responsables de la formación de los componentes del organismo, que requieren energía. El catabolismo, por el contrario, representa los procesos degradativos de los que se obtiene energía útil. Aunque son procesos contrarios, ambos funcionan coordinada y armónicamente y constituyen una unidad biológica esencial.
6. *Medio-bioelemento.* El término bioelemento se refiere a todo ente biológico, desde una biomolécula hasta un organismo completo; el de medio, a todo lo que no es bioelemento en cuestión, se relaciona directa o indirectamente con él. Estos términos

son relativos, ya que aquello que puede constituir un medio para determinado bioelemento, puede ser un bioelemento para un medio de mayor amplitud.

En todo el texto y a medida que se avance en el estudio de la disciplina Bioquímica se irán poniendo de manifiesto y podrán ser mejor comprendidos y aplicados las categorías, los principios y los conceptos generales.

Método de estudio de la Bioquímica

En toda disciplina existen distintos niveles para la adquisición de un conocimiento: el reconocimiento, el reproductivo, el aplicativo y el creador. En la Bioquímica se deben alcanzar al menos los tres primeros niveles (el reconocimiento, el reproductivo y el aplicativo) cuando se trata de la enseñanza de pregrado, y por supuesto en el caso de la enseñanza de posgrado es conveniente incluir, siempre que sea posible, el creativo.

El término reproductivo no se refiere a una “reproducción mecánica y memorística”, sino a la capacidad del estudiante de exponer –como resultado del análisis individual y de la síntesis– los aspectos esenciales de un fenómeno estudiado. Para lograr alcanzar las etapas reproductiva y aplicativa en los distintos contenidos de la Bioquímica, debe emplearse el método de estudio apropiado para esta disciplina. Algunas reglas generales de este método son: el primer requisito para apropiarse de un conocimiento es tener la certeza de que se ha logrado su comprensión cabal; para ello debe realizarse el análisis de todos los factores involucrados y tener en cuenta su orden y jerarquización. Cuando corresponda se establecerá la relación con otros conocimientos ya adquiridos, si fuera posible se intentará realizar una comparación entre ellos y se destacará lo que presenten en común y sus diferencias. Después se procederá a representar con fórmulas químicas o con el auxilio de esquemas, modelos, tablas o gráficos, de acuerdo con el caso, las nociones fundamentales de cada aspecto estudiado. Ello le permitirá apropiarse del conocimiento sin necesidad de realizar un esfuerzo memorístico, el conocimiento adquirido tendrá una mayor calidad y duración.

A continuación se intentará definir cada uno de los conceptos involucrados en el asunto estudiado, y de forma independiente se reproducirán esquemas, modelos, fórmulas, etc., de acuerdo con la temática de la cual se trate.

Al estudiar estructuras químicas se debe lograr distinguir las características comunes de todas ellas y las que son privativas de cada una, mediante una comparación siempre que ello sea pertinente.

Cuando se trate de un proceso bioquímico se debe precisar su función y analizar la transformación que se lleva a cabo en cada reacción, a partir de los compuestos iniciales, lo que le permitirá apropiarse del conocimiento íntegro. En cada proceso estudiado se debe ser capaz de explicar su significación biológica, localización celular y en el organismo, así como su interrelación con otros procesos y su regulación.

Deben conocerse los objetivos de cada actividad docente, sea esta evaluativa o no, lo que le indicará la habilidad que debe alcanzar.

Han de seguirse atentamente las orientaciones para el estudio independiente que hace el profesor y realizar los ejercicios del texto, relacionados con el tema estudiado.

Conviene efectuar una autoevaluación o una confrontación entre distintos estudiantes acerca de los contenidos estudiados para determinar lo aprendido y dejar claro lo que aún no se domina suficientemente, así como puntualizar aquellos aspectos que necesitan ser aclarados.

En Bioquímica, para la comprensión y asimilación de un tema se requiere de ordinario el dominio de los precedentes, ya que ellos guardan una relación más o menos directa, de lo que se infiere la necesidad del estudio diario de esta disciplina.

Resumen

La disciplina Bioquímica en los planes y programas de estudio de los profesionales de las ciencias médicas deberá abordar el estudio de los aspectos básicos de esta ciencia, aplicados al ser humano y vinculados a los aspectos médicos.

Los niveles de reconocimiento, reproductivos y aplicativos deben ser alcanzados para los contenidos de la disciplina Bioquímica de pregrado y hasta el creativo, si fuera posible en el caso del posgrado. En los elementos de conocimientos más generales de la Bioquímica se incluyen las categorías, los principios y conceptos generales que abarcan a toda la disciplina.

La asimilación de la Bioquímica requiere de un método apropiado donde la comprensión cabal del asunto que se debe estudiar, el análisis, la comparación, la generalización y la integración, desempeñen una función determinante. Por la estrecha vinculación que existe entre los distintos temas de cada asignatura, el estudio sistemático es una necesidad insoslayable.

Ejercicios

1. Explique la diferencia que existe entre la ciencia y la disciplina Bioquímica.
2. Fundamente la necesidad de incluir la disciplina Bioquímica en los planes de estudio de las diferentes carreras para los profesionales de las ciencias médicas.
3. Enuncie el concepto de categoría y principio para la disciplina Bioquímica y mencione, al menos, tres categorías y tres principios de esta.
4. Enuncie cuatro reglas necesarias que se deben tener en cuenta para el correcto estudio y aprendizaje en la disciplina Bioquímica.
5. Fundamente por qué es imprescindible el estudio sistemático de esta disciplina.
6. Cite los distintos niveles para la adquisición de un conocimiento y explique el reproductivo.

Capítulo

3

La materia viva

El avance alcanzado en el estudio de las sustancias propias de los seres vivos, su composición, organización estructural, propiedades y funciones, así como el conocimiento mayor de los fenómenos inherentes a la vida, como el metabolismo, la herencia y otros, han permitido acercarnos a la comprensión científica de los procesos bióticos y a la determinación de las cualidades esenciales que distinguen a los organismos vivos de la materia inorgánica.

La esencia de la vida es el intercambio continuo de sustancia, energía e información con el medio; mediante este intercambio los organismos vivos renuevan sus componentes, garantizan su conservación y adaptación al medio y se autoperpetuan.

Para comprender la esencia de cualquier fenómeno se debe conocer su origen y desarrollo; por ello, son numerosas las investigaciones realizadas por científicos de distintos países, encaminadas a conocer la génesis y la evolución de los seres vivos.

En este capítulo se estudia la materia viva, como resultado de la evolución de la materia inorgánica, y se presenta de manera resumida el desarrollo del conocimiento científico actual en relación con el origen y la evolución de los organismos vivos.

La materia viva como resultado de la evolución de la materia inorgánica

El movimiento es una forma de existencia de la materia e incluye todos los procesos y cambios que se producen en el universo. A la diversidad de materia corresponden diversos tipos de movimiento. El tipo de movimiento más simple de la materia es el mecánico, que es el desplazamiento de un cuerpo en el espacio; al movimiento físico que incluye la luz, el calor, las ondas electromagnéticas y otros le sigue en orden ascendente el químico, esto es las reacciones químicas entre átomos y moléculas. Este último tipo de movimiento incluye al precedente, pues las reacciones químicas dependen de determinadas propiedades físicas de los reaccionantes, como puede ser el número atómico o el estado físico; pero el movimiento químico no es una simple suma de estos, es cualitativamente superior.

El movimiento biológico abarca todos los precedentes combinados, de forma que constituyen nuevas propiedades y comprende todos los procesos que ocurren en los seres vivos y entre estos y el medio. Las características del movimiento biológico se pueden enunciar de forma general:

1. Es una forma de existencia de la materia.
2. Consecuencia del desarrollo de las formas inferiores del movimiento (físico y químico).
3. Las biomoléculas son sus portadores materiales, principalmente las proteínas y los ácidos nucleicos.
4. La esencia es el intercambio continuo de sustancias, energía e información con el medio.
5. Manifestación mediante múltiples formas.
6. Tendencia al crecimiento y a la multiplicación; se autoperpetuan.

El movimiento social que es el superior contiene todas las demás formas anteriores, incluye la sociedad y el pensamiento, su portador material es el hombre.

Las distintas formas de movimiento de la materia no están aisladas unas de otras, sino muy relacionadas. Así, el movimiento atómico puede provocar cambios energéticos y estos provocar reacciones químicas. Los procesos químicos en determinado nivel de desarrollo llevaron a la formación de la materia orgánica. La vida es el resultado del desarrollo de la materia, ocurrido por una serie de cambios cualitativos graduales que condujeron a transformaciones cualitativas en un largo proceso evolutivo.

Los estudios realizados acerca de la composición elemental de los componentes químicos de los seres vivos son numerosos, muchos de ellos fueron expuestos de forma resumida en el capítulo 1, en el acápite de surgimiento y desarrollo de la bioquímica. Todos los resultados de las investigaciones realizadas en este sentido han puesto de manifiesto que la composición química de la materia viva difiere en muchos aspectos importantes de la composición de la materia inanimada que la rodea.

Por supuesto, al surgir la vida como resultado del desarrollo y como transformación cualitativa de la materia inerte durante su complejo proceso de evolución, es obvio que todos los elementos que aparecen en el ser vivo provienen del mundo inorgánico. Sin embargo, no todos los elementos que están presentes en la litosfera o en la atmósfera aparecen en los organismos vivos. Ello sugiere que durante el proceso de evolución de la materia, que dio origen a los seres vivos, algunos elementos resultaron más adecuados para la vida que otros. De hecho, solo unos 16 elementos forman parte permanente de todos los organismos vivos, aunque este número es mayor en algunos:

Elementos fundamentales: C, H, O, N, P y S.

Otros elementos importantes: Ca, K, Na, Cl, Mg y Fe.

Oligoelementos (elementos trazas): Zn, Co, Mn, F e I.

Resulta interesante señalar que en general, la proporción en que se encuentran los diferentes elementos en los seres vivos difiere mucho de la que estos presentan en el mundo inerte.

Al comparar la composición elemental del organismo humano con la del agua de mar y la corteza terrestre se ponen de manifiesto numerosas diferencias, por ejemplo, el silicio y el aluminio que constituyen, respectivamente, los elementos segundo y tercero más abundantes de la corteza, están ausentes en muchos organismos vivos y en aquellos que aparecen, lo habitual es que se encuentren en cantidades ínfimas. El carbono, que existe en una proporción aproximada del 20 % en los mamíferos y del 50 % en los

vegetales, se encuentra en una proporción mucho menor que el 1 %, tanto en la litosfera como en la hidrosfera o en la atmósfera. La composición elemental del cuerpo humano presenta mayor semejanza con la del agua de mar, lo que constituye un dato favorable hacia el origen marino de la vida (Tabla 3.1).

Tabla 3.1. Composición elemental de la corteza terrestre, del agua de mar y del cuerpo humano

Corteza		Agua de mar		Cuerpo humano	
O	60,425	H	66,200	H	60,563
Si	20,475	O	33,100	O	25,670
Al	6,251	C	10,340	C	10,680
H	2,882	N	-	N	2,440
Ca	1,878	Mg	0,033	Ca	0,230
Fe	1,858	S	0,017	P	0,130
Mg	1,784	K	0,006	S	0,130
K	1,374	Ca	0,006	Na	0,075
Ti	0,191	C	0,0014	K	0,037
C	0,055	Br	0,0005	Cl	0,033
				Mg	0,011

Las cifras se expresan en átomos por 100 000.

En el cuerpo humano existen más de 50 elementos diferentes, en la tabla 3.1 se muestran los más abundantes. Solo cuatro elementos constituyen alrededor del 99 % del contenido elemental total, ellos son: hidrógeno, oxígeno, carbono y nitrógeno; los cuatro son elementos pequeños y livianos; existen evidencias de haber sido los más abundantes en el medio primitivo, donde se estima que hubo de formarse las primeras moléculas biogénas. Estos elementos tienen la posibilidad de formar entre sí uniones fuertes y estables de tipo covalente, así como establecer enlaces múltiples, especialmente el carbono, el que además tiene la propiedad de constituir polímeros lineales o ramificados como se estudiará en el capítulo 5.

Además de diferir en cuanto al tipo y proporción de los distintos elementos en la materia viva y la inorgánica, existe la organización o forma en que se agrupan estos elementos para constituir moléculas. En efecto, los compuestos orgánicos característicos de la materia viva poseen estructuras más complejas que las pequeñas y sencillas moléculas presentes en la materia inorgánica.

Desde el punto de vista molecular el agua constituye el compuesto predominante en los organismos vivos. Junto con ella aparecen diversos elementos químicos en estado iónico o formando complejos. Las moléculas que caracterizan a los organismos vivos (biomoléculas) son compuestos carbonados que presentan con frecuencia oxígeno, hidrógeno y nitrógeno, y en algunos casos azufre y fósforo; estas se agrupan en tres categorías:

1. Moléculas de estructuras muy complejas y de peso molecular muy elevado, entre 10^3 y 10^9 D (macromoléculas), como los polisacáridos, proteínas y ácidos nucleicos.
2. Moléculas de peso molecular relativamente pequeño (de 100 a 300 D) como aminoácidos, monosacáridos, nucleótidos y ácidos grasos, los que por polimerización forman las macromoléculas o parte de otras moléculas complejas.

3. Moléculas que, como regla, presentan tamaño menor y estructura más simple que las anteriores y son intermediarios metabólicos importantes o precursores de la síntesis de otras biomoléculas mayores, como el ácido pirúvico, el gliceraldehído 3 fosfato y el ácido cítrico, entre otras.

Existen los mismos tipos de biomacromoléculas en las distintas especies y para todas ellas se cumple el mismo principio de organización, aunque con características propias al formar las sustancias inherentes a cada especie, de manera que cada organismo posee sus propias proteínas y ácidos nucleicos, pero formados por los mismos 20 aminoácidos y los ocho nucleótidos, cuatro para cada tipo de ácido nucleico. A funciones iguales, las biomoléculas presentan estructura similar en las distintas especies. La insulina, por ejemplo, es una hormona proteínica secretada por el páncreas, que desempeña una función muy importante en la regulación del metabolismo y tiene una estructura bastante semejante en diferentes animales.

Sobre la base de sus características químicas y metabólicas, las biomoléculas se han clasificado en cuatro grupos principales:

1. Los glúcidos incluyen a los monosacáridos, los oligosacáridos y los polisacáridos; su función principal es ser fuente energética y carbonada.
2. Los prótidos agrupan a los aminoácidos, los péptidos y las proteínas. Las proteínas cumplen distintas e importantes funciones en los seres vivos, una de las principales es constituir los biocatalizadores, moléculas que hacen posible las biotransformaciones.
3. Dentro del grupo de los lípidos se incluye una gran variedad de compuestos con estructuras disímiles, pero presentan una propiedad común, la solubilidad en solventes orgánicos y la insolubilidad en los polares. Constituyen también una fuente energética y forman parte importante de las membranas, además de desempeñar otras funciones.
4. El grupo de las sustancias nucleotídicas comprende a los nucleótidos y los ácidos nucleicos –ácidos ribonucleicos (ARN) y desoxirribonucleicos (ADN). Estos últimos, vinculados de manera funcional a la transmisión de los caracteres hereditarios y los ARN relacionados con la expresión de dicha información, mediante la biosíntesis de las proteínas. En general los nucleósidos trifosfatados desempeñan importantes funciones energéticas, especialmente el adenosín trifosfato (ATP), el cual constituye el portador principal y universal de energía metabólicamente útil.

En la tabla 3.2 se muestra la distribución porcentual de los componentes moleculares de la bacteria *Escherichia coli* y se presenta un valor aproximado de la cantidad de moléculas distintas de cada tipo. Es necesario señalar que las biomoléculas pueden interactuar entre sí, formando asociaciones supramoleculares que dan origen a estructuras importantes como membranas, ribosomas y otras que sirven de base a la organización de organelos y células. En el cuadro 3.1 se presenta un resumen de los distintos niveles de organización de la materia viva hasta el celular.

Origen y evolución de la materia viva

Las ciencias naturales han demostrado que en la Tierra primitiva no existía vida, ya que por sus condiciones ningún ser vivo podía habitarla. La materia orgánica es el producto de una evolución muy larga.

Esta afirmación acerca de la formación de la materia viva a partir de la inorgánica ha sido científicamente sustentada y, sin diferencias esenciales, ha sido ampliamente aceptada en el universo por las diferentes teorías que tienden a explicar la evolución molecular y biológica.

Tabla 3.2. Componentes moleculares de la bacteria *Escherichia coli*

	Porcentaje del peso total (%)	Diversidad de moléculas
Agua	70	1
Proteínas	15	3 000
Ácidos nucleicos	7	
ADN*	1	1
ARN	6	> 3 000
Polisacáridos	3	5
Lípidos	2	20
Otras moléculas orgánicas	2	500
Iones inorgánicos	1	20

* Se refiere al ADN típico de la especie.

Cuadro 3.1. Niveles de organización de la materia viva

Biomoléculas sencillas, precursores de macromoléculas o componentes de otras moléculas complejas	monosacáridos, aminoácidos, nucleótidos, ácidos grasos y otras
Biopolímeros y otras moléculas complejas y lípidos complejos	polisacáridos, proteínas, ácidos nucleicos
Agregados supramoleculares	membranas, ribosomas, cromatina y otros
Organelos celulares	núcleo, mitocondria, retículo endoplasmático, aparato de Golgi y otros
Célula	procarionte eucarionte

Durante muchos años se pensó también que algunas formas de vida podían surgir de manera continua, a partir de la materia inorgánica por generación espontánea y súbita; estas convicciones erróneas ocurrían por la incorrecta interpretación de la aparición de gusanos e insectos en la carne en descomposición, la harina de trigo y otros alimentos contaminados; de manera similar a como se pensara durante muchos siglos por la simple observación de algunos fenómenos naturales, que la Tierra no se movía y que el sol era el que giraba a su alrededor.

La teoría de la generación espontánea, rechazada por un número considerable de hombres de ciencia, pero defendida de manera vehemente por otros, fue abandonada después de los concluyentes experimentos de Louis Pasteur, quien demostró de manera irrefutable que no aparecen nuevas formas de vida en todas aquellas sustancias que por cualquier método se preservaran de la contaminación biológica, independientemente del tiempo que se mantuvieran en esas condiciones.

Fue Alexander Ivanovich Oparin, quien elaboró la primera explicación científica del origen de la vida, en concordancia con las leyes y fenómenos de la naturaleza y con los conocimientos alcanzados por las ciencias contemporáneas. Esta teoría fue postulada por Oparin inicialmente en 1922, y en 1924 se publicó el trabajo que exponía su teoría sobre el origen de la vida. A partir de entonces, muchos científicos en diferentes países se han consagrado a las investigaciones en este campo, por lo que se han obtenido numerosos resultados que confirman la teoría de Oparin. Así, J. B. S. Haldane expresó ideas similares, además enfatizó que la atmósfera primitiva debía haber sido reductora, sin oxígeno libre, como un requerimiento para la evolución de la vida a partir de la materia inerte.

El avance de las ciencias geológicas, astronómicas, químicas, físicas y biológicas y el impetuoso desarrollo de la tecnología, han permitido el análisis retrospectivo de sucesos acaecidos hace muchos millones de años y han propiciado que se efectúen investigaciones en un tema tan importante para el conocimiento humano como este, que estudia las raíces mismas de su génesis. De particular y fundamental importancia para estos estudios ha sido la determinación de la vida media de los radioisótopos por desintegración espontánea, lo que ha permitido estimar con bastante exactitud la edad de rocas y otros cuerpos terrestres y cósmicos.

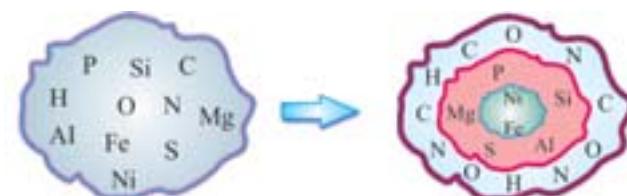
El desarrollo de la tecnología del cosmos ha sido de enorme valor en estas investigaciones, ya que aporta numerosos datos de interés. Con el empleo de todos estos procedimientos tecnológicos y otras metodologías, que han constituido valiosa fuente de datos, se ha podido establecer que nuestra galaxia tiene una existencia de 12 a 20 mil millones de años; la edad del sol ha sido estimada en 5 mil millones de años y la Tierra de 4,6 a 4,8 mil millones, además, se admite que al igual que los demás planetas de nuestro sistema, se formó a partir de la condensación del halo de gases y niebla que rodeaba al sol.

Formación de las primeras moléculas biógenas

En la masa gaseosa que formó a nuestro planeta predominaban los átomos libres de hidrógeno –el más abundante–, carbono, oxígeno, hierro, magnesio, silicio, aluminio, nitrógeno, níquel, azufre y otros (Fig. 3.1). Estos átomos se fueron distribuyendo en un orden determinado por su peso, de manera que los más pesados se localizaron en el centro, los más livianos en la periferia y los de peso intermedio se situaron entre unos y otros.

La formación de sustancias como el metano (CH_4), el amoníaco (NH_3), el agua (H_2O), el cianuro de hidrógeno (HCN) y otras, es consecuencia no solo de la abundancia de sus átomos constituyentes en la capa más externa, sino de sus propiedades químicas, ya que pueden formar compuestos estables entre ellos, y también de las condiciones energéticas del medio en esos momentos. Tal es la composición que tenía la atmósfera primitiva, de carácter reductor y con predominio de CO_2 , CO , H_2O , H_2 , CH_4 y CNH entre otros, todos en estado gaseoso debido a la elevada temperatura existente. En la actualidad se ha comprobado la presencia de compuestos de carbono e hidrógeno en los materiales cósmicos más diversos, procedentes de regiones con condiciones de temperatura y fuerzas gravitacionales diferentes.

Fig. 3.1. Representa de manera esquemática la distribución de los distintos elementos químicos según su peso atómico, como debieron disponerse en la Tierra primitiva.



Por esta época inicial se acepta que no existía oxígeno molecular libre y el oxígeno presente principalmente formaba agua y óxidos de metales. En estos tiempos de carencia de oxígeno molecular y ausencia de organismos vivos se supone que los compuestos permanecían estables por largos períodos.

En la Tierra primitiva existían compuestos que podían dar lugar a la formación de moléculas orgánicas y se disponía de las fuentes de energía capaces de activarlos para que reaccionaran: altas temperaturas, erupción de volcanes, desintegración radiactiva, radiación solar y descargas eléctricas, entre otras (Fig. 3.2).

Formación de biomoléculas sencillas

En los experimentos de laboratorio realizados en condiciones que simulan la Tierra primitiva se logró la síntesis abiótica de aminoácidos, monosacáridos, bases purínicas y pirimidínicas, entre otros compuestos orgánicos que se sintetizan a partir de precursores inorgánicos, semejantes a los presentes en nuestro planeta durante sus etapas tempranas.

Stanley I. Miller en 1953 realizó un experimento de simulación que demostró la formación abiótica de algunos aminoácidos. Él hizo circular de manera continua una mezcla de vapor de agua, metano, amoníaco e hidrógeno durante una semana, sobre una chispa eléctrica. Al finalizar la semana cuando realizaba su análisis por cromatografía de papel encontró una mezcla de aminoácidos: glicina, alanina, ácido γ -aminobutírico, β -alanina, ácidos aspártico y glutámico, entre otros (Fig. 3.3).

Se ha logrado también la formación de algunas bases purínicas y pirimidínicas en experiencias de simulación. Oro y otros obtuvieron adenina por calentamiento moderado de una mezcla de cianuro de hidrógeno, amonio y agua. La guanina fue identificada a partir de una experiencia similar. Por otra parte S. Fox, calentando urea y ácido málico obtuvo uracilo.

Se considera que el azúcar (ribosa o desoxirribosa) presente en los ácidos nucleicos pudiera provenir del formaldehído; y en cuanto al fósforo se estima que este elemento existía disuelto en el agua primitiva.

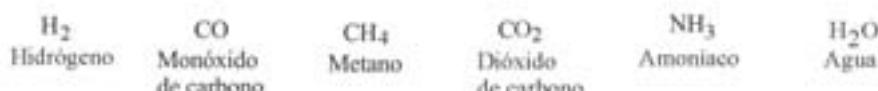
Otros investigadores al modificar las sustancias inorgánicas empleadas, así como las fuentes de energía, el tiempo y otros factores, han obtenido resultados esencialmente similares, es decir, la formación de moléculas orgánicas a partir de precursores inorgánicos en condiciones que simulan la Tierra primitiva.

Estos resultados se han visto reforzados al descubrirse compuestos orgánicos similares en meteoritos carbonosos llegados a la Tierra. En el meteorito Murchison, caído en Australia en 1969, se identificaron varios aminoácidos, algunos de ellos no encontrados hasta el momento en nuestro planeta, y que a diferencia de los terrestres constituyan mezclas racémicas ópticamente inactivas. También se encontraron en este meteorito ácidos monocarboxílico y dicarboxílico: malónico, succínico y fumárico. En otros meteoritos contemporáneos con la Tierra primitiva se ha podido demostrar la presencia de materia orgánica.

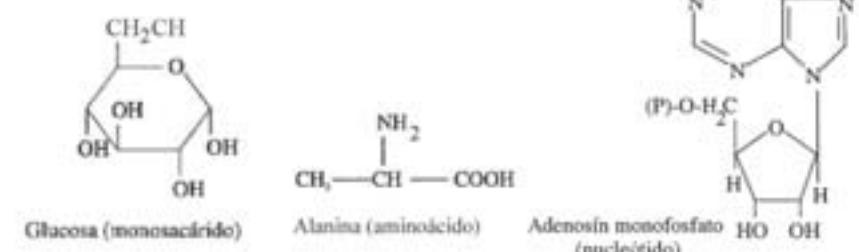
Por espectroscopia de radiofrecuencia se ha identificado en las nubes de polvo cósmico la presencia de agua, amoníaco, ácido cianídrico y otras sustancias que se consideran componentes de la atmósfera primitiva de la Tierra, y que constituyen precursores de compuestos orgánicos, lo que apoya la teoría del origen abiótico de la materia orgánica. La mayoría de los precursores de las biomacromoléculas han sido encontrados repetidamente en experimentos de simulación, en rocas, esquistos, meteoritos y materias de los espacios interestelares; esto indica la gran probabilidad de que hayan sido la secuencia de eventos en la evolución química de la materia viva.

C H O N

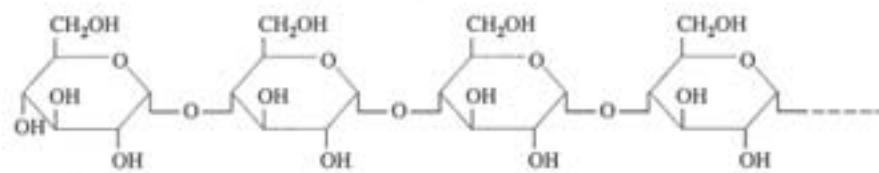
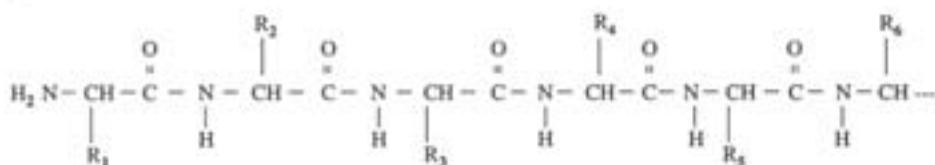
a) Moléculas biogénicas Elementos principales



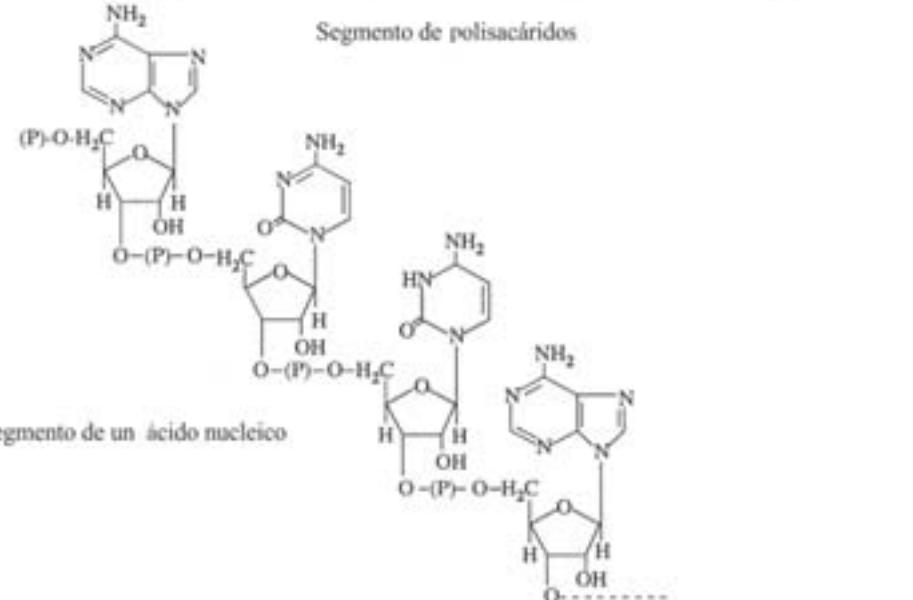
b) Precursors de macromoléculas



c) Macromoléculas



Segmento de polisacáridos



Segmento de un ácido nucleico

Fig. 3.2. Los elementos que constituyen las biomoléculas se encuentran formando parte de las moléculas biogénicas. a) Moléculas biogénicas que se postula dieron origen a las biomoléculas sencillas. b) Representación de diversas biomoléculas sencillas de distinto tipo: aminoácidos, nucleótidos y monosacáridos. c) Las macromoléculas, las cuales se forman por la polimerización de biomoléculas sencillas: los ácidos nucleicos (polinucleótidos) a partir de los nucleótidos, las proteínas a partir de aminoácidos y los polisacáridos a partir de monosacáridos.

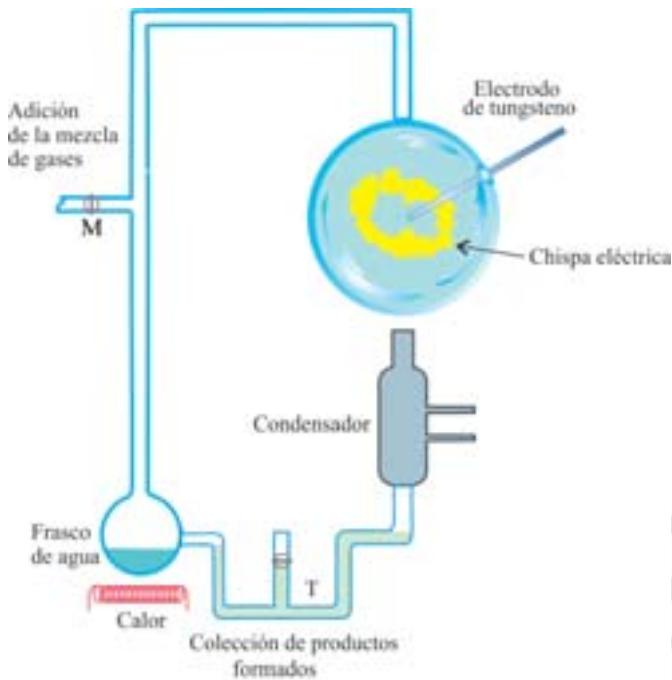


Fig. 3.3. Equipo diseñado por S. Miller y H. C. Urey para simular las condiciones de la atmósfera primitiva y estudiar la formación de biomoléculas sencillas a partir de moléculas biogénicas. En el matraz se coloca agua que al ebullir arrastra la mezcla gaseosa reaccionante, la cual se introduce por M. Con el aporte de la energía de la chispa eléctrica se produce la reacción química, los productos se condensan y se colectan en T.

Formación de las primeras macromoléculas

Como se sabe, en la síntesis biológica de las macromoléculas participa un conjunto de proteínas enzimáticas en procesos de alta complejidad, que implican elevados consumos energéticos, por lo que no resulta fácil explicar la formación abiótica de estos compuestos.

Conviene recordar que las principales macromoléculas características de los seres vivos son las proteínas y los ácidos nucleicos que constituyen biopolímeros –las primeras de aminoácidos y los segundos de nucleótidos. En ambos casos están unidos por enlaces de tipo covalente, que se forman por condensación con la pérdida de una molécula de agua. De particular importancia en la función de los ácidos nucleicos, tanto del ADN como del ARN, son las bases nitrogenadas contenidas en los nucleótidos; son cuatro distintas en cada uno de estos compuestos: adenina (A), guanina (G), citosina (C) y timina (T) en el ADN, y adenina, guanina, citosina y uracilo (U) en el ARN (Fig. 3.4). Entre estas bases se producen interacciones que provocan un apareamiento selectivo: G-C y A-T en el ADN, y G-C y A-U en el ARN. Estas bases apareadas, conocidas como complementarias, tienen extraordinaria importancia en las síntesis de los dos tipos de ácidos nucleicos y de las proteínas.

Es bien conocido que los organismos vivos requieren, para la síntesis de los ácidos nucleicos, un conjunto de enzimas y otras proteínas; pero todas las proteínas se forman a partir de la información genética del ADN, mediante un complejo proceso en el que participan los distintos tipos de ARN. Cada una de estas moléculas necesita la presencia de la otra para su síntesis. Uno de los aspectos más discutidos en relación con la evolución de la materia orgánica y biológica ha estado vinculado a responder cuál de estas sustancias hubo de formarse primero. En relación con este problema se han postulado tres variantes:

1. Los ácidos nucleicos se formaron primero que las proteínas.
2. Las proteínas fueron sintetizadas antes que los ácidos nucleicos.
3. Ambas sustancias se formaron simultáneamente.

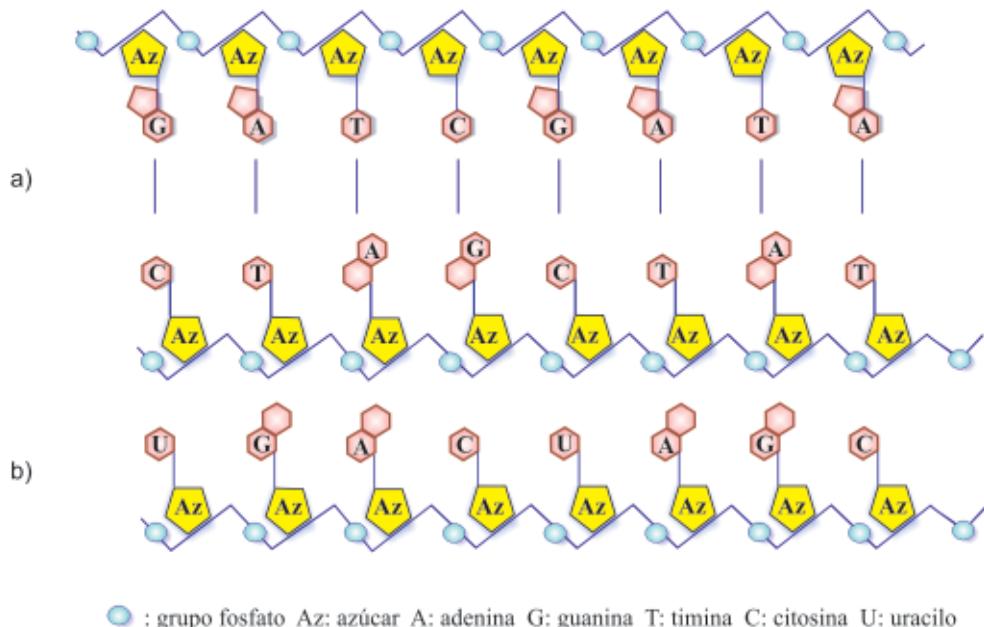


Fig. 3.4. Representación esquemática de la estructura de los ácidos nucleicos. a) Doble cadena de un segmento de una molécula de ADN. El azúcar en este caso es la desoxirribosa, las bases de ambas cadenas se enfrentan de manera complementaria: A-T y G-C. b) Sector de una cadena de ARN. El azúcar en este caso es la ribosa.

L. Orgel, en favor de la primera posibilidad, se apoya en que –mediante todas las bases purínicas y pirimidínicas, fosfato, con el uso de urea y determinados iones como catalizadores– logró sintetizar una cadena de polinucleótidos que contenía 40 nucleótidos. Estas cadenas pudieron aparearse con cadenas complementarias, si en el medio existía imidazol, aunque el ADN obtenido no fue capaz de replicarse. Esta teoría ha ganado adeptos desde que se descubrieron algunos ARN con acción catalítica.

Los defensores de la segunda variante se han basado en numerosas experiencias como las realizadas por S. Fox, quien logró la formación de polímeros cortos de aminoácidos a partir del calentamiento de una mezcla de estos compuestos; también las efectuadas por J. Sanles y S. Chang, quienes obtuvieron cadenas polipeptídicas de unos 50 aminoácidos que fueron considerados como posibles precursores enzimáticos.

Los que están a favor de la tercera posibilidad sostienen que se formarían péptidos pequeños dedos a tres aminoácidos y fragmentos cortos de ácidos nucleicos de los adiez nucleótidos. Experimentos de simulación de este sistema han permitido poner de manifiesto algunas características de los organismos vivos, por la presencia conjunta de los dos tipos de sustancias.

De cualquier manera la formación de polímeros de aminoácidos y de nucleótidos en condiciones abióticas pudo producirse mediante las fuentes energéticas apropiadas, aun suponiendo la carencia total de catalizadores, pues, en última instancia, estos lo que hacen es aumentar la velocidad de la reacción. Sin embargo, es muy probable que en estos procesos participaran algunos catalizadores abióticos antes de que se formaran las primeras biomoléculas con actividad enzimática.

Se considera que la adsorción de los precursores en determinadas superficies (silica, arcilla, etc.) facilitó su condensación y favoreció la formación de los primeros biopolímeros por calentamiento (luz solar u otras fuentes energéticas), en presencia de compuestos orgánicos con acción deshidratante y probablemente ante algún catalizador inorgánico. En experiencias que simulan estas condiciones, efectuadas en algunos laboratorios, se obtienen péptidos y polinucleótidos con disposición azarosa de sus precursores, aminoácidos y nucleótidos, respectivamente. Sin embargo, después de formado el primer polímero polinucleotídico se puede influir en la secuencia de precursores de otra nueva cadena que se sintetice en su presencia. Si se añade el polinucleótido que tiene solo como base al

uracilo (poli U) y se intenta la síntesis de una nueva cadena de ARN, se favorece la formación de un poliA, por lo que la cadena poli U actúa como molde y el complemento de bases funcionaría aun en condiciones abióticas (Fig. 3.5). Las cadenas formadas pueden adquirir la capacidad de autorreplicarse y, en dependencia de su secuencia de bases, adoptarían una conformación espacial, la cual puede a su vez influir en su estabilidad y eficiencia replicativa.

A. Katchalsky demostró la formación de cadenas polipeptídicas a partir de aminoaciladenilatos; estos aminoaciladenilatos fueron sintetizados a partir de aminoácidos y adenosín monofosfato (AMP). La polimerización se logró cuando los aminoaciladenilatos obtenidos se adsorbían a una superficie de cierto tipo de barro y se formaban cadenas polipeptídicas de 50 o más aminoácidos, con una eficiencia aproximada de 100 %. Los aminoaciladenilatos son los precursores de la síntesis de proteínas en los organismos vivos.

Aun los polímeros de aminoácidos formados por síntesis abiótica podían presentar acción catalítica y es posible que una de esas acciones catalíticas fue la polimerización de nucleótidos, lo que permitió la réplica de los ácidos nucleicos. Aunque no está claro cómo podría haberse iniciado la dirección de la síntesis de las proteínas por los ácidos nucleicos, no cabe duda que en algún momento tal evento hubo de ocurrir, y la mejor prueba es la existencia de un código genético universal.

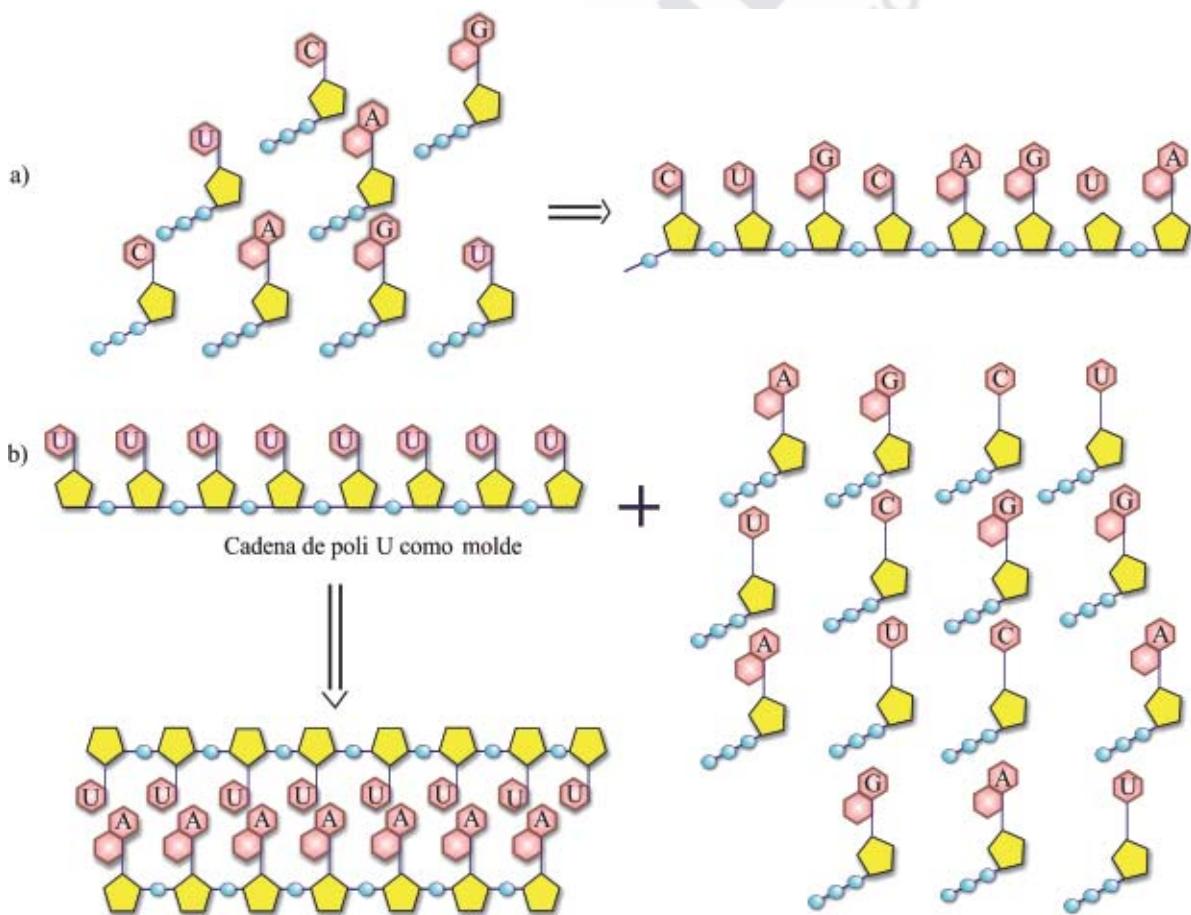


Fig. 3.5. Formación abiótica de cadenas polinucleotídicas. a) Formación de una cadena con secuencia azarosa, la cual depende en gran medida de la disponibilidad de los nucleótidos precursores. b) Formación “dirigida” de una cadena polinucleotídica de poli A, que utiliza como molde una cadena de poli U. Nótese la incorporación selectiva del nucleótido de adenina, a pesar de encontrarse este en cantidades similares al resto de los nucleótidos.

A partir del hallazgo de Cech en 1981, deARN con actividad catalítica, y el descubrimiento en años sucesivos de otros ARN con acción catalítica, que tuvo gran repercusión en las teorías de la evolución, se ha aceptado en todo el universo que los organismos primitivos contenían solo ARN con acción catalítica y que la aparición de proteicos catalíticos fue un evento posterior.

Se sabe que las moléculas tienen la tendencia de formar agregados de manera espontánea, que esto favoreció su estabilidad y existió posiblemente un equilibrio entre las formas libres y agregadas:

PRECURSORES -----> MACROMOLÉCULAS ----->AGREGADOS

Estos agregados podrían ir sumando moléculas y creciendo en tamaño y complejidad.

Formación de las primeras estructuras vivas

Se supone que las biomoléculas que se fueron sintetizando estarían probablemente en el agua de mares y océanos, formando una especie de “caldo” diluido y exento de oxígeno molecular. Estas moléculas tenían la posibilidad de reaccionar entre sí, se producían nuevas combinaciones y se formaban agregados multimoleculares de tamaño y complejidad crecientes.

Oparin y otros obtuvieron agregados de polinucleótidos con proteínas que formaban complejos multimoleculares aislados de la solución, en forma de sistemas individuales a los cuales llamaron gotas (gotículas) de coacervados o simplemente coacervados; a los que este científico les concede gran importancia en la evolución de la materia viva (Fig. 3.6).

El propio Oparin considera que la evolución biológica planteada por Darwin debería empezar a actuar en este nivel; al formarse los agregados como resultado de la reunión de las moléculas, estos comienzan a competir entre sí por la obtención de materiales y algunos llegan a ser dominantes. Él demostró experimentalmente algunas propiedades de los coacervados, comprobó la agregación de los polímeros en solución y la tendencia a formar una fase coloidal separada de la acuosa; lo cual se cumplió para una gama diversa de combinaciones de polímeros y además puso de manifiesto que la existencia de alguna actividad metabólica en ellos favorecía su estabilidad (Fig. 3.7).

Ha quedado bien demostrado que las moléculas poseen la propiedad de autoordenarse de acuerdo con sus características estructurales y sus propiedades. Se sabe que determinados tipos de lípidos, que poseen una porción polar y otra apolar, tienen la capacidad de disponerse en solución acuosa, de manera que sus porciones apolares se unan entre sí y las polares interactúen con el agua, para formar estructuras laminares, características de las membranas biológicas.

Los coacervados se consideran como sistemas prebiológicos sometidos a la acción del medio. La aparición de una membrana biológica que los independizara del entorno resultó un paso determinante en su individualidad. El salto cualitativo a una célula viva transcurrió de forma gradual en un largo proceso. Las células primitivas o probiontes presentan características del movimiento biológico.

Existen otras proposiciones realizadas por algunos investigadores, en relación con los eventos que ocurrieron en la formación de las primeras unidades vivas, una de ellas es la de S. Fox él plantea la existencia de microesferas que no son más que proteinoides rodeados por una doble membrana, como el paso intermedio entre los agregados de biopolímeros y las primeras células (Fig. 3.8). Este investigador demostró que estos proteinoides presentan algún grado de carácter informacional, ya que proteinoides ricos en aminoácido lisina se combinan de forma selectiva con los polinucleótidos poli C y poli U, y los ricos en arginina lo hacen con los poliA y poli G.



Fig. 3.6. Representación esquemática de gotículas de coacervados obtenidos experimentalmente en el laboratorio de A. I. Oparin, formados en solución acuosa de proteínas y ácido poliadenílico. Este investigador comprobó que tales gotículas pueden “sobrevivir” un tiempo mayor si se le aportan enzimas que permitan efectuar reacciones de polimerización.

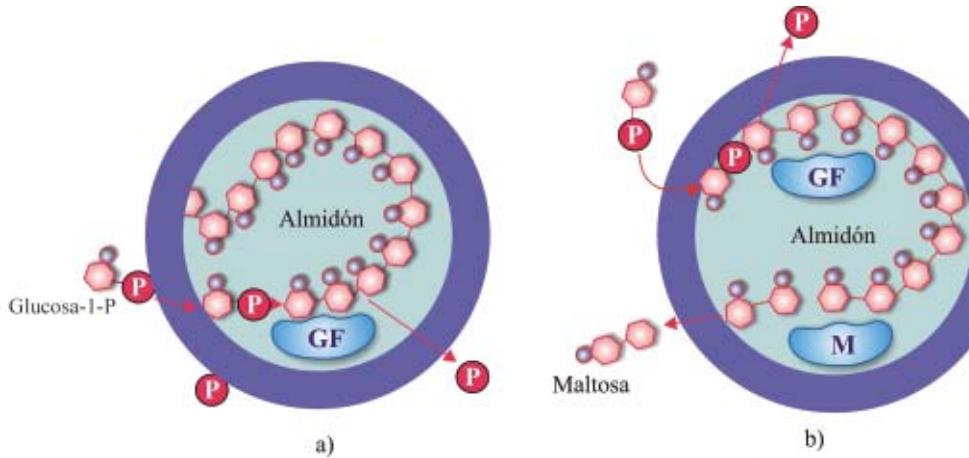


Fig. 3.7. Representación de algunas de las reacciones realizadas en el interior de una gotita de coacervado en los experimentos llevados a cabo por Oparin. El coacervado contiene en su interior el polisacárido almidón y algunas enzimas. a) La presencia de la enzima glucógeno fosforilasa (GF) y de glucosa-1-(P), favorece las reacciones de polimerización y la cadena de almidón crece, liberándose fosfato inorgánico. b) La presencia de la enzima maltasa (M), la cual degrada al almidón, provoca un efecto contrario al expuesto en a), la molécula de almidón decrece y se libera maltosa.

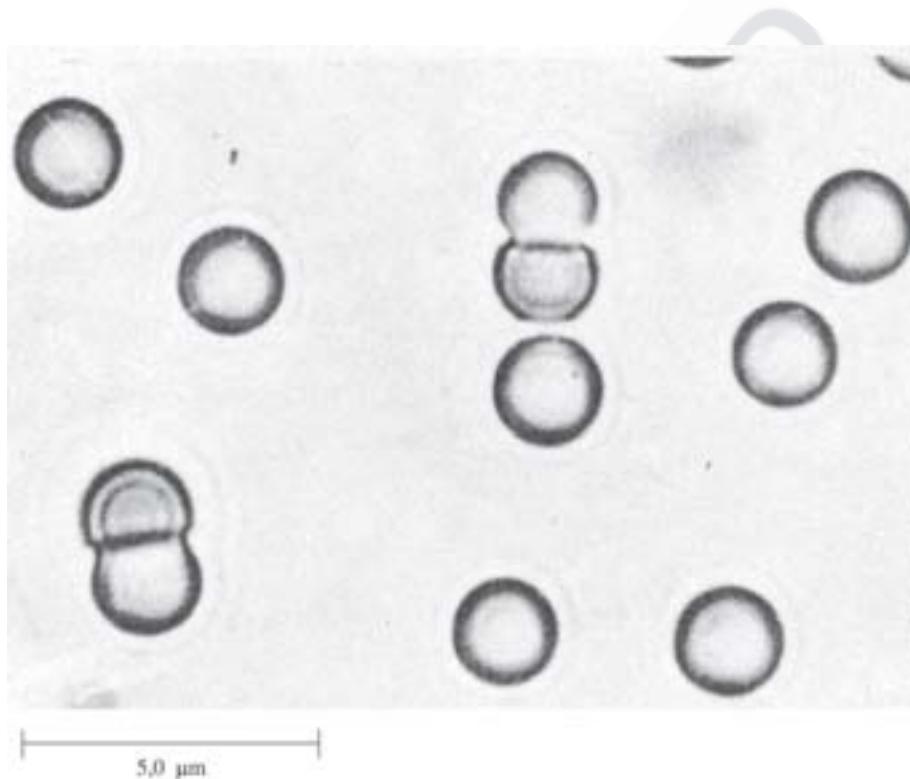


Fig. 3.8. Se muestra una representación de un agregado microesferoidal de proteinoides termales según Fox. El proteinido se forma por calentamiento de mezclas secas de aminoácidos a temperaturas no muy elevadas.

Evolución de las células primitivas

Las primeras células vivas parecen haber sido heterótrofas primarias y anaerobias, los mares fueron su fuente de sustancia y energía; al escasear estos nutrientes producto del incremento de los organismos vivos, se dieron las condiciones para que a partir de diversos procesos adaptativos, mutaciones y selecciones naturales aparecieran algunas formas autótrofas como las fotosintéticas; estos organismos comenzaron a producir sus propias biomoléculas, con el uso de la energía de la luz solar formaron monosacáridos y otros compuestos orgánicos a partir de CO_2 y H_2O , con la liberación de O_2 .

Algunos organismos fueron capaces de fijar el nitrógeno atmosférico y formar compuestos que lo contienen, como los aminoácidos y las bases nitrogenadas. La producción de O_2 por los organismos fotosintéticos implicó cambios importantes en la biosfera; por una parte se formó una capa de ozono que protegió la superficie terrestre de los perjudiciales

rayos de luz ultravioleta y por otra parte permitió la utilización de este gas en los procesos respiratorios, es decir posibilitó el surgimiento de los organismos aerobios, los cuales poseen una mayor eficiencia metabólica. La presencia de oxígeno molecular transformó la atmósfera primitiva reductora en la actual, que contiene O₂, CO₂, N₂ y H₂O.

A partir de los primeros organismos vivos y en un largo proceso de millones de años de evolución se desarrollaron las diversas formas de vida, desde las más simples hasta las plantas, los animales superiores y el ser humano. La evolución biológica es en la actualidad un proceso científicamente demostrado y aceptado de forma general, pero antes de que fuera así, mucho tuvo que avanzar el conocimiento biológico y muchas trabas ideológicas tuvo que vencer el pensamiento científico y creador de numerosos hombres de ciencia. En la figura 3.9 se resumen los principales eventos en el proceso de formación de la materia orgánica y primeros organismos vivos.

Teorías evolucionistas

Dos aportes importantes que de alguna forma influyeron en el pensamiento evolucionista de su época fueron: los trabajos geológicos de James Hutton, sobre el desarrollo de la Tierra –donde se pone de manifiesto que este fue un proceso lento causado por fuerzas naturales, no un evento caótico y súbito como se admitía de forma general hasta ese momento– y la clasificación taxonómica de Carlos Linneo.

Resulta curioso que a pesar de ser Linneo un defensor de la teoría de la creación divina del universo y de la vida, contribuyó notablemente a concebir la interrelación entre los distintos organismos vivos, al desarrollar su sistema de clasificación y nomenclatura para las especies biológicas que, además, puso de manifiesto la estructura jerárquica en él implícita.

El primer hombre de ciencia que presentó una teoría sistemática sobre la evolución fue Jean Baptiste de Monet, Caballero de Lamarck, quien en 1801 formuló que todas las especies, incluido el hombre, descienden de otras especies. Lamarck estudió organismos unicelulares e invertebrados, observó que las rocas antiguas contenían fósiles que correspondían a formas de vida más simples y dedujo de sus observaciones que las formas superiores habían surgido de las más simples por un tipo de “progresión”; que esta se producía como resultado de dos fuerzas distintas: la primera, la transmisión hereditaria de las características adquiridas y la segunda fuerza era un principio creativo universal, un impulso inconsciente para ascender en la escala natural. Él consideraba que las formas más sencillas de vida surgían por generación espontánea.

Una parte muy conocida de la teoría de Lamarck es la que concierne a su explicación sobre la evolución de la jirafa. Él sostendía que la jirafa actual de cuello largo había evolucionado a partir de un antepasado de cuello corto; pero que lo desarrollaron mediante el ejercicio provocado por el esfuerzo mantenido para alcanzar las ramas altas de los árboles y poder alimentarse; también sostendía que esta característica adquirida se transmitió a la descendencia. Como puede apreciarse, a pesar del aspecto positivo de Lamarck, de plantearse la evolución de las especies que incluye al hombre, tiene las limitaciones de considerar que las características adquiridas se transmiten de manera hereditaria; separa las distintas especies en su explicación del desarrollo evolutivo e incluso llega a admitir la generación espontánea para los organismos

Fig. 3.9. Cuadro resumen de los principales eventos que ocurren en la formación de la materia viva, ordenados desde la formación de moléculas biogénicas hasta la aparición de la célula primitiva.

inferiores dentro de cada especie. Charles Darwin es considerado con toda justicia el fundador de la teoría evolucionista. Darwin comenzó a estudiar medicina, carrera que abandonó después de dos años para dedicarse al sacerdocio e hizo estudios teológicos en la Universidad de Cambridge. Sin embargo, al culminar estos estudios renuncia a dedicarse a la vida eclesiástica y acepta la oferta de incluirse a bordo del *Beagle* para efectuar una larga travesía por todo el mundo, con el interés de realizar estudios como naturalista. Este viaje le sirvió a Darwin para comprobar la gran variedad de la naturaleza, la diversidad de especies de los organismos vivos, tanto vegetales como animales, observó numerosos restos fósiles y relacionó las distintas variedades existentes dentro de cada especie con la edad geológica de islas y continentes que constituían su hábitat. La duración de esta travesía fue de 5 años e influyó de forma notable en sus apreciaciones. A su regreso a Inglaterra se dedicó al estudio de variedades logradas por los criadores de plantas y animales, quienes por selección artificial habían podido obtener gran diversidad de aves, partiendo de la paloma común. Además, observó el desarrollo de nuevas plantas y animales por selección artificial, lo que lograba mejorar las características de las que les dieron origen, particularmente en su capacidad de adaptarse al medio.

Él concluyó con este análisis que de la misma forma que el hombre selecciona de manera artificial nuevas variedades de plantas y animales, procedía el medio ambiente, por lo que se produce así la selección natural.

Darwin partió de la existencia de la variabilidad individual y en su teoría postuló que aquellos individuos que poseen determinadas características que les permitan una mejor adaptación al medio, tienen ventajas para sobrevivir; él planteó que estas variaciones de las especies eran fortuitas, no las producía el ambiente ni ninguna fuerza creadora, ni el afán inconsciente del organismo, y de por sí carecían de objetivo.

En 1859 se publicó su libro *El Origen de las Especies por medio de la Selección Natural*, donde expone su teoría acerca de la evolución de las especies. Darwin no pudo explicar las causas de las variaciones de los individuos. Los aspectos de su teoría que se refieren al papel de la lucha por la existencia, como fuerza motriz importante en la evolución, se considera que reflejan la influencia ejercida sobre él del sociólogo reaccionario Thomas Maltus.

Darwin presentó algunos aspectos concordantes con los planteados por Lamarck, como la concepción del mundo en permanente evolución, gradual y continua. Sin embargo, los aspectos nuevos que constituyeron aportes de Darwin fueron el origen común de todas las especies, que es realmente la esencia de su teoría, y además explicó el mecanismo de esta evolución, como causada a partir de la variabilidad individual y la selección natural. Darwin no pudo dar una explicación científica a la causa de las variaciones individuales, lo que se comprende fácilmente si se tiene en cuenta que en su época muy poco se conocía acerca de genética.

La evolución es un aspecto central de la biología. La teoría moderna unió los aportes de ciencias diversas como la paleontología, la ecología y la genética. Una contribución importante a la teoría de la evolución lo constituyó la aplicación por Hugo Dries de las leyes de la genética de Mendel, lo que permitió interpretar las causas de la diversidad de individuos como variaciones genéticas provocadas por mutaciones; en la actualidad sabemos que las mutaciones, las recombinaciones y la duplicación de genes son las fuentes principales de variación de las especies.

Del análisis de la evolución de los individuos se llegó al estudio de la evolución de las poblaciones. Las variaciones de las poblaciones constituyen la fuerza fundamental del proceso evolutivo.

Evidencias a favor de la evolución de las especies

Numerosos elementos de variada naturaleza apoyan la teoría evolucionista. Estas evidencias están relacionadas con las más variadas ramas de las ciencias biológicas.

El estudio de varias ciencias comparadas, como la anatomía, ha puesto de manifiesto la relación estructural de órganos homólogos en especies distintas, lo que constituye un fuerte apoyo a la tesis del origen común de estas. La comparación de los primeros estadios del desarrollo embrionario de numerosas especies muestra muchos aspectos similares y refuerza el criterio de la existencia de un antepasado común.

Los valiosos aportes de la paleontología mediante el estudio de muchos fósiles constituyen una importante prueba del proceso evolutivo, particularmente en la demostración de los eslabones intermedios entre especies diferentes.

La bioquímica ha brindado numerosas evidencias a la teoría evolucionista. En la taxonomía clásica de los siglos XVIII y XIX los organismos se clasificaban de acuerdo con sus similitudes y diferencias estructurales. En la actualidad ha surgido la taxonomía molecular, basada en el análisis de biomoléculas homólogas de las diferentes especies. La clasificación de proteínas, basada en la similitud y diferencia en la secuencia de sus aminoácidos constituyentes, aporta información valiosa relacionada con la función de estas y las relaciones entre las diferentes especies. Se pueden describir a las proteínas homólogas que pertenecen a una misma “familia” e incluso aportar un criterio importante en las relaciones filogenéticas, por ejemplo, el análisis de la secuencia de aminoácidos de la mioglobina y hemoglobina, así como de su estructura tridimensional en diferentes especies sugiere que estas proteínas evolucionaron a partir de un ancestro común, una proteína monomérica, con función similar de unión con el oxígeno; durante la evolución, esta proteína ancestral evolucionó primero a la mioglobina, tal como la conocemos hoy, y más tarde se originaron las subunidades α y β , que después llevaron a la estructura tetramérica de la hemoglobina actual (Fig. 3.10); la evolución de la hemoglobina se corresponde con la evolución de forma paralela con la de los vertebrados. El análisis comparativo de proteínas homólogas se hace actualmente a partir del análisis de la secuencia de bases de los genes, que las codifican y se deduce la secuencia de aminoácidos mediante el código genético.

Otro aporte fundamental de la bioquímica a la teoría de la evolución es la demostración de la existencia del código genético universal. La variación genética dentro de las especies proporciona también una visión fina de la evolución genómica. Al comparar especies que se separan filogenéticamente por millones de años, se han comprobado pequeñas diferencias en su ADN, por ejemplo, la secuencia del ADN del chimpancé difiere de la del hombre solo en el 1 %. El proceso de replicación del ADN presenta una elevada fidelidad, de hecho se ha estimado que ocurre solo una mutación en un nucleótido por cada 10^9 nucleótidos, cada vez que el ADN es replicado; esto significa que el genoma humano que contiene aproximadamente 3×10^9 nucleótidos es cambiado en tres nucleótidos en cada evento de replicación. Esta elevada fidelidad depende de la función de enzimas que participan en la “corrección” y reparación de alteraciones que puedan ocurrir durante el proceso de replicación.

Se ha podido comprobar que los genes que intervienen en el control de la expresión del material genético experimentan pocos cambios entre las diferentes especies, y los que controlan el desarrollo presentan mucha similitud en un amplio rango de organismos multicelulares, por lo que existe una gran relación entre las moléculas que controlan el desarrollo en un organismo tan simple como el nematodo *Caenorhabditis elegans*.

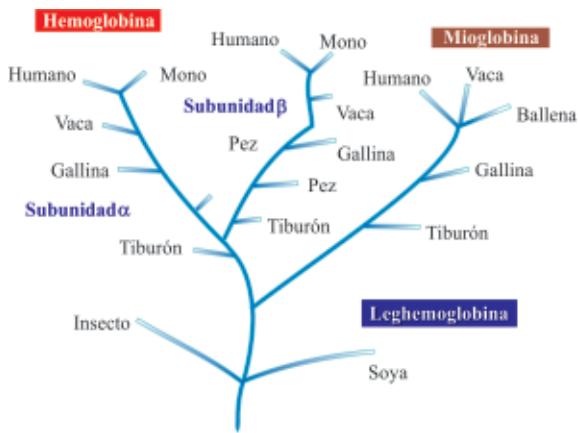


Fig. 3.10. Filogenia de la hemoglobina. La mioglobina y hemoglobina evolucionaron a partir de un ancestro común, una proteína oligomérica que ligaba el oxígeno. La leghemoglobina garantiza el aporte de oxígeno a las bacterias nitrificantes *Rhizobium japonicum* que se alojan simbóticamente en nódulos de la soya. La leghemoglobina se encuentra en el citoplasma de las células de los nódulos infectados y garantiza el aporte de oxígeno a estos microorganismos. La globina es sintetizada por la planta hospedera, y el grupo hemo por las bacterias infectantes.

(Fig. 3.11) y las que cumplen similar función en el ser humano, de modo que estos mecanismos debieron aparecer muy temprano durante el proceso de evolución.

La protección del genoma de células germinales garantiza la preservación de la especie, en tanto que la del genoma de las células somáticas es fundamental en la salvaguarda del individuo. Algunas mutaciones en determinados genes que codifican para proteínas que participan en el control del ciclo celular son responsables de la transformación de una célula normal en cancerosa, al provocar una multiplicación incontrolada de dichas células. Sin embargo, existen algunas secuencias en el ADN que presentan elevada tasa de mutaciones, por ejemplo, zonas con repeticiones de bases CA, secuencias con el motivo (CA)_n que se replican con baja fidelidad, lo que hace a estas zonas “marcadores ideales” para la identificación de un individuo. Este y otros motivos de repetición que caracterizan a un individuo constituyen las bases para su identificación por medio del análisis del ADN en investigaciones criminales, pruebas de paternidad y otras aplicaciones forenses.

Otra evidencia bioquímica de la evolución la constituye las características generales comunes de las reacciones químicas de determinadas rutas metabólicas. Un ejemplo es la glucólisis que resulta esencialmente similar para diferentes especies, desde organismos unicelulares hasta el ser humano.

La genética, la inmunología y otras ciencias biológicas también aportan datos valiosos que apoyan la teoría de la evolución de las especies y confirman el origen común de estas.

Resumen

La vida es una forma del movimiento de la materia. El movimiento biológico contiene a otros tipos de movimiento (físico y químico) y abarca a todos los procesos que ocurren en los seres vivos; su esencia es el intercambio continuo de sustancia, energía e información con el medio y sus portadores materiales son las biomoléculas. La vida es un producto del desarrollo de la materia inorgánica, originada por una serie de cambios cuantitativos y graduales que condujeron a saltos cualitativos en un largo proceso evolutivo.

La composición elemental de la materia viva difiere de la inorgánica en los tipos de átomos predominantes y en su organización para formar moléculas. Las biomoléculas son mayores y más complejas que las sencillas moléculas presentes en la materia inerte.

El agua es el compuesto más abundante en los organismos vivos, también existen iones inorgánicos, pero las moléculas características de los seres vivos –las biomoléculas– son



Fig. 3.11. Representación esquemática del nematodo *Caenorhabditis elegans*.

compuestos carbonados que contienen además hidrógeno, oxígeno, nitrógeno y otros elementos, cuyos representantes más importantes son las proteínas, los ácidos nucleicos, los glúcidos y los lípidos.

El desarrollo tecnológico alcanzado ha hecho posible el análisis retrospectivo de sucesos acaecidos hace millones de años, relacionados con la formación de la materia orgánica y primeros organismos vivos. La teoría de Oparin ha sido confirmada esencialmente por numerosas observaciones y experiencias de simulación, lo que explica la formación abiótica de las biomoléculas a partir de un grupo de moléculas biogénas, presentes en la atmósfera primitiva. Estas se condensarían, formarían las macromoléculas y la agregación de todas ellas daría lugar a los complejos multimoleculares, que al aislarse de la solución forman los coacervados. La organización de una membrana, la aparición de proteínas enzimáticas y la réplica de los ácidos nucleicos son eventos que están relacionados con la aparición de la célula primitiva. A partir de los primeros organismos vivos se produjeron todas las formas de vida en un largo proceso de millones de años.

El fundador de la teoría de la evolución fue Darwin, quien planteó que la evolución se producía por un fenómeno de selección natural, de manera que entre la gran diversidad individual dentro de cada especie, tendrían mayor supervivencia y producirían mayor descendencia aquellos que presentaran variaciones, que les permitieran mejor adaptación al medio. Las causas de la diversidad individual son las mutaciones y las recombinaciones genéticas.

La teoría sintética moderna de la evolución integra a la paleontología, la ecología y la genética. Existen numerosas evidencias científicas que confirman el proceso evolutivo y que han sido aportadas por la anatomía comparada, la embriología, la paleontología y la bioquímica, entre otras.

Ejercicios

1. Cite las características del movimiento biológico.
2. Mencione datos aportados por la tecnología del cosmos que apoyen los criterios de las condiciones de la atmósfera primitiva.
3. ¿Qué es un experimento de simulación? Explique uno de ellos.
4. Justifique la existencia en el medio primitivo de metano, amoníaco, ácido cianhídrico, dióxido de carbono y agua.
5. Explique la formación abiótica de los biopolímeros.
6. Haga un esquema de los niveles de organización de la materia viva.
7. Realice un estudio comparativo de los planteamientos hechos por Lamarck y por Darwin acerca de la evolución de las especies. Infiera de dicho estudio la razón de que sea Darwin el investigador considerado fundador de la teoría de la evolución.
8. Señale evidencias científicas aportadas por la bioquímica que apoyen la teoría evolucionista.

Formas básicas de organización de la materia viva

Existen distintas formas de organización de la materia viva: los virus, los organismos unicelulares y los pluricelulares. La unidad básica estructural y funcional de los dos últimos es la célula. Las células pueden ser eucariotas o procariotas.

Los organismos unicelulares pueden ser procariotes o eucariotes. Los pluricelulares están constituidos solo por células de tipo eucariota y se organizan formando tejidos, órganos y sistemas. El funcionamiento armónico en estos organismos se garantiza mediante variados y complejos mecanismos de comunicación intercelular.

En este capítulo se tratarán de manera sucinta las formas básicas de organización de la materia viva, haciendo especial hincapié en la célula eucariota; además, se revisarán de forma general las características esenciales de los organismos pluricelulares.

Célula procariota

La célula procariota es más simple y primitiva que la eucariota, presenta pobre diferenciación. Este tipo de célula mide entre 1 y 10 μm , es típica de bacterias y algunas algas. Una de las células procariotas más estudiada ha sido la bacteria *Escherichia coli*, y debe señalarse que una parte considerable del conocimiento alcanzado en el campo de la biología celular y molecular está muy ligado a este organismo.

Las células procariotas presentan membrana plasmática que las individualizan y se separan del medio; carecen de núcleos, aunque sí poseen una zona nuclear donde se encuentra el material genético contenido en una molécula de ADN circular. Estas células no presentan organelos citoplasmáticos; las enzimas respiratorias y las de fotosíntesis se encuentran asociadas a la membrana plasmática (Fig. 4.1).

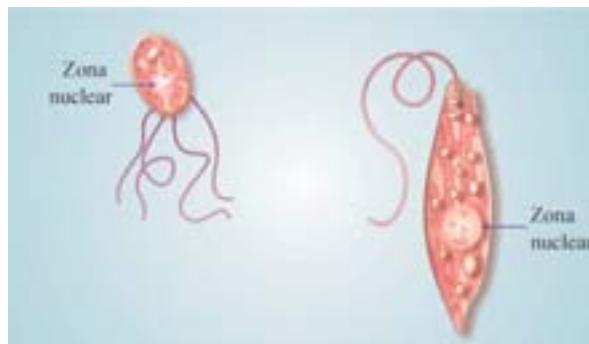


Fig. 4.1. La célula procariota carece de núcleo y de compartimentación, posee una zona nuclear donde se encuentra el material genético y no presenta organelos citoplasmáticos.

Célula eucariota

Las células eucariotas, características de los organismos pluricelulares, miden entre 10 a 100 μm (Fig. 4.2). Presentan un alto grado de diferenciación subcelular; además de la membrana plasmática que desempeña funciones similares a las de las procariotas, poseen un sistema de endomembranas que condiciona una compartimentación celular. La envoltura nuclear permite la limitación del núcleo y en su interior se encuentra el material genético, el cual es más abundante y presenta mayor grado de organización que en la célula procariota.

En el citoplasma se localizan los organelos que se relacionan con funciones específicas de la célula: retículo endoplasmático rugoso y liso, aparato de Golgi, mitocondrias, lisosomas, peroxisomas y las estructuras integrantes del citoesqueleto, así como las inclusiones citoplasmáticas que están muy relacionadas con el cúmulo de sustancias, como los gránulos de glucógeno y las gotículas de grasa.

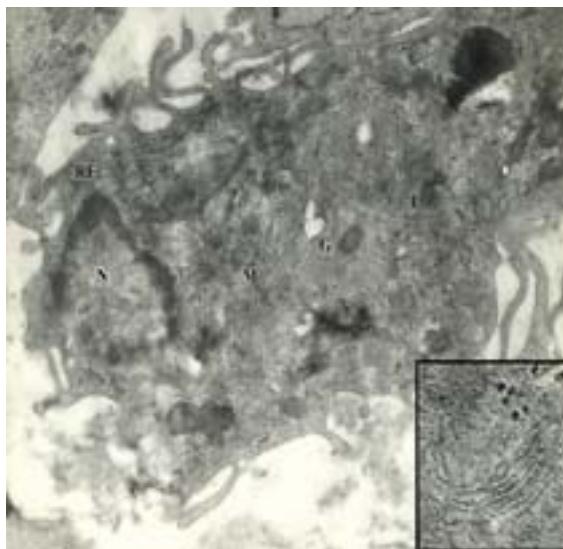
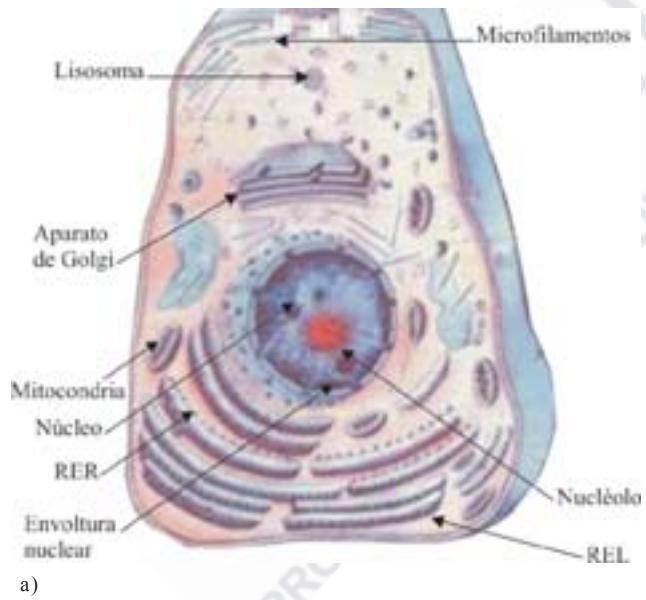


Fig. 4.2. a) Esquema de una célula eucariota tipo. b) Macrófago peritoneal. Se observa el núcleo (N), retículo endoplasmático rugoso (RE), aparato de Golgi (G), mitocondria (M), lisosomas (L). En el extremo inferior derecho se muestra el aparato de Golgi a mayor aumento. (Cortesía de la Doctora en Ciencias Biológicas, Odelsa Ancheta Niebla, Escuela Latinoamericana de Medicina).

Virus

Los virus constituyen una forma de existencia de la materia viva; son partículas de tamaño variable, formadas por un ácido nucleico que puede ser ácido desoxirribonucleico (ADN) o ribonucleico (ARN) rodeado por proteínas.

El material genético es el ácido nucleico de esta partícula, la que solo puede multiplicarse cuando infecta previamente una célula (célula hospedera), ya que carece de la maquinaria de síntesis de sus propias proteínas (Figs. 4.3 y 4.4).

Cuando los virus penetran en la célula, las proteínas de la cubierta son degradadas (*coating*) y queda el material genético expuesto, entonces se multiplica el virus dentro de la célula hospedera. Otras veces, como es el caso de los virus que infectan a bacterias (bacteriófagos), la infección celular se produce con la incorporación del genoma viral (Fig. 4.5).

Muchos virus son capaces de producir enfermedades; debe señalarse que se les reconoce también una función importante en el proceso evolutivo.

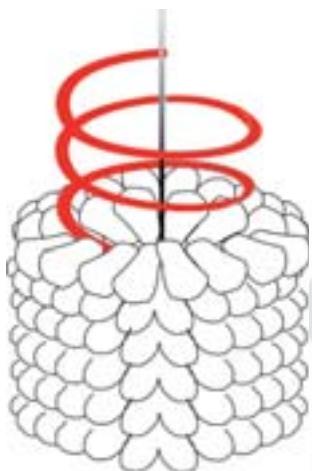


Fig. 4.3. Organización molecular básica del virus del mosaico del tabaco. Al centro, la molécula de ARN (en rojo), de una sola cadena y rodeada de una estructura helicoidal formada por las subunidades proteínicas.

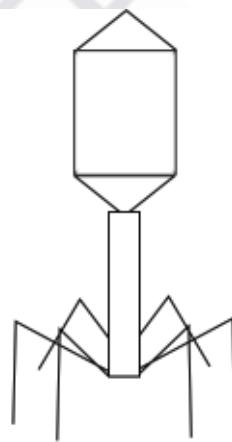


Fig. 4.4. Estructura de los virus. Modelo de un bacteriófago.

Protoplasma

La sustancia de la cual están formadas todas las células se conoce como protoplasma. El protoplasma es un sistema coloidal constituido por los componentes del metabolismo y el material genético celular; está altamente organizado, tanto estructural como funcionalmente.

Funciones del protoplasma

Las funciones del protoplasma son: irritabilidad, asimilación y desasimilación, así como crecimiento y desarrollo. Se tratará cada una de estas por separado y sus diferentes variantes de manifestación según el tipo de célula.

Irritabilidad. Es la capacidad de responder a un estímulo; es una propiedad universal característica de la materia viva y que desaparece con la muerte.

La irritabilidad se presenta en forma especializada, **excitabilidad**, en determinados tejidos conocidos como tejidos excitables. Esta propiedad comprende la detección del estímulo y la respuesta desencadenada. Dicha respuesta depende del tipo de tejido y puede manifestarse como:

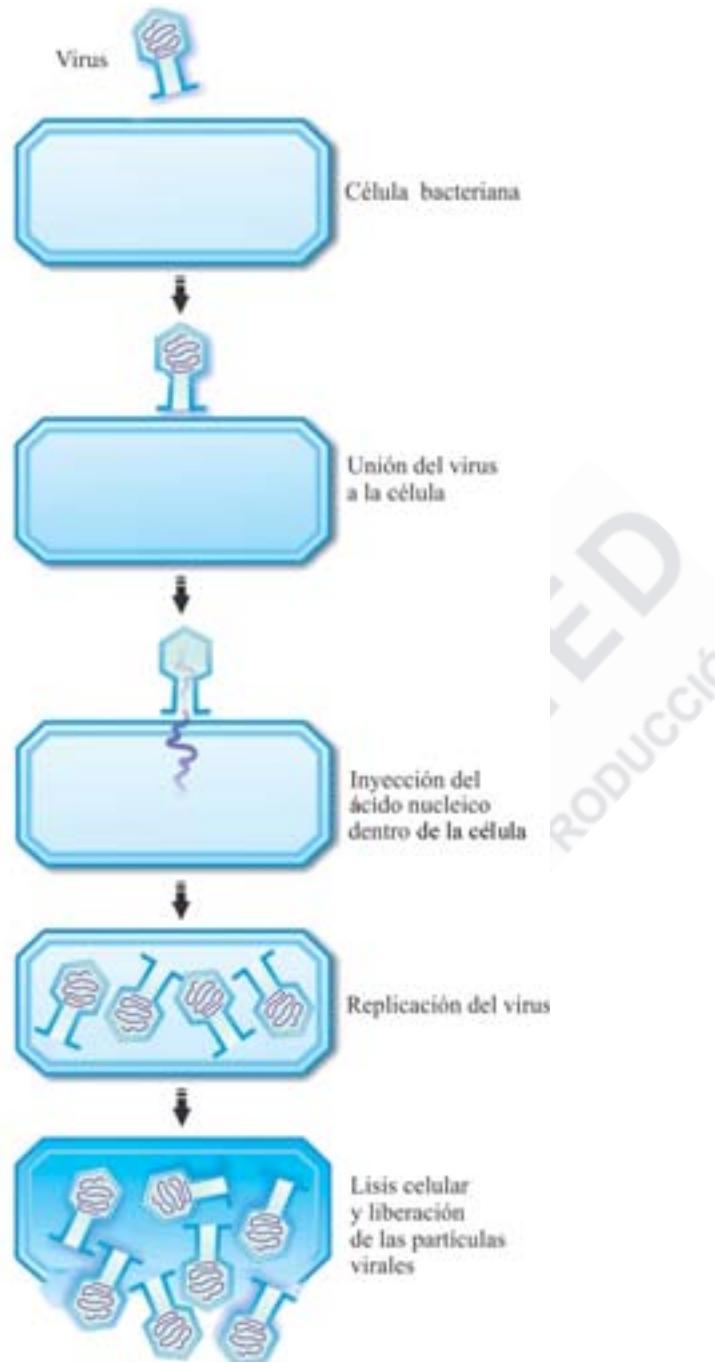


Fig. 4.5. Etapas de la replicación de un bacteriófago en su célula hospedera.

- 1. Conductibilidad.** Propiedad del protoplasma de transmitir una señal a un sitio más o menos lejano de la célula. Se presenta en el tejido nervioso.
- 2. Contractilidad.** Propiedad del protoplasma de cambiar de forma y tamaño (acortamiento) como respuesta a un estímulo, respuesta típica del tejido muscular
- 3. Secreción.** Capacidad de responder a cambios en el medio con la liberación de sustancias útiles, productos de la síntesis de la célula, característico de las células glandulares.

Asimilación y desasimilación. Es también una propiedad universal del protoplasma y está muy relacionada con la esencia de la vida, que implica el intercambio constante de

sustancia y energía con el medio. Existen tres formas principales de manifestación de estas propiedades:

1. **Absorción.** Incorporación de materias diversas a través de la membrana plasmática. Este paso requiere habitualmente determinadas estructuras especializadas, receptores o transportadores o procesos de endocitosis (u otros).
2. **Excreción.** Eliminación de sustancias de desecho a través de exocitosis.
3. **Biotransducción.** Captación y cambio de un tipo de energía en otro directamente utilizable. Existen varios tipos de mecanismos biotransductores como la fotosíntesis y la respiración celular. La respiración celular es el mecanismo de biotransducción fundamental de los organismos aerobios.

Crecimiento y reproducción. El crecimiento es el incremento de la cantidad de protoplasma y la reproducción es el aumento de la cantidad de células.

Al crecer la masa de protoplasma por encima de determinado límite se produce la división celular.

Organización de una célula eucariota tipo

El protoplasma que forma la célula eucariota está dividido por la envoltura nuclear; aquel que se localiza entre la envoltura nuclear y la plasmática se conoce como citoplasma. El material genético de la célula se encuentra en el núcleo. En el citoplasma se hallan los organelos y las inclusiones citoplasmáticas.

Los organelos son unidades estructurales muy organizadas, relacionadas con funciones específicas de la célula. Como regla, son estructuras membranosas de tamaño y cantidad variables, de acuerdo con el tipo de célula o incluso su estado funcional, y presentan una localización característica dentro del hialoplasma. La presencia de los organelos implica la compartimentación celular.

En los organismos pluricelulares cada célula difiere de un tejido a otro por la diferenciación celular y la especialización funcional, de manera que la célula tipo es una abstracción con fines didácticos.

La célula eucariota tipo posee la membrana plasmática, que está formada por lípidos, proteínas y algunos glúcidos con un elevado grado de organización estructural; además, presenta múltiples diferenciaciones como pueden ser microvellosidades, plegamientos y otras. Esta membrana limita a la célula del medio y permite el paso selectivo de sustancias. Está relacionada con las funciones de irritabilidad, asimilación y desasimilación.

La envoltura nuclear (de doble membrana) delimita al núcleo del citoplasma, presenta poros que comunican el nucleoplasma con el hialoplasma. Dentro del núcleo se encuentra la cromatina (material genético formado por ADN y proteínas), la cual se condensa y forma los cromosomas en el momento de la división celular. También es frecuente observar uno o más nucléolos, los que están relacionados con la formación de las partículas ribosomales. El núcleo está ligado con la función de reproducción.

El retículo endoplasmático es una red continua e irregular, de canales limitados por membranas, estructuras tubulares ramificadas y sacos aplanados y paralelos, las cisternas. El retículo endoplasmático rugoso tiene asociado numerosos ribosomas (partículas formadas por ARNr y proteínas) y está involucrado en la síntesis de proteínas de secreción y de membranas. El retículo endoplasmático liso no contiene ribosomas, son túbulos intercomunicados, sin cisternas; está relacionado con la síntesis de sustancias lipídicas y reacciones de glicosilación. Los ribosomas libres sintetizan las proteínas propias de la célula, excepto las contenidas en algunos organelos, formadas también en el retículo endoplasmático rugoso. El retículo y los ribosomas están relacionados con la función de secreción.

A continuación del retículo endoplasmático rugoso (RER) y liso (REL), entre estos y la membrana plasmática se halla el aparato de Golgi, también relacionado con la función de secreción; está formado por cisternas aplanadas, limitadas por membranas que constituyen los dictiosomas, los cuales se presentan en número variable. Esta estructura tiene la función de colectar y concentrar los productos formados en el retículo endoplasmático, en este sitio experimentan algunas transformaciones y se distribuyen en el interior de la célula o vierten su contenido al exterior por exocitosis.

Los lisosomas son corpúsculos membranosos que contienen un conjunto de enzimas hidrolíticas capaces de degradar múltiples compuestos. Los lisosomas primarios son aquellos acabados de formar en el aparato de Golgi; los secundarios son los que ya se han unido a las vacuolas y se encuentran en proceso digestivo. Las vacuolas digestivas formadas pueden ser heterófagas, cuando el material que se encuentra degradándose es ajeno a la célula, y autófagas si aquel es de la propia célula. La función de los lisosomas está relacionada con la asimilación y desasimilación.

Los organelos donde ocurre la respiración celular son las mitocondrias. Estas son estructuras membranosas en forma de sacos, de tamaño y cantidad variables según el tejido; poseen una doble membrana interna y externa, y entre ellas se encuentra el espacio intermembranoso. La membrana interna se repliega hacia el interior y forma las crestas que delimitan la matriz.

El citoesqueleto tiene función de sostén y está conformado por una red de microfilamentos y microtúbulos, que atraviesa el citoplasma. Los microfilamentos son estructuras alargadas, presentes en número variable y localizados por debajo de la membrana plasmática; intervienen en la locomoción y la endocitosis, y están ligados a la contractilidad. Los microtúbulos son tubos rectos o algo curvos, numerosos en las células en división que forman el aparato mitótico, están relacionados con la función de reproducción.

Los centríolos son estructuras en forma de varillas, constituidos por microtúbulos con disposición especial y localizados cerca del núcleo celular; estos son dos y se hallan dispuestos de forma perpendicular entre sí; tienen función en la reproducción, específicamente en la organización del aparato mitótico.

Con frecuencia en el citoplasma se presentan cúmulos de sustancia que suelen tener carácter transitorio, estas son las inclusiones citoplasmáticas; son materiales extraños no digeribles o de depósito, entre estos últimos tenemos los gránulos de glucógeno y las gotículas de grasa; en ambos casos constituyen formas de almacenamiento de energía.

Organismos pluricelulares

En un organismo unicelular, la célula constituyente debe ser capaz de efectuar todas sus funciones inherentes; sin embargo, en un organismo pluricelular las diversas células que lo integran se diferencian y cumplen distintas funciones. Las células que se especializan en la secreción de proteínas presentan un retículo endoplasmático rugoso muy desarrollado; las células de la mucosa intestinal presentan proyecciones que forman las microvellosidades, que les permite aumentar mucho la superficie de contacto con el medio, aspecto fundamental en su función, en la digestión y absorción de nutrientes.

En los organismos pluricelulares, las células semejantes, las que han experimentando la misma diferenciación y especialización se agregan y forman los tejidos, por ejemplo: las células musculares, las nerviosas, de la mucosa intestinal, etc. Diferentes tejidos se asocian y forman los órganos; el hígado está formado por hepatocitos, vasos, nervios y tejido conectivo. A su vez, diferentes órganos constituyen los aparatos y sistemas, como es el caso del aparato digestivo, formado por la boca, el esófago, el

estómago y los intestinos. Todo ello permite al organismo una actividad más eficiente y con superiores condiciones de adaptación al medio. Se denomina diferenciación a los cambios en la organización estructural que experimentan las células de diferentes tejidos de los organismos pluricelulares. A los cambios funcionales asociados con aque-llos, se les reconoce como especialización de manera que ambos procesos, diferencia-ción-especialización, constituyen un par indisolublemente ligado.

El proceso de diferenciación está programado genéticamente. Cada organismo multicelular comienza su formación a partir de una célula, y a partir de esta se desarrolla todo un organismo con sus diferentes órganos y tejidos; las células embrionarias llevan a cabo una expresión genética regulada que responde a señales del medio y de las células vecinas. Las células que ocupan determinadas posiciones en el embrión en desarrollo van a formar determinados tejidos; esta diferenciación y especialización requiere no solo de la división celular, sino también de la muerte de determinadas células, en localizaciones espe-cíficas y en un tiempo determinado, mediante un proceso de muerte programada conocido como apoptosis.

En las investigaciones realizadas en los genes y proteínas que controlan el desa-rrollo embrionario en diferentes organismos se ha podido comprobar características comunes en todos ellos, por ejemplo, muchas de las moléculas involucradas en la regulación del desarrollo embrionario del ser humano están estrechamente relacio-nadas desde el punto de vista evolutivo con las de un organismos tan simple como el nematodo *Caenorhabditis elegans*, lo que parece poner de manifiesto que los me-canismos que controlan el desarrollo de los organismos pluricelulares surgieron tem-prano y se han ido perfeccionando a lo largo del proceso evolutivo.

La especialización y diferenciación hísticas de los organismos pluricelulares determi-nan mayor eficiencia funcional. La existencia de complejos mecanismos de regulación permite el funcionamiento integral y armónico de tales organismos.

Podemos resumir que los organismos pluricelulares se caracterizan por:

1. La existencia de diferenciación y especialización celulares que están programadas genéticamente.
2. Las funciones del organismo se encuentran repartidas entre tejidos distintos, lo que semeja una “división del trabajo”.
3. Las células del mismo tipo se agregan y forman tejidos. Distintos tejidos se asocian y forman órganos, los que a su vez se agrupan y constituyen los aparatos y sistemas.
4. Las células de estos organismos están intercomunicadas mediante diversos y eficien-tes mecanismos de regulación, lo que permite su funcionamiento en forma coordina-da y armónica.
5. Estos aspectos provocan que los organismos multicelulares sean más eficientes.

Debe enfatizarse que la división de estas células no produce la duplicación del indivi-duo, sino solo la renovación de sus tejidos. En algunos tejidos las células no se dividen. La reproducción se lleva a cabo con la participación de órganos y células especializadas.

Unión intercelular

Como se ha señalado, los tejidos son un conjunto de células estructural y funcionalmente semejantes, las que se unen de manera diversa para formar los tejidos. Las uniones intercelulares están presentes en la mayoría de los tejidos como el nervioso, el muscular etc., aunque en otros esta unión no existe como en la sangre.

Las uniones celulares están mediadas por dos sistemas: proteínas de membrana que constituyen moléculas de adhesión y áreas especializadas de las membranas celulares incorporadas a las uniones celulares.

Las uniones intercelulares pueden ser: uniones células-células y uniones células-matriz extracelular.

Uniones oclusivas o estrechas. Son uniones células-células. Se forman por la fusión de proteínas ocludinas y claudinas de las dos células involucradas en la unión, y forman un sello impermeable que ocuye el espacio intercelular. Son típicas del tejido epitelial, especialmente en aquellos con función de secreción o absorción (Fig. 4.6).

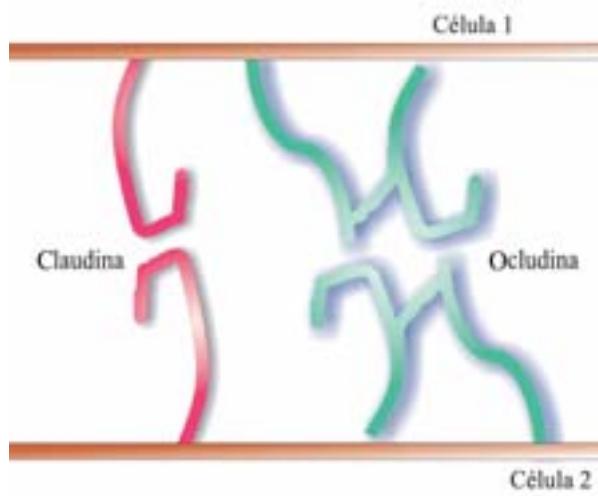


Fig. 4.6. Uniones oclusivas. Proteínas ocludinas y claudinas de ambas células se unen y forman un sello impermeable que ocuye el espacio intercelular.

Uniones de anclaje. Pueden establecerse entre células o entre la célula y la matriz extracelular; en ellas participan proteínas de adhesión que se unen a filamentos del citoesqueleto. Proporcionan estabilidad mecánica al tejido. Están ampliamente distribuidas en los tejidos animales, especialmente en aquellos que están sometidos a mecanismos estresantes como la epidermis, el músculo esquelético y el músculo cardíaco.

Proteínas de adhesión. Son proteínas transmembranales que intervienen en las uniones intercelulares, se denominan CAM (del inglés *cell adhesion molecules*). Se encuentran uniformemente distribuidas en la membrana plasmática y sus dominios citosólicos se asocian con fibras del citoesqueleto. Las uniones intercelulares pueden ser entre células del mismo tipo (homófilas) o de tipo diferentes (heterófilas). Existen diferentes tipos de CAM (Fig. 4.7):

1. Cadherinas.
2. Superfamilia Ig.
3. Selectinas.
4. Mucinas.
5. Integrinas.

Las integrinas participan en las uniones célula-matriz, las otras en las uniones célula-célula. Las cadherinas y las selectinas son dependientes de Ca^{2+} , las integrinas y las superfamilias Ig no lo son.

Las uniones de anclaje son, a su vez, de varios tipos. En las uniones célula-célula se encuentran las uniones de adhesión y los desmosomas, y en las uniones célula-matriz las adhesiones focales y los hemidesmosomas.

Uniones de adhesión. Se forman cuando fibras de actina de células adyacentes se unen mediante proteínas de unión a la actina (α -actinina y vinculina) a cadherina. Proporcionan estabilidad mecánica (Fig. 4.8).

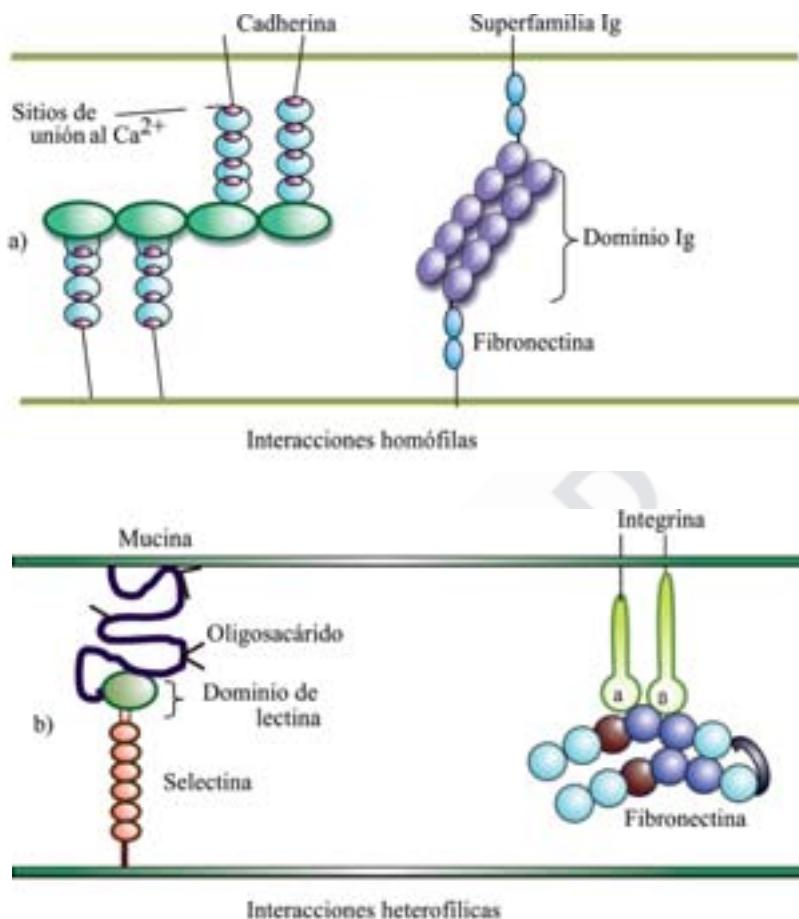


Fig. 4.7. Representación de modelos de las proteínas de adhesión molecular (CAM) de uniones. a) Homofílicas. b) Heterofílicas.

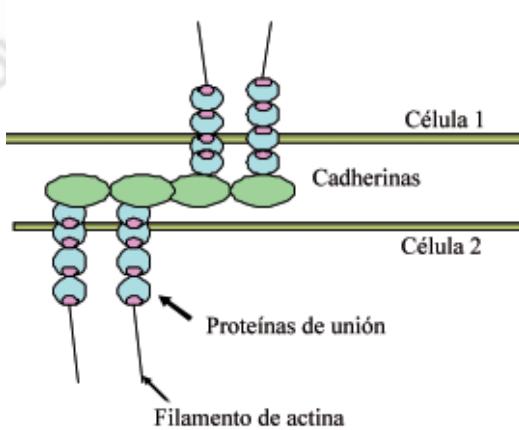


Fig. 4.8. Uniones adherentes. Dímeros de cadherinas se unen a filamentos de actina mediada por proteínas de anclaje.

Desmosomas y hemidesmosomas

Los desmosomas constituyen uniones de tipo punteado que forman placas de unión. Cada placa está constituida por proteínas desmoplaquinas y pacoglobinas, entre otras que se insertan a filamentos de queratina. La unión intercelular está mediada por proteínas transmembranales de desmogleínas a las cadherinas. Se encuentran en epitelios simples y escamosos, entre otros (Fig. 4.9).

El hemidesmosoma es similar a medio desmosoma, pero interactúa con la matriz extracelular y no con otro desmosoma. Se forman cuando proteínas de adhesión: integrinas se unen a laminina y a filamentos de queratina mediado por la plectina.

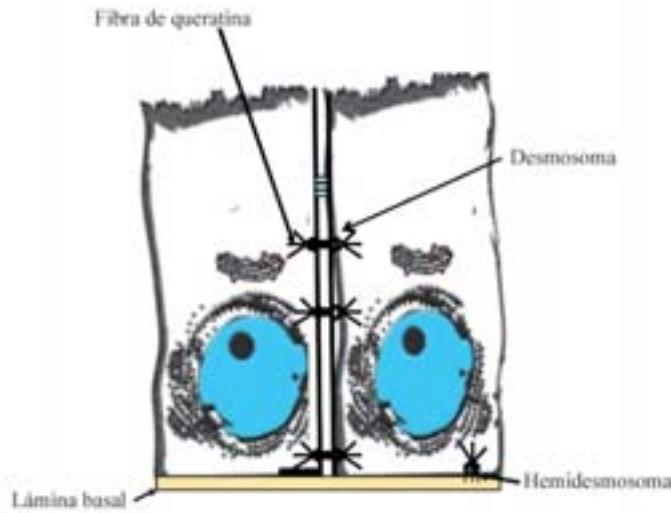


Fig. 4.9. Desmosomas y hemidesmosomas. Se observan las placas de unión célula-célula en los desmosomas y placa que une a la matriz extracelular en los hemidesmosomas.

Adhesiones focales

Son uniones de anclaje de tipo célula-matríz. Se producen cuando proteínas de adhesión de integrinas se unen a filamentos de actina mediada por α -actinina, tamina, filamina y vinculina (Fig. 4.10).

Uniones comunicantes o nexos

Se diferencian de las uniones ocluyentes y las de anclaje en que median la comunicación celular. Se encuentran en los tejidos epitelial, músculo cardíaco y esquelético y nervioso. En las uniones intervienen las proteínas conexinas que forman poros denominados conexones, conductos hidrofilicos de 1,5 a 2 nm de diámetro (Fig. 4.11). Median la comunicación intercelular ya que permiten la difusión selectiva de iones y moléculas pequeñas como AMPc, algunos aminoácidos y determinadas hormonas.

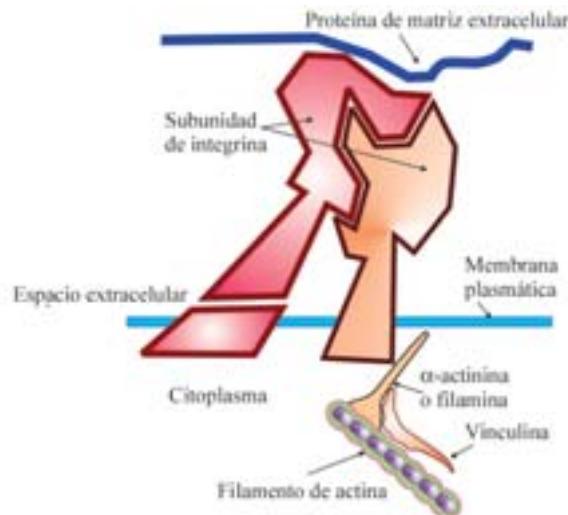


Fig. 4.10. Adhesiones focales. Uniones de célula-matríz. Proteínas de adhesión de integrinas se unen, mediada por α -actinina, tamina, filamina y vinculina a filamentos de actina.

Comunicación intercelular

En los organismos pluricelulares la comunicación intercelular es esencial, pues es lo que garantiza el funcionamiento del organismo como un todo único y armónico. La misma se lleva a cabo mediante alguna sustancia química que contiene determinada información o señal. Esta señal debe ser captada por moléculas especializadas denominadas receptores, que son capaces de reconocer e interactuar con la señal y facilitar una respuesta. La respuesta será especializada de acuerdo con el tejido que la emite.

La comunicación, atendiendo a la relación entre sitio de emisión de la señal y el que la capta y da la respuesta, puede ser:

1. **Autocrina.** Si la célula que libera la señal y la que la capta y emite la respuesta es la misma, por ejemplo, la interleuquina 2 que estimula la proliferación de células T (Fig. 4.12a).
2. **Paracrina.** Si la célula que libera la señal y la que la capta y emite la respuesta son células vecinas próximas y la señal se propaga por el líquido intersticial, por ejemplo, prostaglandinas y varios factores de crecimiento (Fig. 4.12b).
3. **Telecrina o endocrina.** Si la célula que libera la señal y la que la capta y emite la respuesta se encuentran alejadas por distancias más o menos grandes, por ende, la señal debe viajar por la sangre. La mayoría de las hormonas constituyen señales de este tipo como la insulina, el cortisol, el glucagón y otras.

Las hormonas son sustancias de naturaleza química variada, secretadas por glándulas endocrinas con actividades biológicas específicas. Cuando las hormonas son secretadas pasan a la sangre y alcanzan los diferentes tejidos, entre estos los tejidos “diana” que son aquellos que tienen receptores que las reconocen y se forma el complejo hormona-receptor, por lo que se produce la respuesta de dicho tejido diana a la información portada por dicha hormona (Fig. 4.13).

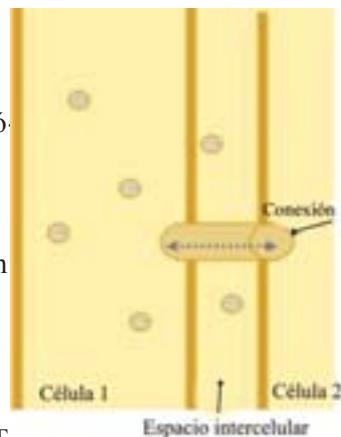


Fig. 4.11. Uniones comunicantes. Este tipo de unión permite el paso de iones y moléculas pequeñas entre las células a través de los conexones.

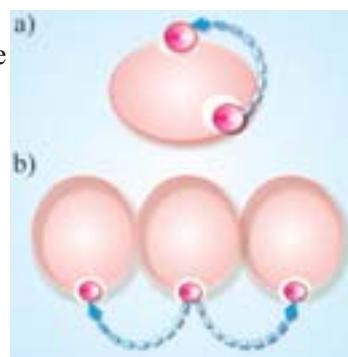


Fig. 4.12. a) Señal autocrina: la señal liberada por la célula es captada por la misma célula, la cual emite la respuesta. b) Señal paracrina: una célula libera la señal que es captada por células vecinas, las cuales emiten la respuesta.

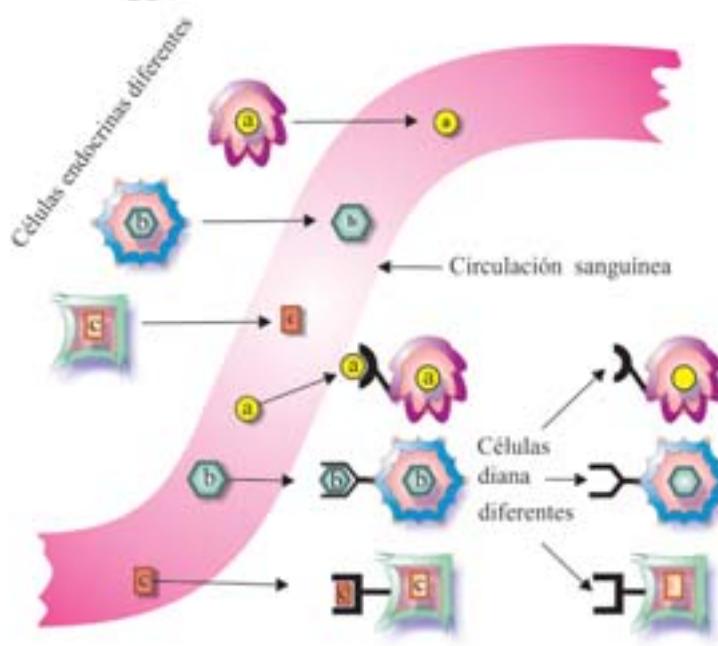


Fig. 4.13. Se presentan, de forma esquemática, las etapas de la liberación y el transporte de las hormonas hacia sus células diana. Las hormonas a, b y c son secretadas por las glándulas endocrinas respectivas, y transportadas por la sangre alcanzan sus tejidos diana. Se puede apreciar cómo las células diana “reconocen” específicamente a cada hormona mediante estructuras especializadas que interactúan con estas (los receptores).

Los neurotransmisores constituyen un caso especial de señales. Las células nerviosas liberan los neurotransmisores y de esta forma se comunican con sus células diana mediante uniones específicas, la sinapsis (Fig. 4.14).

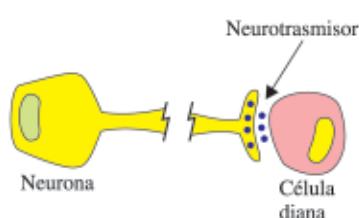


Fig. 4.14. Neurotransmisores. Constituyen una señal característica de las células nerviosas. Esta señal es liberada por una célula nerviosa y captada por la célula diana en la sinapsis.

Resumen

La materia viva se organiza básicamente en forma de virus, organismos unicelulares y organismos pluricelulares. Estos dos últimos presentan como unidad estructural y funcional a la célula. Las células están constituidas por el protoplasma, formado por los componentes químicos del metabolismo y la herencia, presentan las funciones universales típicas de los organismos vivos, como son: la irritación, la asimilación y desasimilación, así como el crecimiento y la reproducción, las cuales pueden adoptar características determinadas por la especialización celular.

Las células pueden ser procariotas o eucariotas; estas últimas son muy desarrolladas y compartimentadas, presentan el material genético en el núcleo celular, separado del citoplasma por la envoltura nuclear y además, variados organelos citoplasmáticos, cada uno relacionado con una función específica de tales células.

Los organismos pluricelulares están formados por células eucariotas diferenciadas y especializadas, que se asocian para formar tejidos, órganos, aparatos y sistemas. La diferenciación y la especialización tornan más eficientes a los organismos pluricelulares.

Los tejidos se forman por las uniones intercelulares que pueden ser: uniones oclusivas, uniones de adhesión, desmosomas y uniones comunicantes que unen células entre sí y las adhesiones focales y los hemidesmosomas que unen la célula con la matriz.

La comunicación intercelular permite que los organismos multicelulares funcionen coordinada y armónicamente.

La comunicación intercelular es de tres tipos: autocrina, paracrina y telecrina o endocrina de acuerdo con la distancia entre la célula que libera la señal y aquella que la capta y emite la respuesta.

Ejercicios

1. Represente esquemáticamente una célula procariota y una eucariota y establezca una comparación entre ellas.
2. Describa mediante un esquema el ciclo de replicación de un fago.
3. Elabore una tabla en la que se relacionen los diferentes organelos subcelulares con las funciones del protoplasma.
4. Dibuje una célula eucariota tipo e indique todas sus partes, así como las funciones con la que se relaciona cada una de sus partes.
5. Establezca una relación entre diferenciación y especialización, y ejemplifique con tejidos diversos.
6. Defina el concepto de señal metabólica.
7. Defina el concepto de mediadores químicos.
8. Explique los distintos mecanismos de comunicación intercelular en los organismos pluricelulares y diga la significación biológica de estos.
9. ¿Cómo usted explica que ante una misma señal química se produzcan respuestas distintas en diferentes tejidos?

Resumen de la sección

La ciencia bioquímica tiene sus raíces en el siglo XVIII; pero en el siglo XX experimentó un extraordinario desarrollo que continúa en el actual y ha hecho importantes aportes a distintas ramas biológicas y contribuye de forma destacada al avance de algunas ciencias afines como: la genética, la inmunología, la microbiología, la farmacología y otras. Además, numerosos descubrimientos en relación con aspectos básicos de la bioquímica han redundado en aplicaciones a la práctica médica: el diagnóstico, la elaboración de medicamentos y vacunas, así como en la mejor comprensión de distintas enfermedades.

La disciplina Bioquímica es la parte de esta ciencia que se incluye en el plan de estudio de las distintas especialidades de las ciencias médicas y trata el estudio de sus aspectos fundamentales, aplicados al ser humano con un enfoque eminentemente médico.

La vida es una forma especial del movimiento de la materia. El movimiento biológico abarca todos los procesos que ocurren en los seres vivos; su esencia es el intercambio continuo de sustancia, energía e información con el medio. La vida surge como un producto del desarrollo de la materia inorgánica en un largo proceso evolutivo.

La materia viva difiere de la inerte, tanto en los tipos de átomos presentes en una y otra, como en la organización de estos para formar moléculas que hace mucho mayor la complejidad de las biomoléculas. Además del agua, que es el compuesto más abundante en los organismos vivos y de algunos iones inorgánicos presentes en cantidades pequeñas, la materia viva contiene moléculas características, esto es, biomoléculas que pueden ser proteínas, ácidos nucleicos, glúcidos y lípidos, fundamentalmente.

Oparin fue el primer hombre de ciencia que planteó una teoría científica acorde con los eventos relacionados con el origen de la vida en la Tierra. Esta teoría ha sido confirmada por numerosas observaciones de diversa índole y por variadas experiencias de simulación, que apoyan la formación abiótica de las distintas biomoléculas y de las células primitivas o protobiontes, a partir de agregados supramoleculares. De los primeros organismos vivos se crearon todas las formas de vida en un largo proceso evolutivo.

El fundador de la teoría de la evolución, Charles Darwin, consideró a todas las especies como evolucionadas a partir de un origen común en un proceso de selección natural, sobre la base de la diversidad de individuos dentro de cada especie y que por un proceso de selección natural se produciría la dominancia de aquellos que presentaban variaciones favorables para una mejor adaptación al medio.

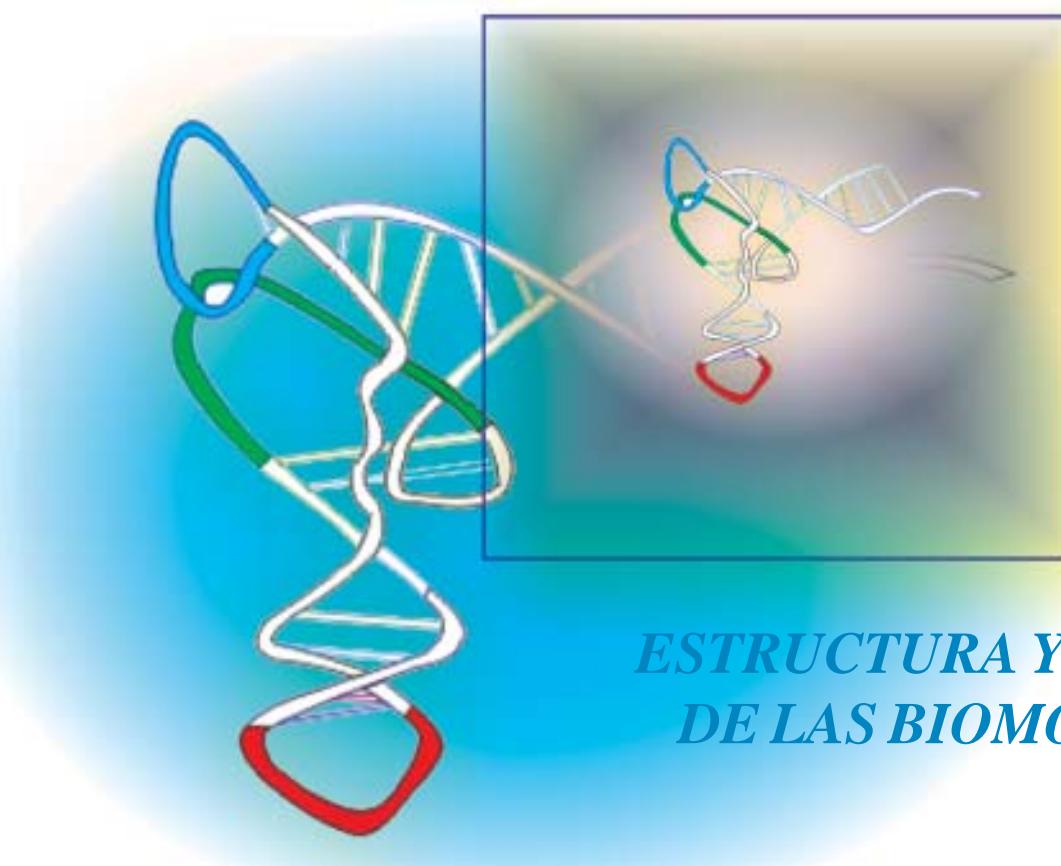
Las causas de la diversidad individual son las mutaciones, la duplicación de genes y las recombinaciones genéticas. Existen numerosas evidencias científicas, aportadas por distintas ciencias, que confirman el proceso evolutivo, entre las que merecen destacarse la paleontología, la anatomía comparada, la embriología y la bioquímica.

La materia viva se organiza básicamente en forma de organismos unicelulares y pluricelulares. La unidad estructural y funcional de todos ellos es la célula, la que puede ser procariota o eucariota. La célula eucariota es más desarrollada y presenta un elevado grado de organización. Los virus son otra forma de existencia de la materia viva.

Las células están constituidas por el protoplasma que presenta las funciones universales típicas de los organismos vivos, aunque estas pueden adoptar características determinadas por la especialización celular

La comunicación entre las células en los organismos pluricelulares permite el funcionamiento coordinado y armónico de tales organismos.

La comunicación intercelular es de tres tipos: autocrina, paracrina y telecrina o endocrina, de acuerdo con la distancia entre la célula que libera la señal y aquella que la capta y emite la respuesta.



SECCIÓN II

ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE LAS BIOMOLÉCULAS

Introducción a la sección

Esta sección está dedicada al estudio de las biomoléculas, que son los compuestos químicos característicos de la materia viva. Las biomoléculas se caracterizan por su gran diversidad, a pesar de estar constituidas por un escaso número de átomos: carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno en mayor cantidad, así como fósforo y azufre en menor cuantía. Los demás elementos que pueden encontrarse en algunas biomoléculas se hallan en pequeña proporción.

La forma de asociarse dichos átomos, que explican la diversidad estructural de estas moléculas y de sus propiedades, depende de las características de sus elementos constituyentes, como la disposición en que estos se unen para formar los enlaces y agrupaciones moleculares, aspecto que será tratado en el capítulo 5.

Las biomoléculas de mayor complejidad son las macromoléculas, biopolímeros formados por la unión de otras biomoléculas más sencillas, que constituyen sus monómeros o precursores. Las proteínas son polímeros de aminoácidos; los ácidos nucleicos, de nucleótidos, y los polisacáridos, de monosacáridos.

En esta sección estudiaremos primero todos los monómeros que constituyen las unidades estructurales de las diferentes macromoléculas y después se procederá al estudio particular de la estructura y las propiedades de cada

una de las macromoléculas. Los capítulos 6, 7 y 8 se dedican al estudio de los aminoácidos, monosacáridos y nucleótidos, respectivamente; los capítulos 10, 11 y 12 tratarán de sus biopolímeros.

Por último, en el capítulo 13 se tratará la estructura y las propiedades de los lípidos, importantes biomoléculas que no forman macromoléculas, sino distintos tipos de lípidos complejos.

El lector deberá dominar todo lo concerniente a la estructura y propiedades de las biomoléculas, previo al estudio del metabolismo, por la importancia que tiene dicha estructura en sus funciones y propiedades.



Introducción al estudio de las biomoléculas

La composición química de los organismos vivos difiere considerablemente de la materia inanimada, aunque es necesario esclarecer que también forman parte de la materia viva algunas sustancias de naturaleza inorgánica. Las moléculas que son específicas de los seres vivos son las *biomoléculas*.

Una característica esencial de las biomoléculas es su diversidad, a pesar de estar constituidas fundamentalmente por un grupo pequeño de átomos: carbono, nitrógeno, oxígeno, hidrógeno, y en menor cuantía fósforo y azufre, entre otros. Aun organismos tan sencillos como las bacterias están formados por una gran variedad de moléculas. Una característica fundamental de las biomoléculas es la especificidad de su función, que está condicionada por su estructura. En este capítulo consideraremos los aspectos más generales en relación con los principales átomos, grupos funcionales, enlaces e interacciones presentes en las biomoléculas, que determinan sus características esenciales y sus propiedades, por lo cual su conocimiento previo resulta fundamental.

Se hará una revisión somera de las propiedades de la molécula de agua, por ser este el componente más abundante de los diferentes tejidos y fluidos biológicos, así como el principal disolvente de la mayoría de las biomoléculas.

El agua en los organismos vivos

El agua es la sustancia más abundante en los organismos vivos, en el interior de las células, en los líquidos extracelulares y en todos los fluidos biológicos; ella constituye el solvente natural en la materia viva. Son varias las propiedades que permiten que esta sustancia cumpla su función capital: elevado punto de ebullición, su bajo punto de fusión, elevada constante dieléctrica y gran capacidad calórica, hacen del agua el solvente más apropiado para la mayoría de las biomoléculas, sales, iones y otras sustancias polares.

El agua es una molécula dipolar y puede establecer numerosos puentes de hidrógeno entre sí, además, es capaz de incluir iones u otras moléculas polares disueltas en su seno. Cada molécula de agua puede asociarse a otras tres o cuatro por medio de los puentes de hidrógeno, lo cual le confiere propiedades características. Dichos puentes se establecen no solo en el estado líquido, sino también en la fase de vapor de agua y en su forma sólida, el hielo.

Es importante recalcar la importancia fundamental que tienen los productos de ionización del agua sobre el comportamiento y la actividad de numerosas biomoléculas. La ionización del agua cumple la ecuación siguiente:

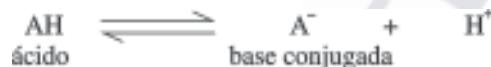


o simplificadamente:



El agua pura tiene un pH 7 (neutro), condición en que la concentración de H^+ y de OH^- es la misma ($[\text{H}^+] = [\text{OH}^-]$); si en una disolución existe un predominio de $[\text{H}^+]$, en relación con la $[\text{OH}^-]$, el valor de pH será menor que 7 (ácido); por el contrario, si la concentración mayor es la de OH^- , el valor del pH es superior a 7 y el medio es alcalino o básico. El pH del agua se modifica si se le adiciona una sustancia ácida o básica (alcalina).

Bronsted y Lowry definieron los ácidos como aquellas sustancias que ceden protones, y bases a las que los captan; la especie ácida forma un par con su base conjugada, como puede apreciarse:



Para esta reacción se puede definir su constante de disociación K_i , que como ella consiste en la reacción de disociación ácida, sería K_a y por tanto:

$$K_a = \frac{[\text{A}^-][\text{H}^+]}{[\text{AH}]} \quad (1)$$

Como es fácil inferir de esta relación, a mayor valor de K_a mayor será la FIH lo cual significa que la especie cederá con más facilidad los protones, o sea, es un ácido más fuerte; por el contrario, valores bajos de K_a corresponden a $[\text{AH}]$ mayores, la especie no cede fácilmente los protones, sino por el contrario tiene tendencia a captarlos, es un ácido más débil o una base más fuerte. A un ácido más fuerte le corresponde una base conjugada débil y viceversa.

Despejando $[\text{H}^+]$ en la ecuación (1) y reordenando, se tiene:

$$[\text{H}^+] = K_a \cdot \frac{[\text{AH}]}{[\text{A}^-]}$$

y aplicando logaritmo en ambos miembros de la ecuación:

$$\log [\text{H}^+] = \log K_a + \log \frac{[\text{AH}]}{[\text{A}^-]}$$

Cambiando el signo en ambos lados de la ecuación:

$$-\log [\text{H}^+] = -\log K_a - \log \frac{[\text{AH}]}{[\text{A}^-]} \quad (2)$$

Pero:

$$-\log \frac{[\text{AH}]}{[\text{A}^-]} = \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{AH}]}$$

y por definición:

$$-\log K_a = pK_a \quad \text{y} \quad -\log [H^+] = pH,$$

sustituyendo en (2):

$$pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[AH]} \quad (3)$$

donde A^- corresponde con la forma disociada del grupo y AH con la no disociada. Es obvio que dada la definición de pK_a , a menor pK_a más fuerte será el ácido y viceversa.

La ecuación (3), conocida como la ecuación de Henderson-Hasselbach, constituye la ecuación de las soluciones amortiguadoras del pH, también conocidas como soluciones *buffers* o *tampón*; la función de estas soluciones es la preservación del pH del medio y por su trascendencia las trataremos someramente aquí.

Las soluciones amortiguadoras del pH están constituidas por una mezcla de un electrólito débil con uno fuerte, que presenten un ion común y su función es la prevención de cambios de pH del medio.

Suponiendo que el ácido corresponda con el electrólito débil y su sal con el electrólito fuerte, como en el caso del *buffer* acetato, entonces:



La mezcla así formada del ácido y su sal, y donde el ion común es $\text{CH}_3\text{-COO}^-$, o sea, el ion acetato, constituye el *buffer* acetato. En este caso el electrólito débil es el ácido, este se disociará poco y por tanto predominará en la forma no disociada, $\text{CH}_3\text{-COOH}$; en tanto que su sal, el acetato de sodio, será el electrólito fuerte y estará prácticamente toda en su forma disociada, en forma de ion acetato: $\text{CH}_3\text{-COO}^-$.

Por ello el $\text{CH}_3\text{-COOH}$ será la reserva ácida y protegerá el pH contra la adición de bases, mientras que la reserva alcalina será el $\text{CH}_3\text{-COO}^-$ y protegerá el pH contra la adición de ácidos. La ecuación de Henderson-Hasselbach se conoce también como la ecuación de los *buffers* y para estos casos suele escribirse:

$$pH = pK_a + \log \frac{[\text{Sal}]}{[\text{Ácido}]}$$

donde el pK_a corresponde al pK_a del ácido y el pH del *buffer* depende de la relación de las concentraciones de la sal y el ácido. Un *buffer* es más eficiente si las concentraciones de la reserva ácida y la alcalina son similares, y ello se cumple en valores de pH cercanos al valor del pK_a del ácido. Para objetivos prácticos se acepta que un *buffer* es eficiente a valores de $pH = pK_a \pm 1$.

Utilizando el *buffer* acetato como ejemplo, observemos cómo este responde ante adiciones de un ácido como el HCl. La reserva alcalina reacciona:



con lo que el pH del medio no cambia. Si por el contrario se añade un álcali como el hidróxido de sodio (OHNa), reacciona la reserva ácida:



y de esta forma el pH tampoco cambia.

En la sangre y otros fluidos biológicos y en todas las células vivas es fundamental el mantenimiento del pH dentro de determinados límites, que permitan el desarrollo normal de las reacciones del metabolismo, y ello se garantiza por la existencia de diversos sistemas *buffers*.

Sustancias inorgánicas en la materia viva

En la composición de la materia viva se comprueba la presencia de algunos elementos inorgánicos en forma de iones o de complejos. Los elementos inorgánicos más abundantes son: fósforo, azufre, potasio, sodio, calcio y cloro, entre otros; algunos existen en cantidades mucho menores como el cobre, zinc, cobalto y flúor, conocidos como oligoelementos o elementos trazas. La función de estos iones inorgánicos está relacionada principalmente con la actividad catalítica de muchas enzimas; además, cumplen funciones osmóticas y contribuyen a la formación de estructuras complejas. Más adelante se estudiarán en detalle las funciones de los minerales en el organismo humano.

Composición elemental y características generales de las biomoléculas

Las biomoléculas existen en un grado variable de complejidad; están formadas principalmente por carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno, unidos por enlaces covalentes. Además, suelen contener azufre y fósforo, entre otros elementos.

Las biomoléculas se pueden agrupar de acuerdo con su tamaño y complejidad en moléculas sencillas, de relativo bajo peso molecular como los aminoácidos, los monosacáridos, los ácidos grasos, los nucleótidos y otras; las moléculas de elevado peso molecular (macromoléculas) están formadas por la polimerización de algún tipo de molécula sencilla: las proteínas son polímeros de aminoácidos; los polisacáridos, de monosacáridos, y los ácidos nucleicos, de nucleótidos.

Algunos lípidos aunque no constituyen macromoléculas presentan estructuras complejas, integradas por la asociación de moléculas sencillas diversas.

Para tratar el estudio de las biomoléculas es necesario comprender antes las características y propiedades de los principales átomos que las constituyen, así como de los enlaces mediante los cuales se unen y asocian para formar las agrupaciones moleculares presentes en los distintos tipos de biomoléculas.

Átomos en las biomoléculas

En la tabla 5.1 se presentan las características esenciales de los átomos más frecuentes en las biomoléculas y de algunos otros que puedan ser utilizados como referencia en el análisis de diversas propiedades de los átomos que pertenezcan al mismo grupo en la tabla periódica.

Tabla 5.1. Algunas propiedades de los átomos más frecuentes en las biomoléculas y de otros que permitan comparar las propiedades de algunos grupos de la tabla periódica

Símbolo	Grupo	Z	Configuración electrónica	Potencial de ionización (eV)	Electronegatividad	Radio atómico (Å)
H	I	1	1	13,60	2,1	0,37
Li	I	3	2, 1	5,40	1,0	0,89
Na	I	11	2, 8, 1	5,10	0,9	1,57
C	IV	6	2, 4	11,26	2,5	0,77
Si	IV	14	2, 8, 4	8,15	1,8	1,17
N	V	7	2, 5	14,50	3,0	0,74
P	V	15	2, 8, 5	11,00	2,1	1,10
O	VI	8	2, 6	13,61	3,5	0,74
S	VI	16	2, 8, 6	10,36	2,5	1,04
F	VII	9	2, 7	17,42	4,0	0,72
Cl	VII	17	2, 8, 7	13,0	13,0	0,99

Como sabemos, Z es el símbolo del número atómico y corresponde con el número de protones en el núcleo y de electrones alrededor de este. Radio atómico es la distancia que existe entre el núcleo y la capa más externa de electrones de un átomo. Desde el punto de vista químico los electrones más importantes son los de la última capa, pues determinan el comportamiento reaccional del átomo. Los átomos con menos de cuatro electrones en su última capa (grupo I de la tabla) tienen la tendencia a perderlos y convertirse en iones con carga positiva (cationes); presentan carácter de metales, poseen baja energía de ionización y baja electronegatividad. Los que tienen más de cuatro electrones en su última capa (grupos VI y VII de la tabla) tienen la tendencia a captar electrones hasta completar ocho en la última capa (regla del octeto) y se convierten en iones con carga negativa (aniones), poseen elevada energía de ionización y elevada electronegatividad (carácter de no metales).

Los átomos intermedios entre ambos extremos de la tabla periódica (grupos IV y V, especialmente el IV) no tienen tendencia a ceder ni a captar electrones, por ello no forman iones fácilmente, sus valores de energía de ionización y de electronegatividad son intermedios, así como su tendencia es a compartir sus electrones.

Átomo de carbono

El átomo de carbono es el primer elemento del grupo IV de la tabla periódica, su número atómico es seis y ocupa un lugar intermedio entre el carácter metálico y no metálico, por lo tanto su tendencia no es ganar ni perder electrones, sino compartirlos. Los electrones de su capa más externa son cuatro y ocupan un orbital s y tres orbitales p. Más adelante veremos cómo estos orbitales pueden asociarse para formar distintos tipos de orbitales híbridos.

El átomo de carbono tiene la capacidad de unirse entre sí y formar cadenas de longitud variable, que al unirse con átomos de hidrógeno forman cadenas hidrocarbonadas lineales o ramificadas, abiertas o cíclicas y saturadas o insaturadas. Las cadenas hidrocarbonadas son estables y constituyen la estructura básica de las biomoléculas.

Los átomos de oxígeno y nitrógeno pueden combinarse entre sí y con el carbono, originando así variadas agrupaciones atómicas –los grupos funcionales con propiedades muy específicas que se ponen de manifiesto en las moléculas que los contienen.

Los átomos se unen para formar agrupaciones atómicas y moléculas mediante los enlaces químicos. Trataremos ahora algunos de los aspectos esenciales de los enlaces químicos.

Enlaces químicos

Los enlaces químicos son las fuerzas interatómicas que permiten la formación de moléculas; estos pueden ser de varios tipos: iónico, covalente y metálico. Revisaremos aquí someramente los dos primeros por ser los que se encuentran en las biomoléculas.

Enlace iónico

El enlace iónico es un enlace de tipo electrostático que se produce por la transferencia de un electrón desde un átomo de baja energía de ionización hasta uno de alta afinidad electrónica.

El Na por ejemplo, con carácter metálico (tabla 5.1), tiende a perder un electrón de su última capa (baja energía de ionización) y se forma el ion Na^+ . Por otra parte, el Cl tiene tendencia a captar un electrón, completar con ocho electrones su última capa (alta afinidad electrónica) y queda como ion Cl^- ; los iones así formados se atraen por fuerzas electrostáticas y se libera gran cantidad de energía. Las moléculas que presentan este tipo de enlace forman cristales iónicos y se caracterizan por ser sólidos, solubles en agua o solventes polares, buenos conductores de la corriente eléctrica; además poseen elevados puntos de fusión y ebullición. Este enlace, aunque no es el predominante en las biomoléculas, se puede encontrar en sales orgánicas y en otras biomoléculas.

Enlace covalente

El enlace covalente se produce por el compartimiento de electrones entre los átomos.

Este tipo de enlace es característico de los elementos centrales de la tabla periódica, como el carbono. Los electrones compartidos forman el orbital molecular y se produce cuando interactúan electrones no pareados con *spines* opuestos; el caso más simple lo podemos ver en el compartimiento del único electrón del átomo de H para formar la molécula de H_2 . Este enlace covalente será apolar, pues los electrones estarán compartidos igualmente entre ambos átomos.



Este enlace es de gran fortaleza, estable y presenta libertad de giro. Los electrones compartidos en los enlaces covalentes pueden pertenecer a orbitales s o p. La nube electrónica producida por el solapamiento de los orbitales compartidos se distribuirá más o menos de forma simétrica en dependencia de la polaridad del enlace, alrededor del eje que va de uno al otro núcleo de los átomos involucrados. Es bueno señalar que la distribución de la nube electrónica será menos simétrica en las moléculas polares, en las que uno de los átomos atrae más hacia sí los electrones, debido a que posee mayor electroafinidad; un ejemplo de ello lo constituye la molécula de agua, en la cual los electrones son atraídos con mayor fortaleza por el oxígeno y menor por el hidrógeno, por ello la molécula de agua se comporta como un dipolo (Fig. 5.1).

Al enlace covalente en el que uno de los átomos involucrados es el que aporta los dos electrones compartidos con otro que los recibe, se le conoce con el nombre de enlace covalente de coordinación o coordinado; esto sucede en la formación del ion amonio, ya que los dos electrones que se comparten son aportados por el nitrógeno.

Los compuestos que presentan enlaces covalentes pueden tener distinto estado físi-

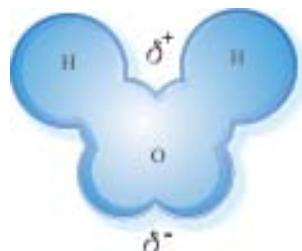
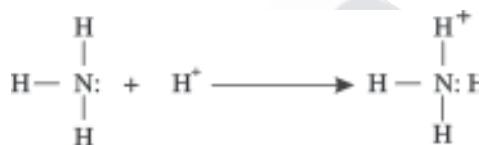


Fig. 5.1. La molécula de agua como dipolo

co; sus temperaturas de fusión y ebullición son menores que aquellas de los que poseen enlaces iónicos. La solubilidad de estos compuestos estará en dependencia de su polaridad; los apolares son pocos solubles en agua y más solubles en solventes orgánicos, en tanto que los polares son más solubles en agua y solventes polares.

Sus disoluciones como regla no son buenas conductoras de la electricidad, aunque esta propiedad también dependerá de la polaridad del enlace; mientras más polar sea una molécula, más se acercará a las propiedades de aquellas formadas por enlaces iónicos.

En ocasiones resulta difícil la localización de la nube electrónica molecular y en muchos compuestos del carbono no es posible representarla como única estructura, esto se debe a la existencia de resonancia en algunos enlaces.

Resonancia. La resonancia constituye un concepto importante en los compuestos del carbono, como es el caso de las biomoléculas; está presente en aquellas moléculas o iones poliatómicos que pueden representarse por más de una estructura de contenido energético, aproximadamente igual, y que se diferencian solo en la localización de sus electrones. De acuerdo con la configuración electrónica del carbono y del oxígeno, la estructura esperada para el dióxido de carbono (CO_2) sería:

Asimismo la distancia entre los dobles enlaces sería alrededor de 1,24 Å, pero se ha



podido determinar que ambos enlaces (C-O) tienen una distancia de 1,13 Å, menor que la esperada, y la molécula adopta una disposición lineal. Esta contradicción se resuelve si se asume que el desplazamiento electrónico al nivel de los dobles enlaces puede ocurrir en ambas direcciones, entonces la distribución electrónica del CO_2 podría escribirse de las maneras siguientes:



entre las dos posiciones extremas existen numerosas posiciones intermedias. La estructura de resonancia se puede representar mejor mediante la participación de los orbitales por los electrones en los tres átomos (Fig. 5.2).

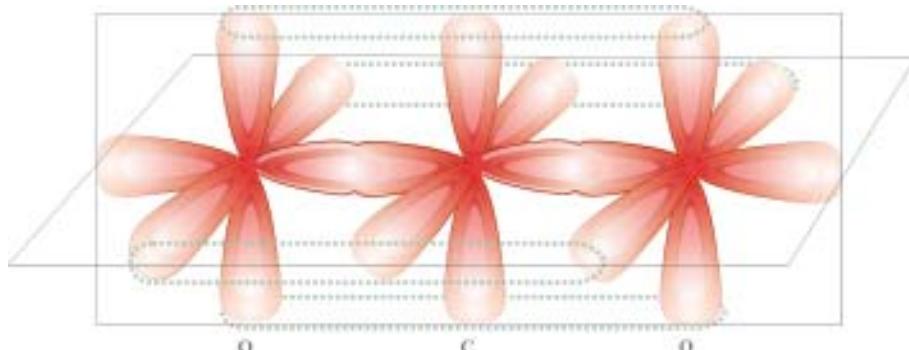


Fig. 5.2. Representación de los orbitales del CO₂.

Interacciones débiles

Además de los enlaces estudiados, entre los átomos pueden establecerse otras fuerzas intermoleculares débiles y variadas que tienen importancia en el mantenimiento de las estructuras espaciales de las macromoléculas.

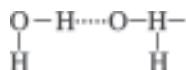
Las interacciones débiles son uniones no covalentes de energía menor que 41 840 J mol⁻¹ (10 kcal.mol⁻¹).

Revisaremos brevemente aspectos esenciales de algunas de estas interacciones.

Puente de hidrógeno

Los puentes de hidrógeno se establecen entre un átomo de hidrógeno que está unido a un elemento muy electronegativo y con radio iónico pequeño (como el oxígeno y el nitrógeno) y que es atraído por un segundo elemento con características similares, de manera que el hidrógeno queda compartido entre los dos átomos electronegativos. En estas condiciones el átomo de H se encuentra casi desposeído de su electrón y se comporta como un H⁺. El puente de hidrógeno puede formarse entre moléculas diferentes y entre moléculas iguales.

El puente de hidrógeno puede alcanzar una energía alrededor de 10 kcal.mol⁻¹ y es una de las más fuertes entre las interacciones débiles; la formación de puentes de hidrógeno entre moléculas de agua es un ejemplo. Esta interacción desempeña una función fundamental en el mantenimiento de la estructura tridimensional de las proteínas y de los ácidos nucleicos.



Puentes de hidrógeno entre moléculas de agua



Puente de hidrógeno entre un O y un N

Interacciones hidrofóbicas

Las interacciones hidrofóbicas se producen cuando grupos o moléculas apolares se encuentran en un medio acuoso; en esas condiciones estos grupos tienden a asociarse entre sí, de manera que pueden ofrecer la menor superficie posible al medio polar

Esta atracción de las cadenas apolares como las hidrocarbonadas de los aminoácidos apolares es de gran importancia en el mantenimiento de la estructura espacial de las proteínas. Esta interacción es, en alguna medida, similar a la que experimentan las cadenas apolares de los ácidos grasos cuando forman las micelas.

Interacciones electrostáticas

Las interacciones electrostáticas también se establecen entre iones cuando estos se encuentran en disolución. Asimismo si dos iones poseen carga opuesta se atraerán y tenderán a acercarse (uniones salinas), mientras que si poseen carga igual se repelen y por tanto tienden a alejarse.

Entre grupos básicos con carga positiva y grupos ácidos con carga negativa se presentará una fuerza de atracción electrostática. Este tipo de interacción contribuye al mantenimiento de la estructura espacial de las proteínas.



Fuerzas de Van der Waals

Son fuerzas electrostáticas transitorias que se establecen entre los electrones de la envoltura de unos átomos y los núcleos de otros, lo que provoca deformación momentánea de las nubes electrónicas y la aparición de un dipolo de carácter transitorio.

Estos dipolos originan fuerzas de atracción entre los grupos o moléculas vecinas. Las fuerzas de Van der Waals son importantes en el mantenimiento de la estructura tridimensional de las proteínas.

Los átomos unidos por algún tipo de enlace estudiado, y en el caso de las biomoléculas –especialmente por el covalente–, originan las cadenas hidrocarbonadas, los distintos grupos funcionales y en general todas las agrupaciones atómicas que se presentan en las diversas biomoléculas.

Pasaremos a revisar los compuestos formados por carbono e hidrógeno: los hidrocarburos, y después trataremos los aspectos esenciales de aquellos grupos funcionales más frecuentes en las biomoléculas.

Hidrocarburos

Los hidrocarburos se clasifican en alifáticos cuando presentan cadenas abiertas hidrocarbonadas, que pueden ser saturadas o insaturadas, lineales o ramificadas y además, presentar algún grupo funcional; también se clasifican en cílicos o de cadenas cerradas, que a su vez pueden ser alicíclicos o aromáticos.

Hidrocarburos alifáticos

Los hidrocarburos saturados son aquellos que contienen enlaces simples y pueden ser lineales o ramificados. En la formación de los enlaces simples C - C, que forman la estructura de los hidrocarburos saturados, los orbitales s y p de la última capa del átomo de carbono se hacen equivalentes y no existen orbitales s o p puros, siendo híbridos; dado que en estas condiciones se han mezclado o fusionado un orbital s y tres p, se conoce como sp^3 a la hibridación resultante. En esta hibridación los orbitales se encuentran separados por ángulos de $109^\circ 28'$ y la disposición del átomo de carbono es la de un tetraedro, como puede apreciarse en la estructura del metano (CH_4), que es el hidrocarburo más simple (Fig. 5.3).

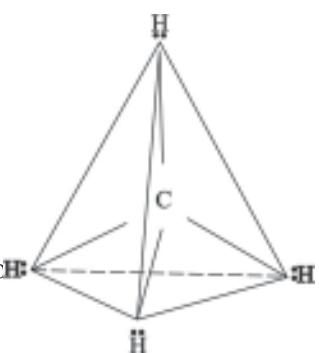
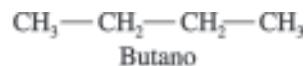
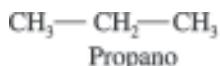
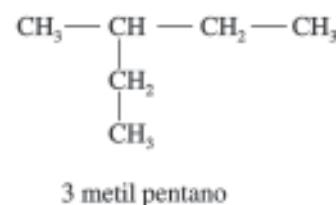
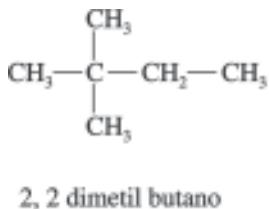


Fig. 5.3. Disposición de los átomos de C e H en el metano.

A continuación podrán observarse algunos ejemplos de hidrocarburos saturados lineales:



y ramificados:



Son hidrocarburos insaturados cuando contienen dobles o triples enlaces y también pueden ser lineales o ramificados. En los hidrocarburos que presentan dobles enlaces – los alquenos– el tipo de hibridación que presentan los átomos de carbono es sp^2 ; en este caso se han fundido un orbital s y dos p, el otro p que queda se mantiene como orbital p puro y se ubica perpendicular a los híbridos sp^2 . El ángulo entre los orbitales híbridos es de 120° . El doble enlace característico de los alquenos se puede formar entre otros átomos diferentes al C; pero con características similares –como el oxígeno y el nitrógeno. Uno de los enlaces presentes es de tipo sigma (σ), formado por la unión covalente de dos orbitales híbridos sp^2-sp^2 ; el otro enlace es de tipo pi (π), que se forma por la superposición de dos orbitales p que originan orbitales moleculares. La disposición de los enlaces en el eteno se presenta en la figura 5.4.

A continuación se muestran ejemplos de hidrocarburos del tipo alquenos:

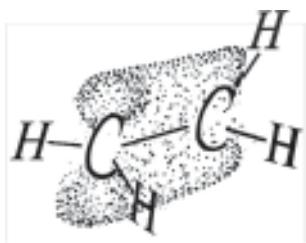
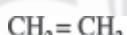


Fig. 5.4. Disposición de los enlaces en el eteno.



Eteno



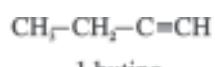
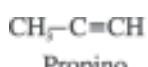
Propeno



Fig. 5.5. Disposición de los enlaces en el etino.

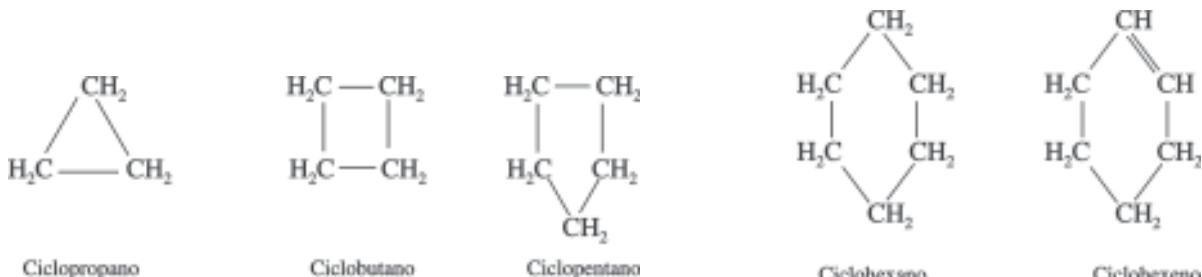
En los hidrocarburos con enlace triple (alquinos) existe la hibridación sp, formada por la fusión de un orbital s y uno p, y se mantienen dos orbitales p puros. La molécula resulta lineal, ya que la disposición del enlace por orbitales sp forma ángulos de 180° . Los orbitales p puros se disponen perpendicular uno con respecto al otro y también con respecto al sp. Luego, puede apreciarse la disposición de los orbitales en la estructura del etino. El enlace triple consta de un enlace σ y del orbital molecular π , en el que intervienen los dos orbitales p puros (Fig. 5.5).

Algunos ejemplos de alquinos aparecen a continuación:



Hidrocarburos cíclicos

Los hidrocarburos cíclicos son aquellos que forman estructuras cerradas sin extremos libres. Son alicíclicos si forman anillos que, aunque puedan presentar insaturación, no posean un elevado grado de resonancia. Algunos ejemplos son el ciclopropano, el ciclopentano y el ciclohexeno, cuyas estructuras pueden apreciarse:



Los hidrocarburos cíclicos son aromáticos si forman anillos donde los enlaces dobles tienen un elevado grado de resonancia, el ejemplo más clásico es el benceno. Los átomos de carbono en el benceno presentan hibridación de tipo $s\pi$ y el orbital p puro de cada uno de los carbonos se solapa con sus vecinos y forman una nube electrónica por encima y por debajo de los enlaces σ que forman la estructura básica del benceno (Fig. 5.6). El núcleo del benceno suele representarse de tres formas (Fig. 5.7).

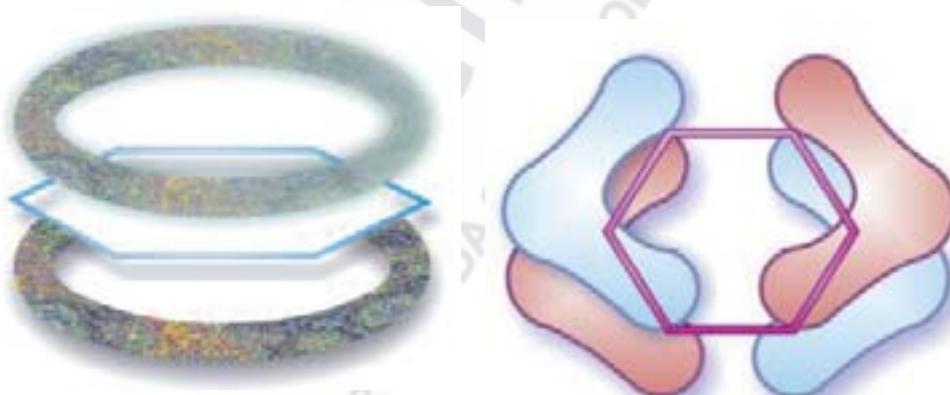


Fig. 5.6. Disposición de las nubes electrónicas en el benceno.

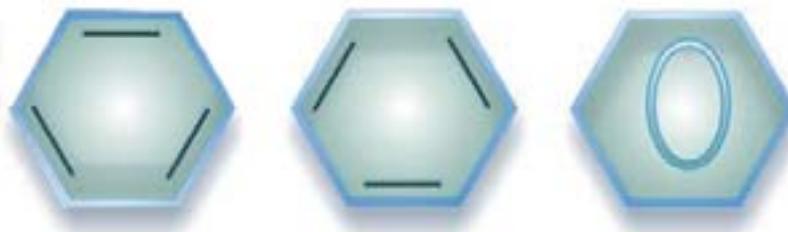
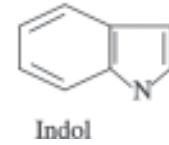
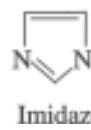
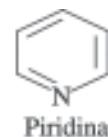
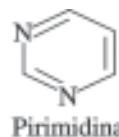
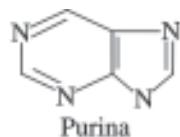


Fig. 5.7. Representación del núcleo bencénico.

En ocasiones los ciclos contienen átomos diferentes en cuyo caso se conocen como heterociclos, varios de ellos más frecuentes en las biomoléculas se muestran a continuación:



Algunos anillos principales que contienen nitrógeno en su estructura se encuentran en varias vitaminas, determinados aminoácidos y en los ácidos nucleicos.

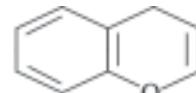
Determinados anillos que contienen átomos de oxígeno se representan de la forma siguiente:



Furano



Pirano



Cromano

Algunos monosacáridos adoptan estructuras cíclicas que forman anillos e incluyen al átomo de oxígeno, formando ciclos del tipo del furano o del pirano. Se encuentran también anillos que contienen azufre:



Tiofeno



Tiazol

El anillo de tiazol se encuentra formando parte de una coenzima.

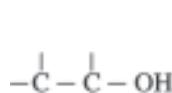
Agrupaciones o grupos funcionales en las biomoléculas

En las biomoléculas existen diversos grupos funcionales entre los que podemos citar: hidroxilo (OH), carbonilo (CO), carboxilo (COOH), amino (NH₂), sulfidrilo (SH), entre otros. Dedicaremos la atención a revisar someramente las características esenciales de los grupos citados y sus principales propiedades.

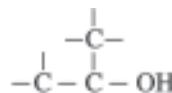
Grupo hidroxilo

Los compuestos que poseen este grupo (OH) se conocen como alcoholes. Los alcoholes se clasifican en primarios, secundarios o terciarios, en dependencia del tipo de átomo de carbono al que se encuentran unidos.

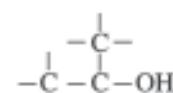
En forma abreviada se representan R-OH. Se nombran al añadir el sufijo *ol* al nombre del hidrocarburo correspondiente. En las estructuras de alcoholes primarios, secundarios y terciarios que se muestran a continuación, se omiten los H que completan la valencia de los átomos de carbono para simplificar su estructura.



Alcohol primario

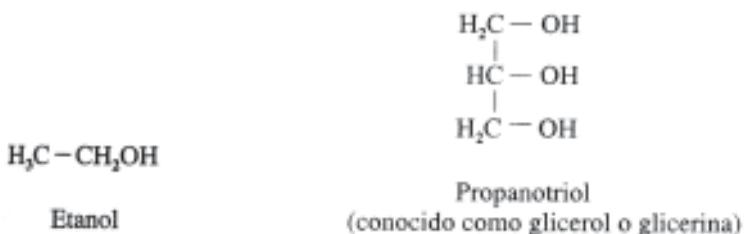


Alcohol secundario



Alcohol terciario

Son ejemplos de alcoholes el etanol y el glicerol.



El alcohol primario puede oxidarse y convertirse en aldehído y el secundario en cetona, como se verá más adelante. Además, este grupo puede reaccionar con diferentes grupos y formar diversos enlaces, lo cual será tratado al estudiar las agrupaciones derivadas. El grupo OH se encuentra en varios tipos de biomoléculas, como en azúcares y aminoácidos, entre otras.

Grupo carbonilo

La función carbonilo (-CHO) puede ser: aldehído, si esta función se encuentra en un carbono primario, y cetona si ocurre en un carbono secundario.

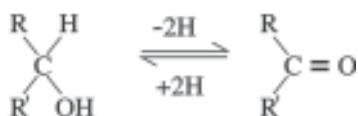
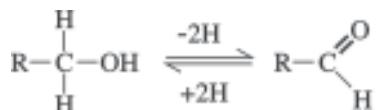


Los aldehídos se nombran por la adición del sufijo *al*, a la denominación del hidrocarburo correspondiente, y si se trata de una cetona se le adiciona el sufijo *ona*.



Los monosacáridos y sus derivados son biomoléculas que poseen en su estructura un grupo aldehído o cetona.

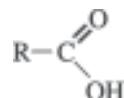
La oxidación de un alcohol primario da lugar a un aldehído y la de uno secundario a una cetona.



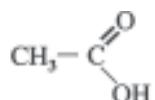
Grupo carboxilo

El grupo carboxilo caracteriza a los ácidos orgánicos. Su estructura se representa como COOH, de manera abreviada.

Su nomenclatura sistemática se obtiene por la adición del sufijo *oico* al nombre del hidrocarburo correspondiente, aunque frecuentemente se le conoce por su nombre trivial.



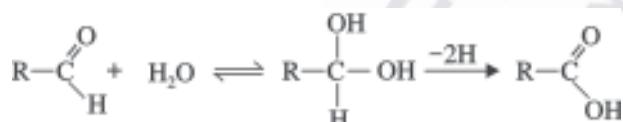
El grupo carboxilo está compuesto por un grupo carbonilo y uno hidroxilo.



Etanoico
(conocido como ácido acético)

El grupo carboxilo se encuentra en los aminoácidos y ácidos grasos, entre otras biomoléculas, y le confiere carácter ácido a aquellos compuestos que lo contienen; además, interviene en numerosas reacciones y en la formación de diversos enlaces e interacciones, como se verá más adelante.

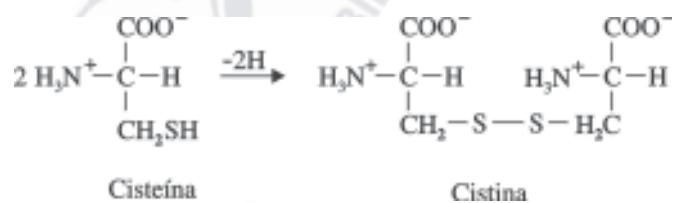
La oxidación de un aldehído da lugar a la formación de un ácido carboxílico.



Grupo sulfidrilo

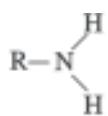
El grupo sulfidrilo, conocido también como mercaptán o tiol (SH), se encuentra en algunas biomoléculas como aminoácidos y ciertas vitaminas, entre otras. Algunas de sus reacciones resultan parecidas a las del grupo OH .

Dos grupos SH pueden reaccionar entre sí y perder H para formar un enlace disulfuro o ditio (S-S). Este enlace es importante en la estructura tridimensional de las proteínas y se forma entre dos aminoácidos que contienen el grupo SH .

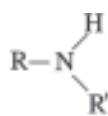


Grupo amino

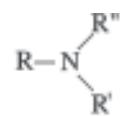
El grupo amino (NH_2) se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza y forma parte de diversas biomoléculas como en los aminoácidos, ácidos nucleicos, aminoazúcares, entre otras. En dependencia del número de sustituciones de los H del grupo amino, se está en presencia de una amina primaria, secundaria o terciaria.



Amina primaria



Amina secundaria

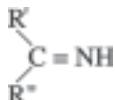


Amina terciaria

El grupo amino se comporta como una base porque el átomo de nitrógeno posee un orbital bielectrónico no compartido, que puede coordinarse con un H^+ para formar un amonio cuaternario; este último grupo se comporta como un ácido débil en solución.



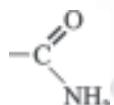
Por deshidrogenación de las aminas primarias se forman las iminas, que poseen un doble enlace entre el C y el N.



En algunas reacciones del metabolismo de los aminoácidos se forman compuestos intermedios que contienen este grupo funcional.

Amidas

Cuando el grupo OH de los ácidos carboxílicos es reemplazado por un grupo amino se origina una amida (CONH_2).



Este grupo se encuentra presente en algunos aminoácidos, vitaminas y otras muchas biomoléculas.

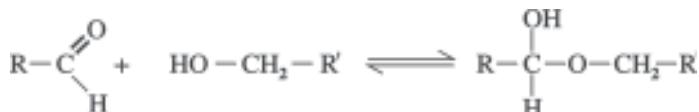
Agrupaciones atómicas derivadas

Los grupos químicos que acabamos de estudiar son capaces de reaccionar entre sí y originar nuevas agrupaciones moleculares, las cuales tienen mayor complejidad y presentan características propias.

Hemiacetales

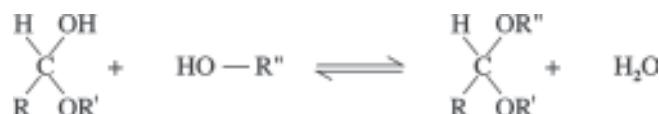
Los hemiacetales se forman al reaccionar un grupo carbonilo (aldehído o cetona) con un alcohol. En la formación de este enlace no se pierde ningún átomo, solo se produce una reorganización de estos, y como aspecto que se debe resaltar está el cambio de un doble enlace C=O a un enlace simple C-O.

Esta agrupación es muy importante en los monosacáridos, que al formarse un hemiacetal interno las moléculas forman un ciclo.



Acetales

Los acetales se forman al reaccionar un hemiacetal con un grupo OH. En la formación de este enlace se pierde una molécula de agua.



El enlace acetal se encuentra en algunos azúcares derivados y es el tipo de enlace que une los monosacáridos para originar oligosacáridos y polisacáridos, en estos casos se le conoce como enlace glicosídico.

Un compuesto que presenta un enlace hemiacetal puede reaccionar mediante dicha agrupación con un grupo amino (o imino) y origina así un enlace conocido como N-acetal. En el caso de que el hemiacetal forme parte de un monosacárido, el enlace constituido se conoce como N glicosídico y, como veremos en el capítulo 8, es el que une a las bases nitrogenadas con los monosacáridos en la formación de nucleósidos y nucleótidos.

Ésteres

Los enlaces de tipo ésteres se forman al reaccionar un ácido con un alcohol, con pérdida de una molécula de agua.

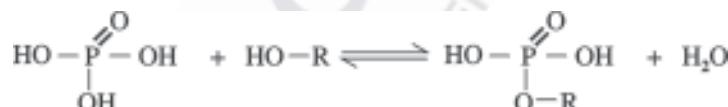
Estos enlaces se pueden formar entre ácidos y alcoholes distintos, lo cual da lugar a la formación de ésteres con algunas características diferentes. Nosotros analizaremos dos tipos de ésteres por su importancia en la constitución de las biomoléculas: los ésteres carboxílicos y los ésteres fosfóricos.

Ésteres carboxílicos. Se forman entre un grupo COOH y un alcohol.



Los ésteres carboxílicos pueden encontrarse en distintos tipos de biomoléculas, como los acilgliceroles y otros tipos de lípidos.

Ésteres fosfóricos. Se forman al reaccionar un ácido fosfórico y un alcohol, con pérdida de una molécula de agua.



Los monosacáridos reaccionan con el ácido fosfórico y forman diversos ésteres fosfóricos que tienen gran importancia en el destino metabólico de este tipo de biomolécula.

Es posible que un éster fosfórico, ya formado, reaccione con otro grupo OH para constituir un enlace fosfodiéster o diéster fosfórico, enlace que une a los nucleótidos para formar los ácidos nucleicos.



Enlace éter

Este enlace se forma al reaccionar dos grupos alcoholes con pérdida de una molécula de agua.

Se encuentra en un tipo de lípidos, los plasmalógenos.



Tioésteres

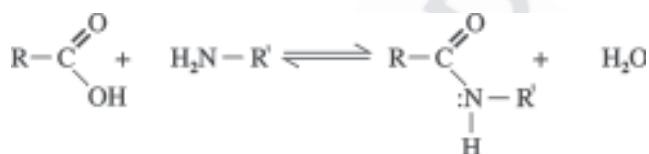
Los enlaces tioésteres, enlaces “ricos en energía” (liberan gran cantidad de energía libre al ser hidrolizados) se forman cuando reacciona un grupo carboxilo con un grupo SH, con pérdida de una molécula de agua.



Los derivados tioésteres de los ácidos orgánicos, y en particular de los ácidos grasos, son compuestos fundamentales de diversas vías metabólicas.

Enlace amida

Las amidas se forman al reaccionar un grupo carboxilo con uno amino, con pérdida de una molécula de agua.



Este enlace de tipo amida sustituida une a los aminoácidos para formar los péptidos y las proteínas, en estos casos se conoce como enlace peptídico; sus características y propiedades serán objeto de estudio con mayor detalle en el capítulo 6.

Anhídrido de ácido

El anhídrido de ácido se forma cuando reaccionan dos ácidos que pueden ser iguales o diferentes, con pérdida de una molécula de agua.

Utilizaremos como ejemplo el caso de la reacción de dos ácidos fosfóricos.



Estos enlaces son “ricos en energía”, se encuentran en los nucleótidos y su hidrólisis está relacionada con la liberación de energía útil para la célula. En otras ocasiones se forman anhídridos mixtos en los que intervienen dos grupos ácidos diferentes; también los anhídridos mixtos constituyen enlaces “ricos en energía”. No debe confundirse este enlace con el enlace éster fosfórico ni con el fosfodiéster.

Es frecuente que en las mismas biomoléculas se encuentre más de un grupo funcional, tal es el caso de los monosacáridos que contienen un grupo carbonilo y varios hidroxilos, o de los aminoácidos donde existen, al menos, un grupo amino y uno carboxilo. También es frecuente encontrar diversas agrupaciones derivadas en una misma biomolécula, un ejemplo de ello son algunos tipos de lípidos (fosfátidos de glicerina) en los que se encuentran enlaces de tipo éster carboxílico y éster fosfórico; o un nucleótido con enlaces N-glicosídicos, enlace éster fosfórico y del tipo de anhídrido de ácido. Todo ello contribuye a la inmensa diversidad de las biomoléculas.

La diversidad de estas moléculas también se incrementa por el hecho de que pueden existir en distintas formas isoméricas.

Isomería

Son isómeros aquellos compuestos que poseen la misma fórmula global, pero presentan propiedades distintas.

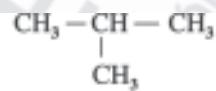
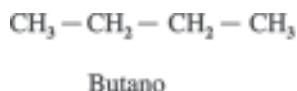
La isomería se debe a que la distribución de los átomos y el tipo de enlace que se establece entre ellos determinan las propiedades de las moléculas, y estas no pueden inferirse de su fórmula global; los isómeros se diferencian en su estructura o su configuración, o en ambas características; es por ello que la isomería se clasifica en estructural o planar y espacial o estereoisomería.

Isomería estructural

Se debe a diferencias en la estructura de los distintos isómeros y puede ser de tres tipos: cadena, posición y función.

Isomería de cadena

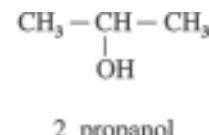
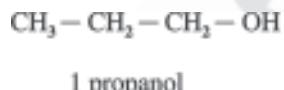
Este tipo de isomería estructural se debe a la distinta disposición que pueden adoptar los átomos de carbono en las cadenas carbonadas.



Isobutano (2 metil propano)

Isomería de posición

Esta variante de isomería estructural se debe a la existencia de compuestos, cuya única diferencia consiste en la posición que ocupa un determinado grupo funcional en la cadena.

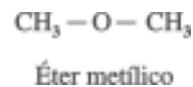
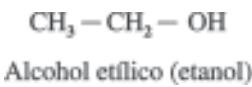


2 propanol

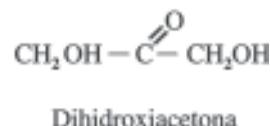
Isomería de función

Son isómeros de función aquellos que poseen grupos funcionales diferentes, a pesar de presentar una misma fórmula química.

Un ejemplo lo constituyen el alcohol etílico y el éter metílico, ambos con $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ como fórmula química.



El primer caso es un alcohol (etanol) y el segundo se trata de un éter. Otro ejemplo son el gliceraldehído (con una función aldehído) y la dihidroxiacetona (con una función cetona).



Isomería espacial

Este tipo de isomería está presente en aquellos compuestos que se diferencian en su configuración espacial. Esta isomería comprende dos grupos principales: isomería geométrica e isomería óptica.

Isomería geométrica

Cuando en una molécula están presentes dobles enlaces o anillos, los átomos involucrados en estas estructuras tienen algunas restricciones en los giros, la rotación de los átomos de carbono está limitada y por ende la posición de los grupos sustituyentes unidos a ellos queda fijada en el espacio, a uno u otro lado del anillo o doble enlace, por lo que se originan así los isómeros geométricos.

De esta manera, el buteno-2 puede existir en dos configuraciones geométricas.



Los grupos sustituyentes unidos a los átomos de carbono en el isómero cis se disponen hacia el mismo lado del doble enlace y hacia lados distintos en el isómero trans. Ambos tipos de isómeros se pueden encontrar en las biomoléculas como será estudiado oportunamente.

Isomería óptica

La isomería óptica se presenta en los compuestos que poseen algún centro de asimetría y se manifiesta por la capacidad que tienen estos isómeros de desviar el plano de vibración de la luz polarizada hacia la derecha o la izquierda.

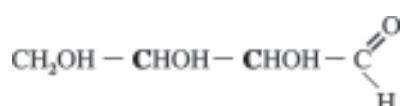
La actividad óptica se determina experimentalmente por medio de un equipo conocido como polarímetro.

El polarímetro (Fig. 5.8) en esencia consta de una fuente de luz monocromática, dos lentes polaroides (o prismas de Nicol), que actúan uno como polarizador y el otro como analizador, y un tubo de vidrio en el cual se coloca la solución de la sustancia que se debe analizar. Si la sustancia colocada en el tubo desvía el plano de la luz polarizada hacia la derecha, se dice que es dextrógira y se representa con el signo (+); si lo desvía hacia la izquierda será levógira y se representará con el signo (-). La magnitud de la desviación se mide por el ángulo α , que será el ángulo de giro necesario que debe realizar el analizador para restablecer la intensidad de luz al máximo, es decir corregir la desviación de la luz polarizada, provocada por la sustancia ópticamente activa colocada en el tubo.

El centro de asimetría que es causa de la actividad óptica se explica por las moléculas que carecen de planos o centros de simetría, y su configuración es tal, que no pueden superponerse. La figura 5.9 representa la disposición espacial de los isómeros ópticos del ácido láctico.

La causa más frecuente de asimetría en las biomoléculas es la presencia de los carbonos quirales o carbonos asimétricos, es decir aquellos carbonos cuyas cuatro valencias están sustituidas por grupos diferentes.

La cantidad de isómeros ópticos de una molécula se puede calcular según 2, donde n es igual al número de carbonos asimétricos presentes. Analicemos esta posibilidad para el caso del monosacárido de cuatro átomos de carbono, cuya estructura es la siguiente:



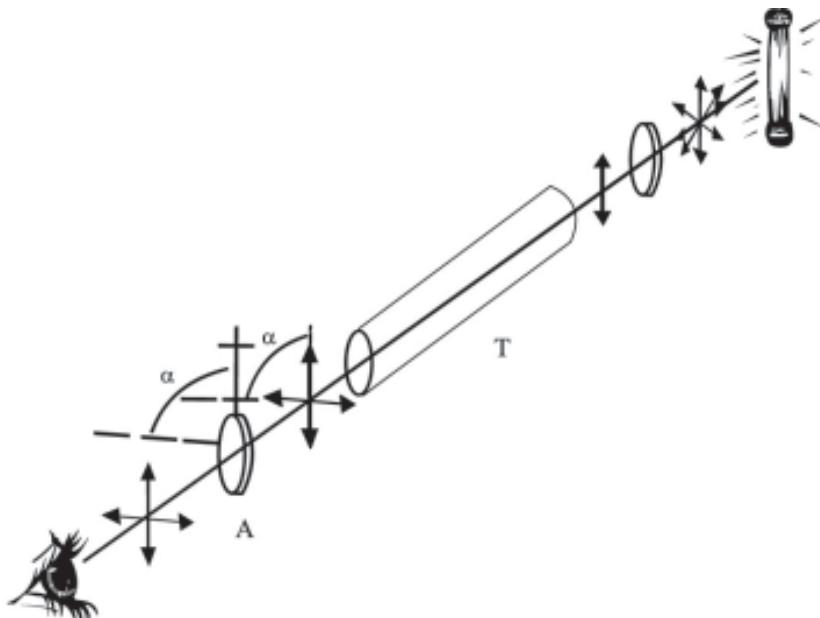


Fig. 5.8. El polarímetro. Partes de la que consta un polarímetro: prisma polarizador, prisma analizador, el ocular, la escala angular, la fuente de luz monocromática y el tubo donde se coloca la solución que se debe analizar .

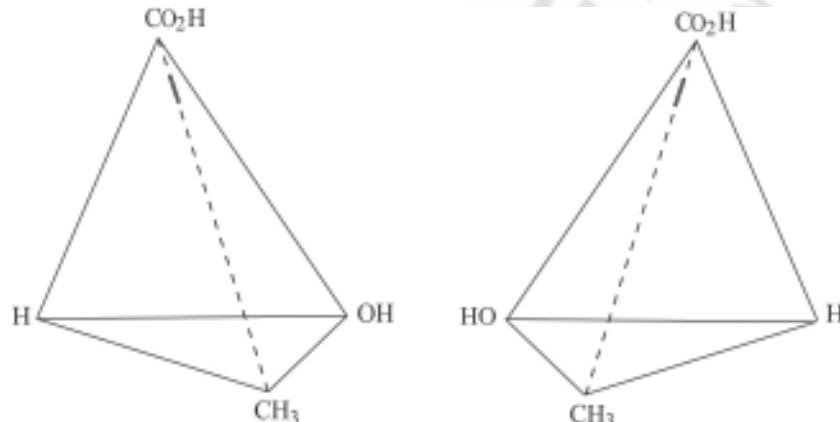
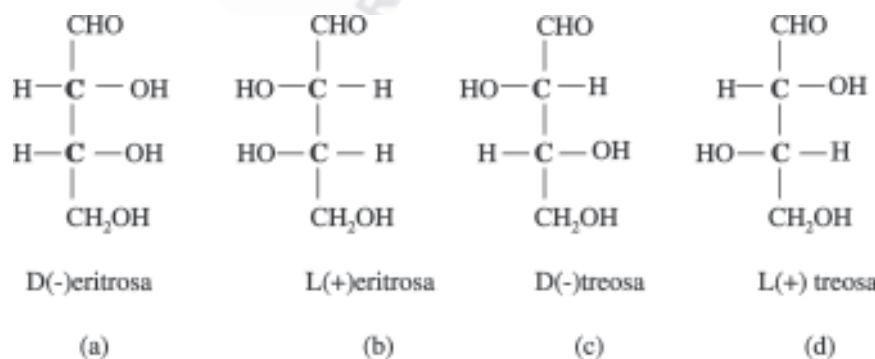


Fig. 5.9. Fórmulas espaciales de los isómeros ópticos del ácido láctico.

Esta molécula presenta dos carbonos asimétricos que son aquellos marcados en negrita, si se aplica la fórmula, podemos deducir que existirán 2=4 isómeros ópticos:



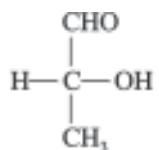
Las cuatro especies: a, b, c y d, son isómeros ópticos, es decir, son estereoisómeros entre sí; además, (a) con respecto a (b), y (c) con respecto a (d) son enantiómeros o antípodas ópticos, por ser una la imagen ante el espejo de la otra; (a) en relación con (c)

y (d), y en general cada especie en relación con aquellas que no son sus enantiómeros, son diastereoisómeros. Los isómeros ópticos que solo se diferencian en la disposición de un grupo y son idénticos con respecto a todos los demás, se conocen como epímeros. Para el caso que nos ocupa, las formas (a) y (b) son epímeros con respecto a (c) y (d); (c) y (d) lo son con respecto a la (a) y (b).

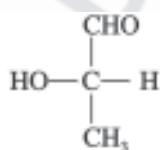
Los enantiómeros no difieren en sus propiedades físicas ni químicas con excepción de su actividad óptica, pero sus propiedades biológicas pueden variar mucho. Los diatereoísmicos se diferencian, además de su actividad óptica, en la mayoría de sus propiedades físicas y biológicas, así como en determinadas propiedades químicas.

La mezcla equimolecular de los enantiómeros se denomina mezcla racémica y no presenta actividad óptica.

Series estéricas D y L. Utilizando al gliceraldehído como molécula de referencia, se han establecido las series estéricas D y L. Para ello se representa al gliceraldehído con el grupo aldehído hacia arriba, el OH del gliceraldehído dextrógiro hacia la derecha y se le asigna la serie D; el OH del gliceraldehído levógiro hacia la izquierda y se le asigna la serie L.

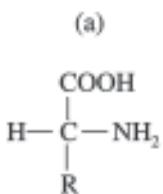


D gliceraldehído

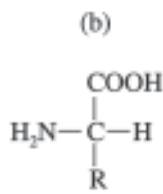


L gliceraldehido

Al comparar la disposición de determinados grupos funcionales, unidos a carbonos asimétricos de los isómeros ópticos de diversos compuestos, con la del OH de cada gliceraldehído, se establece la serie L o D de dicho compuesto. Para el caso de los aminoácidos, el grupo que se debe comparar es el α -amino, cuando el aminoácido se representa con su grupo α -carboxilo hacia arriba, que coincide con el grupo aldehído del gliceraldehído. El aminoácido representado en (a) es un D aminoácido, ya que su grupo α -amino se dispone hacia el mismo lado del OH del D gliceraldehído, en tanto, que el aminoácido representado en (b) es un L aminoácido, pues su grupo α -amino está ubicado hacia el mismo lado que el OH en el L gliceraldehido.



D aminoácido



L aminoácido

El poder rotatorio real de un compuesto determinado por el polarímetro no tiene que corresponder con la serie D o L a que este pertenezca. El aminoácido L glutámico es dextrógiro, mientras que la L leucina es levógiro; la D glucosa es dextrógiro y la D fructosa es levógiro. Recuérdese que la rotación específica se determina experimentalmente en un polarímetro, mientras que la serie se determina por la comparación del compuesto en cuestión, con una molécula de referencia, el gliceraldehido.

Conformaciones distintas de las moléculas

A las distintas disposiciones que pueden adoptar los átomos en una molécula, como consecuencia de rotaciones de uno o más enlaces simples, se les conoce como conformaciones y no deben confundirse con los isómeros. Las rotaciones que pueden efectuarse en un enlace simple están restringidas por el tamaño y la carga eléctrica de los átomos unidos al carbono. Un ejemplo de las distintas conformaciones se puede apreciar para el caso del etano, molécula que puede existir en dos conformaciones (escalonada o eclipsada), aunque la primera es más estable. Las diferentes conformaciones de una molécula representan simplemente posiciones que adoptan los átomos, al rotar sobre un enlace simple y porque las barreras energéticas son muy bajas; no constituyen sustancias diferentes y pueden ser aislables (Fig. 5.10).

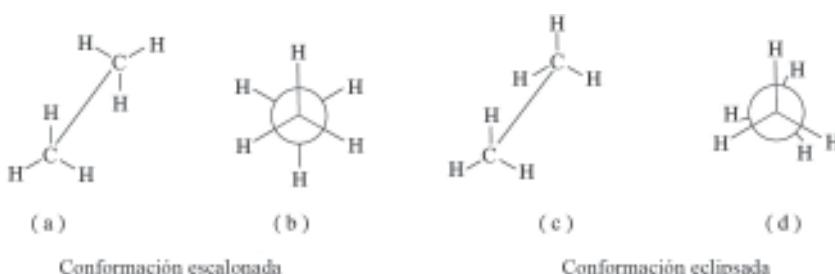


Fig. 5.10. Confórmeros distintos en el etano.

Las biomoléculas se encuentran en los distintos fluidos biológicos formando sistemas dispersos. Dedicaremos nuestra atención a definir qué es un sistema disperso y establecer su clasificación y principales características.

Sistemas dispersos

Un sistema disperso es aquel en el cual uno de sus componentes se encuentra finalmente distribuido en el seno de otro. En un sistema disperso se conocen dos fases: la fase discontinua, es la que se encuentra distribuida en la fase dispersante, y esta última, es decir, la fase dispersante es continua y la más abundante, en la cual se distribuye la fase dispersa.

Las fases de un sistema disperso pueden estar en cualquier estado físico: sólido, líquido o gaseoso.

Atendiendo al tamaño de las partículas dispersas, los sistemas dispersos se clasifican en dispersiones groseras, disoluciones coloidales y disoluciones verdaderas.

En las dispersiones groseras las partículas de la fase dispersa miden más de 100 nm de diámetro. La arena fina en agua constituye un ejemplo de estos sistemas en la materia inorgánica, y los glóbulos rojos en la sangre son un buen ejemplo en los organismos vivos.

En las disoluciones coloidales el tamaño de las partículas dispersas varía entre 1 y 100 nm, como ejemplo podemos citar las disoluciones de las proteínas en el plasma sanguíneo.

Por último, en las disoluciones verdaderas el tamaño de las partículas es menor que 1 nm, son homogéneas y conforman una única fase. El azúcar (sacarosa) en agua, o la sal (cloruro de sodio) en agua son ejemplos de este caso.

Las disoluciones se caracterizan por la naturaleza de soluto y solvente y por su concentración. La concentración de las soluciones puede expresarse de formas variadas.

Formas de expresar la concentración

La concentración de una disolución está dada por la cantidad de soluto disuelto en una determinada cantidad de disolvente o de la disolución. Revisaremos las formas más empleadas para expresar la concentración de las biomoléculas, aunque debe aclararse que existen muchas más.

En por ciento. La concentración en por ciento tiene variantes en dependencia del empleo del peso o el volumen:

1. Por ciento: volumen en volumen (v/v). Expresa la cantidad de soluto medida en unidades de volumen (mL), en 100 mL de disolución.
2. Por ciento: peso en volumen (p/v). Expresa la cantidad de soluto medida por su peso (en gramos), disueltos en 100 mL de disolución.
3. Por ciento: peso en peso (p/p). Expresa la cantidad de gramos de solutos disueltos en 100 g de la disolución.

Unidades químicas

Soluciones molares. Se expresan por el número de moles del soluto en 1 L de disolución. Es frecuente encontrar variantes de este tipo de expresión de la concentración: $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$; $\mu\text{m} \cdot \text{L}^{-1}$, entre otras.

Soluciones molales. Se expresan por el número de moles del soluto en 1 kg del disolvente.

Soluciones normales. Se expresan por el número de equivalentes gramos del soluto en 1 L de disolución. Se debe recordar que un equivalente gramo es la cantidad de una sustancia (en gramos) que desplaza un átomo gramo de hidrógeno en una reacción específica. Para fines prácticos puede calcularse, dividiendo el peso molecular de la sustancia entre su valencia en la reacción que se analiza. Para el ácido clorhídrico (HCl) un equivalente gramo será igual a su peso molecular dividido entre uno, y en este caso coincide con el valor de la concentración expresada como molaridad. Sin embargo, para el caso del ácido sulfúrico (SO_4H_2), un equivalente gramo será igual a su peso molecular dividido entre ds , lo que resulta diferente a la concentración expresada como molaridad.

En ocasiones la concentración se expresa de forma directa por las unidades de masa del disolvente en un volumen determinado de la disolución, por ejemplo: gL^{-1} ; $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, etcétera.

Resumen

Las biomoléculas son las moléculas específicas de los seres vivos; en su estructura predominan los átomos de C, H, O y N, y en menor medida el P y S, entre otros. El agua es el disolvente universal en la materia viva y ello se debe a las propiedades de esta molécula que por constituir un dipolo resulta un magnífico disolvente para la mayoría de las biomoléculas. El agua pura tiene un pH neutro y en estas condiciones las concentraciones del ion H^+ es igual a la del ion OH^- , si predomina la $[\text{H}^+]$ el pH es ácido y si predomina la $[\text{OH}]$ el pH es alcalino. Un ácido es una sustancia capaz de ceder protones y una base es aquella que los capta, aunque es frecuente que el comportamiento ácido o básico de una sustancia dependa del pH del medio en que se encuentre. Las mezclas de un ácido o una base con su sal originan los *buffers* o *tampones*, cuya función es preservar el pH del medio; la reserva alcalina defiende al medio contra la adición de ácidos, mientras que la reserva ácida lo hace contra la de álcalis. La ecuación de Henderson-Hasselbach es la ecuación de los *buffers*, y de ella se desprende que un *buffer* es eficiente a valores de pH iguales al pK del ácido ± 1 .

Los átomos de carbono se unen entre sí y con átomos de hidrógeno para formar los hidrocarburos, que pueden ser saturados o insaturados, lineales o ramificados y alifáticos

o cíclicos, estos últimos pueden ser alicíclicos o aromáticos; si los anillos están formados por átomos diferentes se les conoce como heterociclos. Los hidrocarburos saturados son los alkanos, los insaturados pueden presentar un doble enlace (alquenos) o un triple enlace (alquinos). Las cadenas hidrocarbonadas saturadas o insaturadas constituyen la estructura básica de las biomoléculas que tiene además diversos grupos funcionales.

Los grupos funcionales más frecuentes en las biomoléculas son el hidroxilo (OH), primario, secundario o terciario; el carbonilo (CO), aldehído o cetona; el carboxilo (COOH), grupo que confiere carácter ácido a las biomoléculas que los presentan; el grupo amino (NH_2), básico que puede formar aminas primarias, secundarias o terciarias, y el grupo sulfidrilo (SH). Estos grupos al reaccionar entre sí forman agrupaciones derivadas, las cuales son también de gran importancia en las biomoléculas. Al reaccionar los ácidos con los alcoholes originan los ésteres, estos pueden ser carboxílicos o fosfóricos (en dependencia del ácido involucrado); los carbonilos con los alcoholes pueden originar hemiacetales y acetales. Los carboxilos con los aminos forman el enlace amida; un grupo sulfidrilo y un ácido carboxílico dan origen a los tioésteres, y si los que reaccionan son dos grupos ácidos, se forman los anhídridos de ácidos. Es frecuente encontrar en una misma biomolécula varios grupos funcionales distintos, así como diferentes agrupaciones derivadas.

A la gran diversidad que presentan las biomoléculas contribuye también la existencia de isómeros diferentes. Los isómeros son compuestos que presentan la misma fórmula química global pero tienen propiedades diferentes, ya que pueden presentar estructura distinta (isomería estructural) o diferente configuración espacial (estereoisomería). La isomería estructural a su vez puede ser de cadena, de posición o de función, y la estereoisomería puede ser geométrica u óptica. La isomería óptica se debe a la presencia de carbonos quirales o asimétricos y las moléculas pueden ser dextrógiros o levógiros, en dependencia de que desvíen el plano de luz polarizada a la derecha o a la izquierda. Los isómeros ópticos pueden pertenecer a las series estéricas D o L, para ello se compara la disposición de determinado grupo funcional con la disposición del OH del D y del L gliceraldehído, y como consecuencia se determina su serie D o L.

Las biomoléculas se encuentran en los distintos fluidos biológicos formando sistemas dispersos. Los sistemas dispersos pueden ser de tres tipos, de acuerdo con el tamaño de las partículas dispersas (fase dispersa) en el medio de dispersión (fase dispersante): suspensiones groseras (hematíes en la sangre), disoluciones coloidales (proteínas en el plasma) o disoluciones verdaderas (sacarosa en agua); estas últimas son homogéneas.

La concentración de las disoluciones se puede expresar de formas diversas: por ciento, utilizando unidades químicas (molares, molales o normales) y de otras formas en dependencia del tipo de moléculas y los propósitos que se persigan.

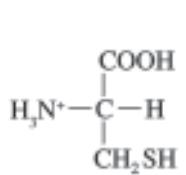
Ejercicios

1. ¿Cómo se nombran las moléculas específicas de los seres vivos?
2. ¿Cuál es el componente más abundante en los seres vivos?
3. Mencione las propiedades que hacen del agua el solvente fundamental de los fluidos biológicos.
4. ¿Cuáles son los átomos más abundantes en las biomoléculas?
5. Compare el enlace iónico con el covalente en cuanto a características de los átomos que intervienen, participación de los electrones de valencia y propiedades fundamentales de los compuestos que presentan dichos enlaces.
6. Compare el enlace covalente de la molécula de hidrógeno con la de agua en cuanto a su polaridad.
7. ¿Qué son los hidrocarburos y cómo se clasifican?

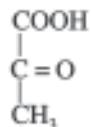
8. ¿Qué caracteriza a los enlaces simples, a los dobles y a los triples? Refiérase al tipo de hibridación de los carbonos, a la disposición de los orbitales p, ángulos de enlace y tipo de enlace (π o σ).

9. Enumere los principales grupos funcionales presentes en las biomoléculas.

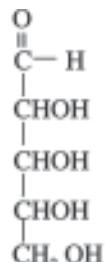
10. Identifique los grupos funcionales en las siguientes biomoléculas:



Cisteína

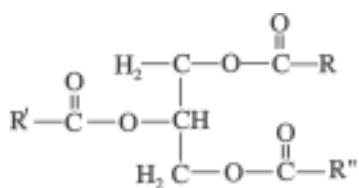


Pirúvico

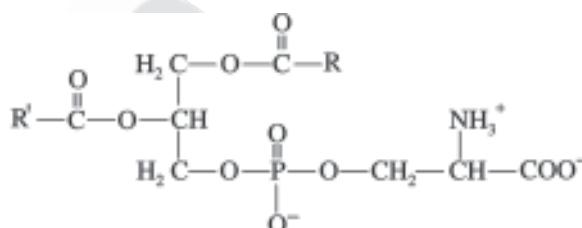


Ribosa

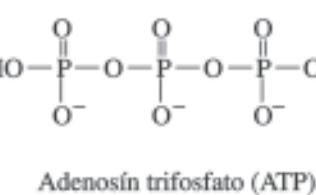
11. Identifique las agrupaciones derivadas en las biomoléculas siguientes:



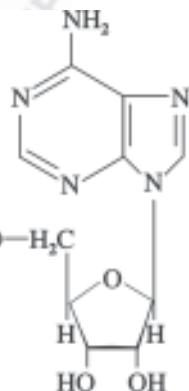
Triacilglicerol



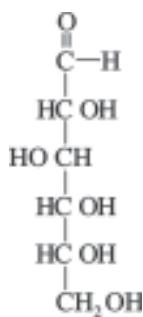
Fosfátido de glicerina
(fosfatidil serina)



Adenosín trifosfato (ATP)

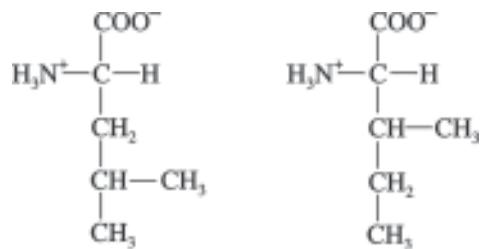


12. Forme un hemiacetal interno en la molécula de glucosa entre el grupo carbonilo y el OH del carbono número 5.



D glucosa

13. ¿Qué tipo de isomería existe entre los aminoácidos leucina e isoleucina?



Leucina

Isoleucina

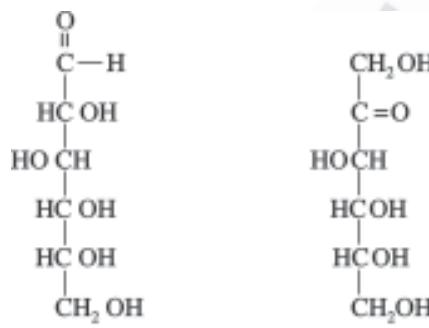
14. ¿Qué tipo de isomería existe entre los ácidos cítrico e isocítrico?



Ácido cítrico

Ácido isocítrico

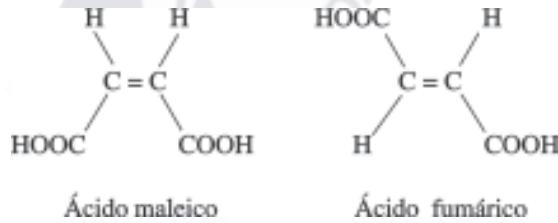
15. ¿Qué tipo de isomería existe entre la glucosa y la fructuosa?



D glucosa

D fructuosa

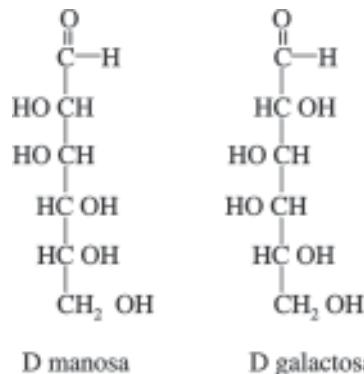
16. ¿Qué tipo de isomería existe entre los ácidos fumárico y maleico?



Ácido maleico

Ácido fumárico

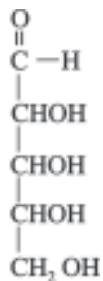
17. ¿Qué tipo de isomería existe entre la manosa y la galactosa?



D manosa

D galactosa

18. Observe la estructura del compuesto que se presenta a continuación y señale los carbonos asimétricos, calcule el número de estereoisómeros y escriba las estructuras de todos los isómeros ópticos posibles, indicando cuáles son enantiomorfos y cuáles diatereoisómeros.



Ribosa

19. Entre los isómeros incluidos en el ejercicio anterior ¿Puede encontrar dos que sean epímeros entre sí?
20. Calcule la concentración de una solución de glucosa que contenga 2 g en 1 000 mL de disolución:
- En por ciento p/v.
 - En concentración molar.
21. Calcule los gramos de glucosa en 1 000 mL de una disolución 4,5 mmolar
22. ¿Cuántos gramos de ácido sulfúrico se requieren para preparar 100 mL de una solución 0,5 normal?
23. ¿Cuántos gramos de sodio hay en 1 L de una solución cuya concentración es de 138 mEq.L⁻¹?

Aminoácidos

Los aminoácidos constituyen las unidades estructurales de las proteínas. Estas son las macromoléculas con mayor grado de variabilidad estructural, que desempeñan las funciones más diversas; muchas son enzimas, otras intervienen en el transporte de diferentes sustancias y constituyen los receptores de diversos ligandos, algunas forman los anticuerpos, varias son hormonas. Estos biopolímeros cumplen además muchas otras funciones disímiles.

La diversidad estructural y funcional viene dada por la variabilidad en la composición y disposición de sus monómeros constituyentes o precursores: los aminoácidos. Son 20 los aminoácidos que constituyen las unidades estructurales de los péptidos y las proteínas; estos poseen algunas regularidades estructurales que son comunes a la inmensa mayoría, pero presentan otras que diferencian a un aminoácido de otro.

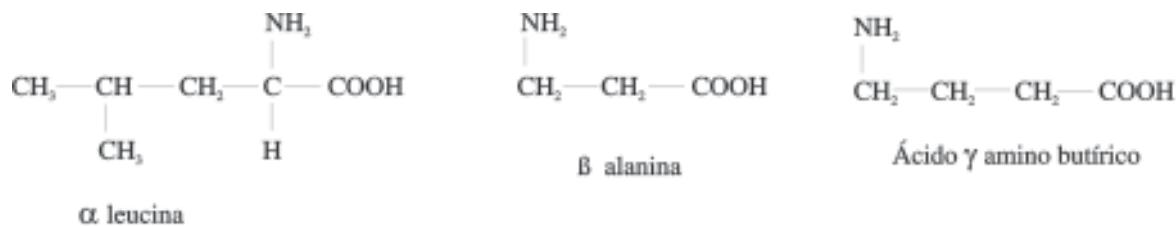
En este capítulo trataremos el estudio de los aminoácidos, tanto desde el punto de vista estructural como funcional y estudiaremos algunas de las principales propiedades de estas biomoléculas; también conoceremos cómo se unen para formar los péptidos y las proteínas, haciendo énfasis en las características de dicho enlace.

Concepto y características generales

Los aminoácidos pueden existir libres en los tejidos animales y vegetales, pero en su mayoría se encuentran formando parte de los péptidos y las proteínas.

Estos compuestos constituyen ácidos orgánicos en los cuales, al menos un hidrógeno, ha sido sustituido por un grupo amino.

De acuerdo con el carbono al cual se une el grupo amino, estos aminoácidos se clasifican como α , β , γ , δ , ϵ , etcétera.

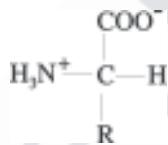


Los aminoácidos cumplen diversas funciones:

1. Son precursores de las proteínas.
2. Forman parte de vitaminas, por ejemplo, la α -alanina forma parte del ácido pantoténico, vitamina del complejo B.
3. Constituyen por descarboxilación las aminas biogénas, compuestos que cumplen funciones importantes y a su vez pueden formar parte de otras biomoléculas, por ejemplo, la etanolamina que se forma por descarboxilación de la serina y es parte integral de algunos lípidos, la serotonina (producto de descarboxilación de un derivado del triptófano) que es un poderoso vasoconstrictor.
4. Son precursores en la síntesis de algunas hormonas, por ejemplo, la tiroxina, hormona secretada por la glándula tiroides, que se forma a partir del aminoácido tirosina; la adrenalina y noradrenalina se forman también a partir de la tirosina.
5. Constituyen neurotransmisores muchos de ellos, como la glicina.
6. Son aminoácidos algunos antibióticos, un ejemplo es el cloramfenicol.
7. Algunos son metabolitos intermedios de importantes vías metabólicas, por ejemplo, la ornitina y la citrulina en el ciclo de la urea.

A pesar de las numerosas y variadas funciones que desempeñan los aminoácidos, la más importante de todas es, sin duda alguna, constituir los precursores de los péptidos y las proteínas.

Los aminoácidos que se encuentran formando las proteínas son todos alfa aminoácidos, con la excepción de la prolina y su derivado, la hidroxiprolina. La estructura general de los alfa aminoácidos es la siguiente:



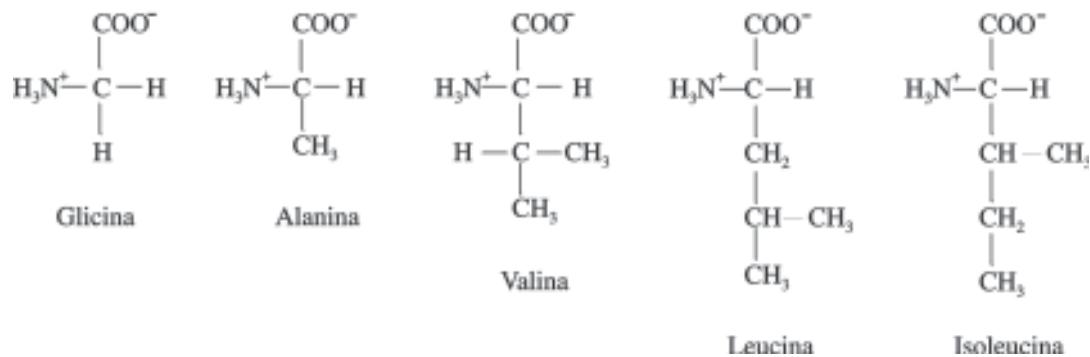
donde R representa un residuo que diferencia a un aminoácido de otro, que posee naturaleza química variada. R puede ser una cadena alifática, presentar anillos aromáticos, heterociclos o tener distintos grupos químicos, como OH, SH, NH₂, COOH y CONH₂. El grupo carboxilo suele representarse disociado (con carga negativa) y el amino sin disociar (con carga positiva), ya que esta forma es la que predomina a pH fisiológico.

Estructura de los aminoácidos que constituyen las proteínas

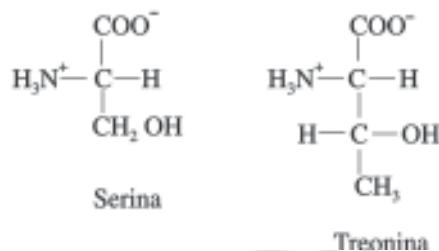
Para proceder al estudio de estos aminoácidos los ordenaremos de acuerdo con las características estructurales de la cadena lateral en R:

1. Aminoácidos con cadena alifática en su cadena lateral en R. En este grupo se incluyen aquellos que poseen solo una cadena hidrocarbonada en R y los que presentan además un grupo OH o que contienen azufre:

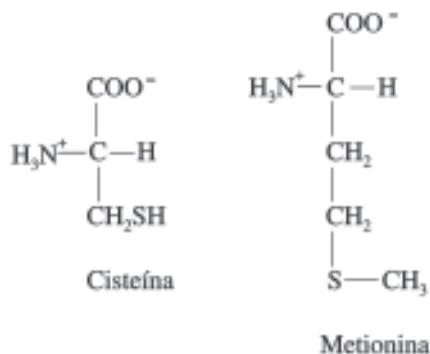
a) Aminoácidos con cadena hidrocarbonada en R:



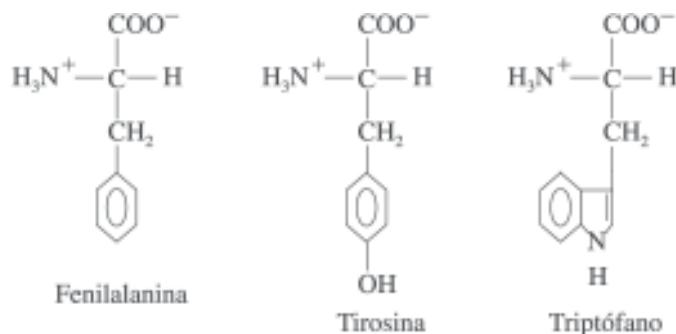
b) Aminoácidos con grupos hidroxilos (OH) en R:



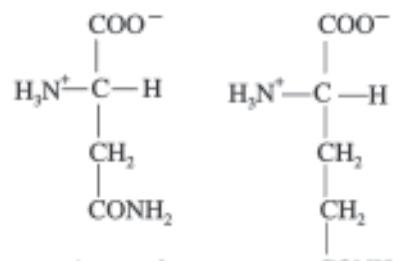
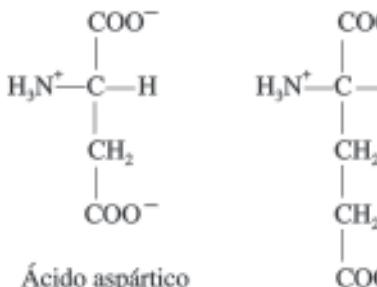
c) Aminoácidos que contienen átomos de azufre (S) en R:



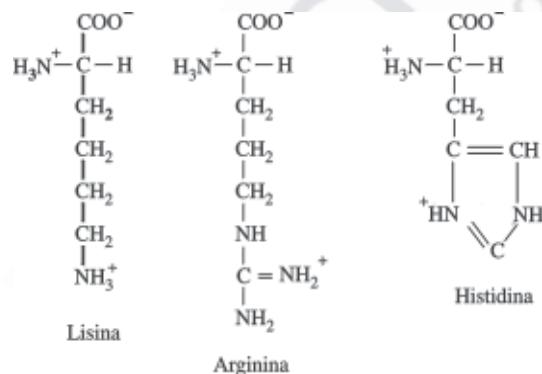
2. Aminoácidos con un anillo aromático en R. En este grupo se incluyen los aminoácidos que presentan el anillo benceno, el fenol y el indol:



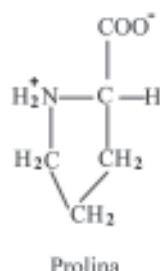
3. Aminoácidos con un grupo carboxilo (COOH) o amida (CONH₂) en R:



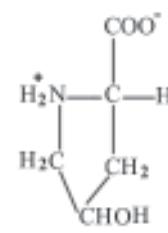
4. Aminoácidos con grupos básicos: (NH₂), guanidino o anillo imidazol en R:



5. Aminoácidos cíclicos. En este grupo se incluyen al aminoácido prolina y su derivado, la hidroxiprolina:



Prolina



Hidroxiprolina

En la tabla 6.1 se muestra el nombre abreviado y el símbolo (letra) que identifican a cada uno de los 20 aminoácidos que constituyen los precursores de las proteínas.

Tabla 6.1. *Nombre completo, abreviatura y símbolo para identificar los aminoácidos*

Nombre	Abreviatura	Símbolo de una letra
Alanina	ala	A
Arginina	arg	R
Ácido aspártico	asp	D
Asparagina	asN	N
Cisteína	cis	C
Ácido glutámico	glu	E
Glicina	gli	G
Glutamina	glN	Q
Histidina	his	H
Isoleucina	ile	I
Leucina	leu	L
Lisina	lis	K
Metionina	met	M
Fenilalanina	fen	F
Prolina	pro	P
Serina	ser	S
Treonina	tre	T
Triptófano	tri	W
Tirosina	tir	Y
Valina	val	V

Clasificación de los aminoácidos

Es posible clasificar los aminoácidos sobre la base de distintos criterios, de acuerdo con el objetivo que se persiga. En el acápite anterior realizamos una clasificación para el estudio de sus estructuras particulares; el criterio que se seleccionó fueron las características estructurales de sus cadenas laterales. Por el interés que tiene para la comprensión de la estructura y las propiedades de péptidos y proteínas seleccionaremos otros dos criterios para su clasificación:

1. El número de grupos carboxilos y aminos (u otra agrupación básica) presentes en el aminoácido, de lo cual derivará el carácter ácido-básico de sus disoluciones. Sobre este criterio los aminoácidos se clasificarán en **neutros** (monoamino-monocarboxílicos), **ácidos** (monoaminodicarboxílicos) y **básicos** (diaminomonocarboxílicos) (Tabla 6.2). Se puede apreciar de manera fácil que los aminoácidos ácidos son dos (glutámico y aspártico), básicos son tres (lisina, arginina e histidina), el resto son aminoácidos neutros.
2. La presencia o no de grupos químicos polares en su cadena lateral RA partir de este criterio los aminoácidos se clasifican en apolares, si no poseen ningún grupo polar en R, y polares, si tienen algún grupo polar en R. Los polares a su vez se subclasican en polares iónicos, si a valores de pH fisiológico adquieren carga eléctrica apreciable, y polares poco iónicos, si a valores de pH fisiológico no adquieren carga eléctrica apreciable. La tabla 6.3 muestra la ubicación de cada aminoácido de acuerdo con este fundamento de clasificación. Se puede observar que los polares iónicos son precisamente los dos aminoácidos ácidos y los tres básicos, según el criterio precedente de clasificación; son polares poco iónicos aquellos aminoácidos que presentan en R

alguno de los grupos siguientes: hidroxilo (OH), sulfidrilo (SH), amida (CONH_2) o el anillo indol; el resto de los aminoácidos son apolares.

Tabla 6.2. Clasificación de los aminoácidos según número de grupos carboxilos y aminos en la molécula

Neutros	Ácidos	Básicos
Glicina	Cisteína	Ácido glutámico
Alanina	Metionina	Ácido aspártico
Valina	Fenilalanina	Histidina
Leucina	Tirosina	
Isoleucina	Triptófano	
Asparagina	Prolina	
Glutamina	Treonina	
Serina		

Tabla 6.3. Clasificación de los aminoácidos según la polaridad de sus grupos en R

Polares	Apolares
Iónicos	Poco iónicos
Ácido aspártico	Serina
Ácido glutámico	Treonina
Lisina	Tirosina
Arginina	Cisteína
Histidina	Asparagina
	Glutamina
	Triptófano
	Glicina
	Alanina
	Valina
	Leucina
	Isoleucina
	Metionina
	Fenilalanina
	Prolina

Propiedades físicas de los aminoácidos

Los aminoácidos son sustancias cristalinas, casi siempre solubles en agua y en soluciones ácidas o básicas diluidas, e insolubles o muy poco solubles en alcohol y totalmente insolubles en éter. Sin embargo, alguno de ellos se comporta de forma contraria, como la cisteína, que es poco soluble en agua y la prolina, la cual es soluble en alcohol y éter. Los aminoácidos poseen un elevado punto de fusión que casi siempre sobrepasa los 200°C y en algunos casos los 300 °C. Es frecuente que con valores por encima de estas temperaturas los aminoácidos se descompongan, por lo que no resulta útil su separación por destilación fraccionada.

Propiedades ópticas de los aminoácidos. Series estéricas L y D

Con excepción de la glicina todos los aminoácidos presentan actividad óptica, son capaces de desviar el plano de vibración de la luz polarizada (capítulo 5). La actividad óptica de los aminoácidos se debe a que, al menos, el carbono α de estos compuestos (excepto la glicina) está sustituido de forma asimétrica con cuatro grupos químicos diferentes.

Por comparación con el gliceraldehído respecto a la configuración espacial de su grupo α -amino, los aminoácidos se clasifican en dos series estéricas: L y D (capítulo 5). A la serie L pertenecen aquellos aminoácidos cuyo grupo α NH₂ está orientado hacia el

mismo lado que el OH del L gliceraldehido. Si el α NH₂ está orientado hacia el mismo lado que el OH del D gliceraldehido, el aminoácido será de la serie D.

Como regla general los aminoácidos naturales pertenecen a la serie L, lo que se cumple particularmente para los aminoácidos que forman las proteínas. Sin embargo, en algunos péptidos naturales se encuentran como excepción aminoácidos de la serie D, un ejemplo lo constituye la presencia de la D fenilalanina en sustancias antibióticas como los péptidos gramicidina y tirocidina.

Por convención se acostumbra a colocar en la fórmula en proyección el grupo α -amino de los L aminoácidos hacia la izquierda del grupo α -carboxilo, cuando este último se haya colocado hacia arriba y el α -amino de los L aminoácidos hacia arriba, cuando el grupo α -carboxilo se dispone hacia la derecha.

Los aminoácidos pueden constituir mezclas racémicas, las cuales no son más que disoluciones equimoleculares de las series L y D, las que no presentan actividad óptica. Para identificar una mezcla racémica se le anteponen las letras DL al nombre del aminoácido, por ejemplo, DL tirosina. En la tabla 6.4 se presentan los valores de rotación específica (sentido y magnitud de la actividad óptica) de algunos aminoácidos.

Tabla 6.4. Rotación específica de las disoluciones acuosas de algunos L aminoácidos

Aminoácido	Rotación específica
L-Alanina	+1,8°
L-Arginina	+12,5°
L-Leucina	-11,0°
L-Fenilalanina	-34,5°
Ácido L-Glutámico	+12,0°
L-Histidina	-38,5°
L-Metionina	-10,0°
L-Lisina	+13,5°
L-Serina	-7,5°
L-Proolina	-86,2°
L-Triptófano	-33,7°
L-Valina	+5,6°

Propiedades eléctricas de los aminoácidos

Los aminoácidos deben sus propiedades eléctricas a la presencia de grupos disociables en su molécula: los grupos carboxilos y aminos y el grupo guanidino presente en la arginina, el anillo imidazol de la histidina, el anillo fenol de la tirosina y el sulfidrilo de la cisteína. La disociación (como ácido) de cada uno de estos grupos se presenta de la forma siguiente:

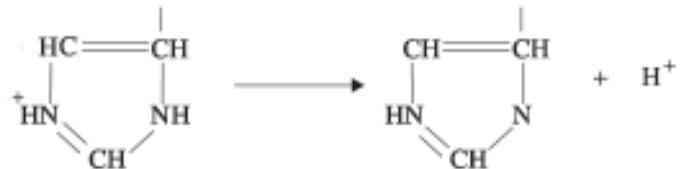
Grupo carboxilo



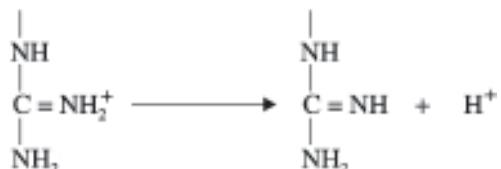
Grupo amino



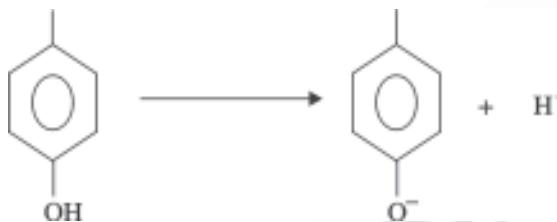
Anillo imidazol



Grupo guanidino



Grupo fenólico



Grupo sulfidrilo



Estos grupos pueden estar en su forma disociada o no disociada, según el pH del medio en que se encuentre disuelto el aminoácido; debido a ello estos compuestos pueden existir en distintas formas iónicas. La relación entre la disociación de un grupo y el pH del medio viene dada por la fórmula de Henderson-Hasselbach (capítulo 5):

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log \frac{[\text{Forma disociada}]}{[\text{Forma no disociada}]}$$

Es conveniente recordar que a mayor K_a y menor pK_a , mayor sería la acidez de un grupo. En los aminoácidos se han ordenado sus pK_a de menor a mayor: (pK_1 , pK_2 y pK_3), del grupo más ácido al menos ácido. A partir de la fórmula de Henderson-Hasselbach se puede estimar la relación de las concentraciones de las formas disociadas y no disociadas para cada grupo disociable de los aminoácidos, aunque para fines prácticos se puede asumir que:

Si pH del medio = pK del grupo

$[\text{forma disociada}] = [\text{forma no disociada}]$

Si pH del medio es > pK del grupo

entonces predomina la forma disociada y $[\text{forma disociada}] > [\text{forma no disociada}]$

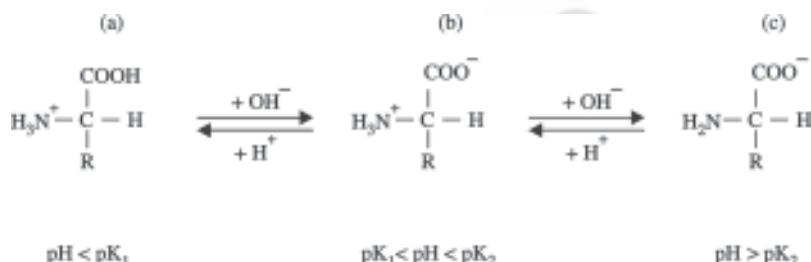
Si pH del medio es < pK del grupo

entonces predomina la forma no disociada y $[\text{forma no disociada}] > [\text{forma disociada}]$

Especies iónicas de los aminoácidos

De acuerdo con lo antes expuesto acerca de la dissociación de los grupos disociables de los aminoácidos, estos podrán existir en forma de especies iónicas distintas, según el valor del pH del medio en que se encuentren disueltos. El comportamiento de los aminoácidos en cuanto a cantidad y variedad de sus especies iónicas depende del número y tipo de sus grupos disociables, es por ello conveniente analizarlos por separado para los aminoácidos neutros, ácidos y básicos.

Especies iónicas de los aminoácidos neutros. Para estos aminoácidos el pK_1 corresponde con el pK del grupo α -carboxilo y el pK_2 al pK del grupo α -amino. Analizaremos las especies iónicas para este tipo de aminoácido a partir de valores bajos de pH, menores que el valor de su pK_1 , situación en la cual para todos los grupos predominará la forma no disociada, ya que será $pH < pK$ para ambos grupos, especie (a); en esta condición el grupo carboxilo no presentará carga eléctrica y el grupo amino presentará carga eléctrica de +1, por lo que el aminoácido tendrá carga eléctrica neta positiva (+1) y situado en un campo eléctrico sería atraído por el polo negativo (cátodo).



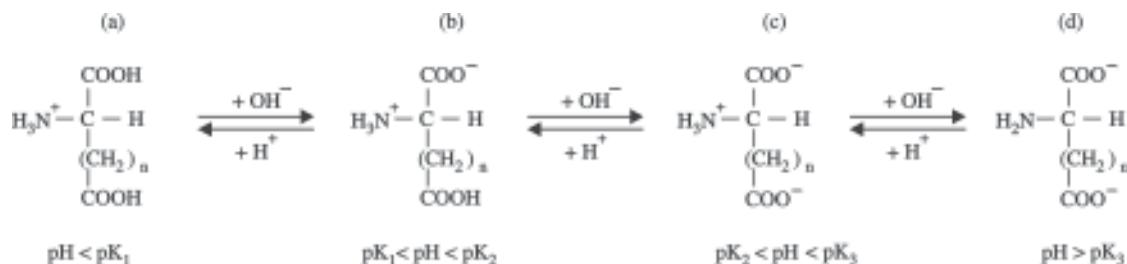
Si se aumenta el pH del medio de disolución del aminoácido hasta un valor de pH que sea mayor que pK_1 , pero menor que pK_2 ($pK_1 < pH < pK_2$), el grupo carboxilo predominará en su forma disociada y por tanto presentará carga eléctrica de -1; mientras el grupo amino predominará en su forma no disociada (carga eléctrica de +1), de donde la carga neta del aminoácido será igual a cero, especie (b); en tal condición el aminoácido no mostrará afinidad por ninguno de los polos de un campo eléctrico y por tanto no sería atraído por ninguno de ellos, esta especie iónica se conoce como ion dipolar.

Si se continúa aumentando el pH del medio hasta lograr que su valor sea mayor que el valor de pK_2 , entonces para ambos grupos predominará la forma disociada y para tal situación el grupo carboxilo presentará carga eléctrica negativa (-1), en tanto que el grupo amino no presentará carga eléctrica alguna, por ello el aminoácido tendrá carga eléctrica neta negativa (-1) y sería atraído por el polo positivo o ánodo, especie (c).

Se puede aumentar o disminuir de manera fácil el pH del medio por la adición en el primer caso de un álcali ($+ OH^-$) y en el segundo caso de un ácido ($+ H^+$), aunque para realizar este análisis hemos partido de valores bajos de pH, los que se han ido incrementando por la adición de un álcali al medio; es posible de igual forma realizar el análisis inverso a partir de los valores más elevados de pH y disminuirlos por la adición de un ácido, por ello, en las ecuaciones de las especies iónicas se escriben las flechas en ambos sentidos con la adición, según corresponda, de un ácido o un álcali.

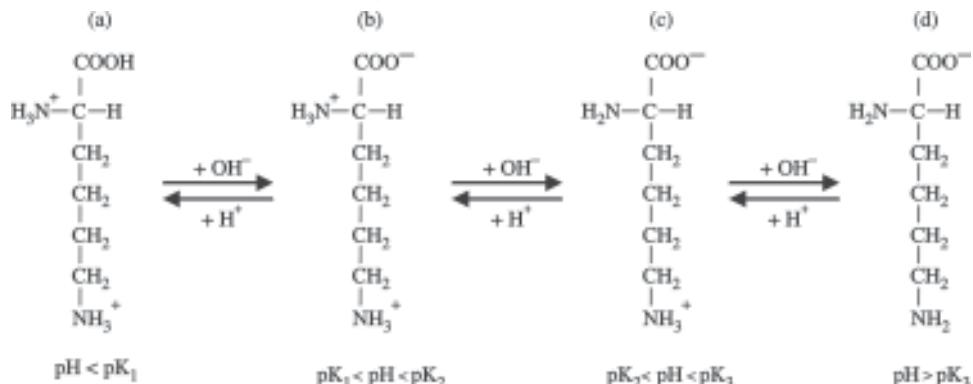
Especies iónicas de los aminoácidos ácidos. Se deben analizar tres grupos disociables: el valor de pK_1 corresponde con el pK del grupo α -carboxilo; el pK_2 al otro grupo carboxilo presente en la cadena R: β -carboxilo en el caso del ácido aspártico y γ -carboxilo en el del ácido glutámico) y por último el pK_3 será el valor del pK del grupo α -amino. Como puede apreciarse en este caso las especies iónicas serán cuatro. En un medio con valor de $pH < pK_1$ ninguno de los grupos estará disociado, la carga neta del aminoácido será positiva y en un campo eléctrico sería atraído y se desplazaría hacia el polo negativo

o cátodo, especie (a). Si se aumenta el pH, de modo que sea mayor que pK_1 pero menor que pK_2 ($pK_1 < pH < pK_2$), estaría predominantemente disociado el grupo α -carboxilo y los demás grupos se mantendrían sin disociar, la carga eléctrica neta sería 0 (-1 del α -carboxilo y +1 del α -amino), por lo que no se desplazaría hacia ningún polo si se sometiera a la acción de un campo eléctrico, especie (b).



Al continuar elevando el valor del pH hasta lograr que su valor supere al pK_3 pero sea inferior al pK_3 , especie (c) ($pK_2 < pH < pK_3$) se consigue que se disocien ambos grupos carboxilos y que el amino se mantenga sin disociar; en tal condición la carga neta del aminoácido será -1 y, sometido a la acción de un campo eléctrico, se desplazaría hacia el ánodo. Por último, al continuar incrementando el pH del medio hasta que $pH > pK_3$ se lograría la disociación de todos los grupos, especie (d), el aminoácido presentaría carga neta de -2 y se desplazaría hacia el polo positivo, incluso con mayor velocidad que la especie anterior, debido a una mayor afinidad por el ánodo al poseer mayor carga negativa.

Especies iónicas de los aminoácidos básicos. Nos basaremos en el aminoácido lisina y por último haremos las consideraciones necesarias para los casos de la arginina y la histidina. El aminoácido lisina posee tres grupos ionizables, el pK_1 corresponde con el grupo α -carboxilo, el pK_2 al α -amino y el pK_3 con el grupo amino presente en su cadena lateral (ϵ -amino). En valores de $pH < pK_1$ ningún grupo estará disociado y por tanto la especie iónica será la especie (a) y la carga neta del aminoácido será igual a +2, por lo que se desplazará al cátodo en un campo eléctrico. Si se aumenta el valor del pH del medio, de manera que sea mayor que pK_1 y menor que pK_2 ($pK_1 < pH < pK_2$), la especie iónica sería la (b), la carga eléctrica de +1 y también se desplazaría hacia el cátodo, pero a menor velocidad que la especie anterior. Al incrementar aún más el pH del medio hasta lograr que este sea mayor que el pK_2 pero menor que el pK_3 ($pK_2 < pH < pK_3$), estarían disociados los grupos carboxilo y el α -amino especie (c), esta presenta carga neta cero (-1 por el grupo carboxilo y +1 por el ϵ -amino), sería el ion dipolar y no se desplazaría en un campo eléctrico. Por último, al continuar aumentando el pH hasta que sea mayor que el pK_3 , todos los grupos se disociarían, especie (d), esta con carga eléctrica neta de -1 se comportaría como un anión y por tanto se desplazaría hacia el polo positivo o ánodo.



Es conveniente aclarar que el comportamiento en cuanto a las especies iónicas según el pH del medio es similar para la arginina y la lisina, con la diferencia de que el pK_3 corresponde con el grupo guanidino. Sin embargo, en el caso del aminoácido histidina el comportamiento resulta diferente, ya que el anillo imidazol posee un valor de pK menor (pK_2) que el del α -amino (pK_3), y por tanto se disociará antes el anillo imidazol que el α -amino; salvo esta diferencia el resto del análisis para el caso de la histidina resulta similar al de los demás aminoácidos básicos.

Punto isoeléctrico de los aminoácidos. Como consecuencia del comportamiento eléctrico de los aminoácidos nos referimos al concepto de punto isoeléctrico (PI).

El punto isoeléctrico de un aminoácido es el valor del pH al cual este presenta carga neta cero y no es atraído por ningún polo, si se le somete a la acción de un campo eléctrico.

La especie iónica predominante en el PI será la de ion dipolar El punto isoeléctrico se calcula diferente según el tipo de aminoácido, como se muestra a continuación:

- Para los aminoácidos neutros

$$PI = \frac{pK_1 + pK_2}{2}$$

donde pK_1 es el pK del grupo α -carboxilo y pK_2 es el del α -amino.

- Para los aminoácidos ácidos

$$PI = \frac{pK_1 + pK_2}{2}$$

donde el pK_1 es el del grupo α -carboxilo y el pK_2 corresponde con el pK del otro grupo carboxilo, presente en R. Como puede apreciarse para el cálculo del PI de los aminoácidos neutros y ácidos, estas expresiones matemáticas son similares; sin embargo, se debe recordar que aunque el pK_1 en ambos casos corresponde con el grupo α -carboxilo, no sucede así para el pK_2 , el cual corresponde para el grupo α -amino en el caso de los aminoácidos neutros, y para el otro grupo carboxilo presente en la cadena lateral R de este tipo de aminoácidos (β -carboxilo si se trata del ácido aspártico y γ -carboxilo del ácido glutámico), para los aminoácidos ácidos.

- Para los aminoácidos básicos

$$PI = \frac{pK_2 + pK_3}{2}$$

El pK_2 es el pK del grupo α -amino y el pK_3 es el pK del otro grupo básico presente en R (ϵ -amino para el caso de la lisina y guanidino para el de la arginina), debe recordarse que el aminoácido histidina constituye una excepción entre los aminoácidos básicos, su pK_2 corresponde con el pK del anillo imidazol y su pK_3 al del grupo α -amino, aunque es obvio que para el cálculo del valor del PI esto no implica ninguna consecuencia.

Se puede inferir la carga eléctrica neta de un aminoácido al comparar el pH del medio con el valor de su punto isoeléctrico. Si sabemos que el pH del medio coincide con el de su PI, el aminoácido presenta carga neta cero, y resulta claro que a valores de pH menores que su PI, su carga neta sería positiva, pues los grupos básicos predominarán sin disociar, con carga positiva, y los grupos carboxilos sin disociar (sin carga); si el pH es mayor que su PI, la carga eléctrica neta sería negativa, pues todos los grupos carboxilos estarán disociados (carga negativa) y predominarán los grupos básicos ya disociados (carga eléctrica cero). De manera que se puede resumir:

- Si pH del medio = PI del aminoácido carga eléctrica neta = 0 y no se desplaza en un campo eléctrico

- Si pH del medio < PI del aminoácido
 - Si pH del medio > PI del aminoácido
- carga eléctrica neta positiva y se desplaza al cátodo en un campo eléctrico
- carga eléctrica neta negativa y se desplaza al ánodo en un campo eléctrico

En la tabla 6.5 aparecen los valores de pK de todos los grupos de los diferentes aminoácidos, así como el valor de su PI.

Tabla 6.5. Valores de pK y del PI de los aminoácidos

Aminoácido	pK ₁		pK ₂		pK ₃		PI
	Grupo	Valor	Grupo	Valor	Grupo	Valor	
Glicina	α-carboxilo	2,34	α-amino	9,60	-	-	5,97
Alanina	α-carboxilo	2,35	α-amino	9,69	-	-	6,02
Valina	α-carboxilo	2,32	α-amino	9,62	-	-	5,97
Leucina	α-carboxilo	2,36	α-amino	9,60	-	-	5,98
Isoleucina	α-carboxilo	2,36	α-amino	9,68	-	-	6,02
Serina	α-carboxilo	2,21	α-amino	9,15	-	-	5,68
Treonina	α-carboxilo	2,63	α-amino	10,43	-	-	6,53
Fenilalanina	α-carboxilo	1,83	α-amino	9,13	-	-	5,48
Triptófano	α-carboxilo	2,38	α-amino	9,39	-	-	5,88
Metionina	α-carboxilo	2,28	α-amino	9,21	-	-	5,75
Prolina	α-carboxilo	1,99	α-amino	10,60	-	-	6,29
Asparagina	α-carboxilo	2,02	α-amino	8,88	-	-	5,45
Glutamina	α-carboxilo	2,17	α-amino	9,13	-	-	5,65
Tirosina	α-carboxilo	2,20	α-amino	9,11	fenólico	10,07	5,65
Lisina	α-carboxilo	2,18	α-amino	8,95	ε-amino	10,53	9,74
Histidina	α-carboxilo	1,82	Imidazol	6,00	α-amino	9,17	7,58
Arginina	α-carboxilo	2,17	α-amino	9,04	guanidino	12,48	10,76
Ácido aspártico	α-carboxilo	2,09	β-carboxilo	3,86	α-amino	9,67	2,97
Ácido glutámico	α-carboxilo	2,19	γ-carboxilo	4,25	α-amino	9,67	3,22
Cisteína	α-carboxilo	1,71	Sulfidrilo	8,33	α-amino	10,78	5,02

Electroforesis de los aminoácidos. Los aminoácidos, por su carácter de anfolito, moléculas cuya carga eléctrica depende del pH del medio en el que se encuentren disueltas, pueden ser separados mediante la técnica de electroforesis. Esta consiste en someter bajo la acción de un campo eléctrico, a un valor de pH determinado, una mezcla de varios aminoácidos. En dependencia fundamentalmente de su carga, los aminoácidos se separan al desplazarse hacia polos distintos y con velocidades diferentes.

Para realizar esta técnica se utilizan distintos soportes en los que se coloca la solución de aminoácidos que se desea separar; los soportes pueden ser papel, agarosa, almidón, poliacrilamida, etcétera.

El voltaje que se debe aplicar y el tiempo de corrida dependen de las cargas eléctricas y el peso molecular de los anfolitos que se van a separar. Al finalizar la corrida, la tira de papel –o el soporte utilizado– se revela por coloración, frecuentemente con ninhidrina, para visualizar la separación.

Importancia de los grupos en la cadena R de los aminoácidos

En las cadenas laterales de los aminoácidos están presentes diferentes grupos químicos, según el aminoácido específico que se trate. Estos grupos tienen importancia en la determinación de la estructura tridimensional que adopten las proteínas. Así, la glicina, que es un aminoácido pequeño, puede localizarse en sitios inaccesibles para otros aminoácidos; los aminoácidos de cadena larga perturban las estructuras α -hélice y en hoja plegada; los aminoácidos con cadenas laterales hidrofóbicas son abundantes en proteínas intrínsecas de membrana en las zonas de dichas proteínas que se hallan en contacto estrecho con la doble capa lipídica; la prolina se encuentra en zonas de giros o de fallas de la estructura en hélice de las proteínas; los aminoácidos polares iónicos se disponen hacia afuera en la estructura de proteínas globulares, pues interactúan con mayor efectividad que otros con el ambiente acuoso.

El anillo imidazólico de la histidina desempeña una función importante en el mantenimiento del pH sanguíneo debido a su valor de pK cercano a 7. Los grupos OH de la serina y la tirosina tienen importancia en la función catalítica de algunas enzimas, así como en la unión covalente a grupos fosfatos que intervienen en procesos de regulación de la actividad de determinadas enzimas.

Entre varios de estos grupos presentes en las cadenas laterales de los aminoácidos se establecen determinados enlaces o interacciones que influyen en la estructura espacial de las proteínas, entre los más frecuentes se encuentran los siguientes:

- Entre un grupo básico con carga + y un grupo ácido con carga -: unión salina.
- Entre las cadenas hidrocarbonadas de dos aminoácidos apolares: unión hidrofóbica.
- Entre el $-COO^-$ de un aminoácido ácido y otro con OH en R: puente de hidrógeno.
- Entre el NH_3^+ de un aminoácido básico y otro con OH en R: puente de hidrógeno.
- Entre dos aminoácidos con grupos OH en R: puente de hidrógeno.
- Entre dos grupos SH: puente disulfuro.
- Entre dos anillos aromáticos presentes en R: fuerzas de Van der Waals que en estos casos se conocen con el nombre de apilamiento o *stacking*.

Reacciones químicas de los aminoácidos

Los aminoácidos pueden participar en numerosas reacciones químicas, poseen grupos que son capaces de intervenir en diferentes tipos de reacciones: mediante el grupo amino pueden formar bases de *Schiff* –de importancia en algunas vías metabólicas de estos compuestos– también mediante el grupo amino reaccionan con el dinitrofluorobenceno o el ácido nitroso o con el fenilisotiocianato (reacción de Edman), entre otras muchas reacciones que han sido de utilidad en la identificación de los grupos aminos terminales y por ello empleadas en la determinación de la secuencia de péptidos y proteínas.

Por su grupo carboxilo los aminoácidos pueden formar ésteres o descarboxilarse y dar lugar a las llamadas aminas biogénas, muchas de ellas son compuestos con importantes funciones biológicas. Los aminoácidos pueden formar sales si reacciona el grupo carboxilo con un álcali, por ejemplo, con el OHNa se formaría la sal sódica del aminoácido; si reacciona el grupo amino con un ácido, por ejemplo el HC₆e obtendría el clorhidrato del aminoácido. Por supuesto los aminoácidos también pueden reaccionar por los diferentes grupos que poseen en R, incluso algunas de estas reacciones han sido empleadas para identificar a los diferentes aminoácidos. Estudiaremos solo dos

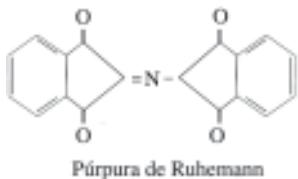
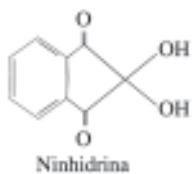


Fig. 6.1. Fórmulas de la ninhydrina y de la púrpura de Ruhemann.

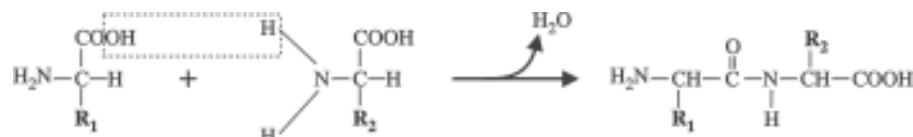
reacciones, la reacción de la ninhydrina por su amplio uso en la identificación y cuantificación de los aminoácidos y la formación del enlace peptídico por su trascendencia en la formación de los péptidos y las proteínas.

Reacción de la ninhydrina

Esta reacción es una de las más empleadas para la identificación de los aminoácidos. Ella transcurre a elevadas temperaturas (ebullición) y reaccionan dos moléculas de ninhydrina por cada molécula del aminoácido, se forma un complejo de color violeta (púrpura de Ruhemann) y se liberan CO_2 y NH_3 . La estructura de la ninhydrina y la del complejo coloreado de púrpura de Ruhemann se muestran en la figura 6.1.

Formación del enlace peptídico

El enlace peptídico es una amida sustituida que se forma al reaccionar el grupo carboxilo de un aminoácido con el grupo amino de otro, con pérdida de una molécula de agua:



El grupo peptídico formado está constituido por el carbono carbonílico y el N amídico, ambos unidos a carbonos alfa. En el enlace peptídico se establece una resonancia electrónica debido a la posibilidad que presentan los electrones del enlace para desplazarse entre el C y el N, por las interacciones que se establecen entre los orbitales p del N, el C y el O (Fig. 6.2).

Debido a la resonancia el enlace peptídico presenta características de doble enlace, comprobado mediante la espectroscopía, ya que la distancia entre el átomo de carbono y el oxígeno es 0,02 Å mayor que la distancia promedio de enlaces dobles C=O de aldehídos y cetonas; así como el C-N peptídico es 0,13 Å menor que el enlace simple N-C α ; por consecuencia se dice que el enlace peptídico posee carácter parcial de doble enlace. El enlace C α -N es el enlace ϕ y el C α -C es el ψ (Fig. 6.3).

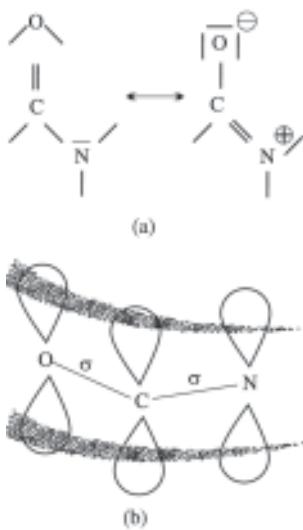


Fig. 6.2. Representación de la estructura del enlace peptídico; a) estructura resonante; b) solapamiento de los orbitales p del C, el O y el N .

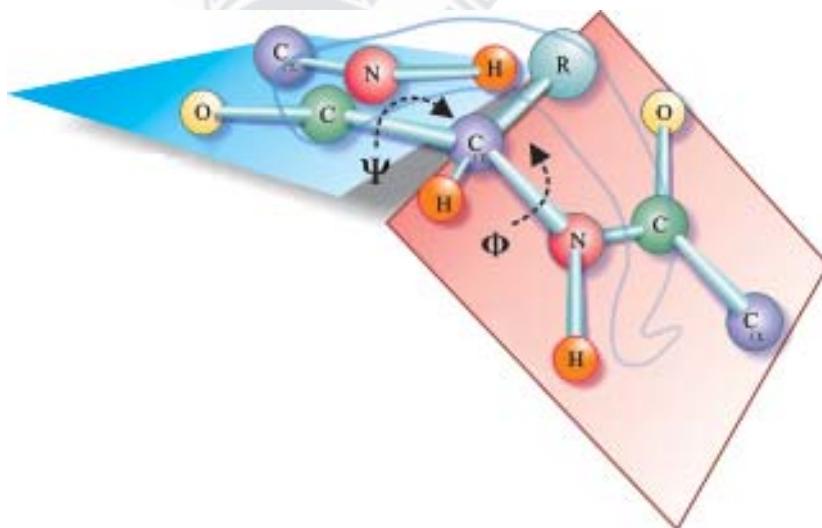


Fig. 6.3. Representación de dos enlaces peptídicos contiguos. Los elementos del enlace peptídico se encuentran en un mismo plano debido a las limitaciones en el giro del enlace C-N (carácter parcial de doble enlace). Los giros se producen al nivel de los carbonos α ; enlace C-C α (ψ) y del C α -N (ϕ).

Esta característica determina que los elementos del enlace peptídico se encuentren en un mismo plano y los giros se establezcan solo al nivel de los carbono alfa; además, debido a las limitaciones de giros que condiciona este carácter de doble enlace existe la posibilidad de la presencia de isomería geométrica (cis/trans). La configuración predominante en los péptidos y proteínas es la trans, donde los átomos de C α sucesivos se disponen a los lados opuestos del grupo peptídico (Fig. 6.4). La energía de resonancia alcanza su valor máximo cuando el grupo peptídico es coplanar, ya que el sobresolapamiento de los orbitales p es máximo en esta conformación. Este sobresolapamiento y por tanto la energía de resonancia se hacen cero, si el enlace peptídico realiza un giro que lo aleje 90° de la planaridad, lo cual explica la rigidez planar del grupo peptídico.

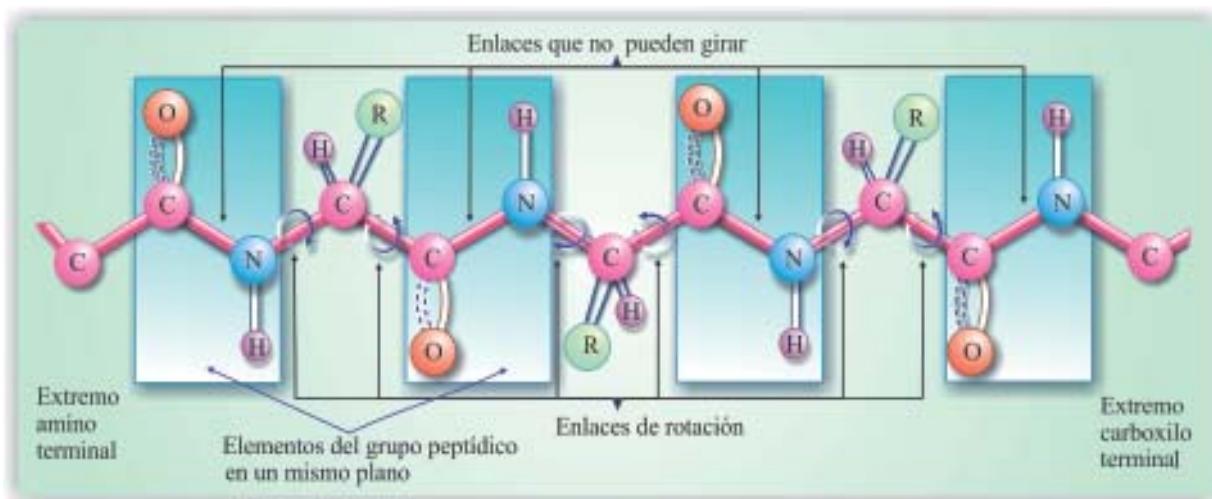


Fig. 6.4. Representación de los enlaces peptídicos en un segmento de una cadena polipeptídica. Pueden observarse los elementos del enlace peptídico en un mismo plano y la disposición trans de los grupos laterales R de los residuos de los aminoácidos y de los C α .

Resumen

Los aminoácidos son ácidos orgánicos en los que al menos un H ha sido reemplazado por un grupo amino. Los aminoácidos cumplen funciones variadas, pero la más importante es constituir las unidades estructurales de los péptidos y las proteínas. Los aminoácidos que forman las proteínas son todos alfa aminoácidos, excepto la prolina y la hidroxiprolina.

Los aminoácidos que forman las proteínas pertenecen a la serie L. La cadena lateral en R diferencia un aminoácido de otro y puede estar constituida por cadenas alifáticas que contengan grupos químicos diversos o por anillos aromáticos.

Los aminoácidos pueden clasificarse según diferentes criterios. De acuerdo con el número de grupos carboxilos y aminos se clasifican en neutros, ácidos y básicos; de acuerdo con la polaridad de su grupo R se clasifican en apolares y polares –estos últimos a su vez pueden ser polares iónicos o polares poco iónicos.

Entre los grupos presentes en los radicales R se pueden establecer diferentes interacciones como: uniones salinas, uniones hidrofóbicas, puentes de hidrógeno, puentes disulfuro y apilamiento, que desempeñan una función muy importante en la determinación de la estructura espacial de las proteínas.

Los aminoácidos presentan propiedades eléctricas debido a la presencia de grupos disociables; la disociación de estos grupos depende del valor de su pK y del pH del medio en que se encuentren disueltos, por ello los aminoácidos pueden existir en diversas especies

iónicas y presentar carga neta distinta. De acuerdo con su carga eléctrica serán atraídos por el ánodo o el cátodo, si son sometidos a la acción de un campo eléctrico, y se desplazarán en uno u otro sentido. Al valor del pH al cual el aminoácido presenta carga neta cero y no se desplaza en un campo eléctrico se le denomina punto isoeléctrico. De la relación entre el pH del medio y el PI de un aminoácido se puede predecir su comportamiento electroforético. Las técnicas de electroforesis basadas en las propiedades eléctricas de los aminoácidos son de utilidad en la separación e identificación de estas biomoléculas.

Los aminoácidos se unen por medio del enlace peptídico para originar los péptidos y las proteínas. El enlace peptídico es un enlace de tipo amida sustituida, se forma cuando reacciona el grupo carboxilo de un aminoácido con el amínico de otro y se elimina una molécula de agua. Este enlace posee carácter parcial de doble enlace y limita el giro de los elementos constituyentes que se encuentran todos en un mismo plano y en disposición trans.

Ejercicios

1. Defina el concepto de aminoácido.
2. Cite dos criterios de clasificación de los aminoácidos.
3. Clasifique los aminoácidos siguientes de acuerdo con el número de grupos carboxilos y aminos que poseen:

alanina	valina	glutámico	histidina
serina	glicina	arginina	fenilalanina
cisteína	aspártico	lisina	tirosina
4. Clasifique los aminoácidos del ejercicio anterior de acuerdo con la polaridad de sus grupos R.
5. Calcule el punto isoeléctrico de la hidroxiprolina si usted sabe que su $pK_1 = 1,92$ y su $pK_2 = 9,73$.
6. ¿Cuál será la especie iónica predominante de la alanina a un valor de pH = 8,5? Escriba la estructura de la especie, señale su carga neta y prediga su comportamiento electroforético.
7. ¿Cuál será la especie iónica predominante de la histidina a un pH = 7,2? Escriba la estructura de la especie, señale su carga neta y prediga su comportamiento electroforético.
8. ¿Cuál será la especie iónica predominante del ácido glutámico a un pH = 3,0? Escriba la estructura de la especie, señale su carga neta y prediga su comportamiento electroforético.
9. Identifique la interacción que puede establecerse entre los grupos en las cadenas laterales en R de las siguientes parejas de aminoácidos:

ala-ile	glu-tir	val-leu	cis-cis
fen-fen	lis-ser	asp-lis	tir-tir
glu-ser	glu-arg		
10. ¿Qué tipo de interacción usted considera que pueda establecerse entre los grupos en R de las siguientes parejas de aminoácidos? Fundamente su respuesta.

glu-glu	glu-asp	lis-lis	lis-arg
---------	---------	---------	---------
11. Si se realiza una electroforesis a una mezcla de los aminoácidos hipotéticos A (PI = 3,00), B (PI = 6,00) y C (PI = 9,00) utilizando un medio con pH = 6 ¿Cuál será el comportamiento electroforético de cada aminoácido y por qué? Asuma que todos tienen similar peso molecular
12. Enumere las características del enlace peptídico.

Monosacáridos

Los monosacáridos forman parte del grupo de los carbohidratos o glúcidos, algunos de sus componentes son dulces y de ahí el término sacárido, que deriva del término latino *saccharum* (dulce). Los monosacáridos son los componentes más sencillos de los glúcidos, que además comprenden oligosacáridos y polisacáridos.

Los monosacáridos cumplen múltiples funciones como son: rendimiento energético, precursores de los oligo y polisacáridos, entre otras, y por ello se dice que cumplen con el principio de multiplicidad de utilización.

A partir de los monosacáridos simples se pueden formar los monosacáridos derivados, y mediante la formación de enlaces covalentes entre ellos se constituyen los oligo y polisacáridos, según el número de unidades que se condensen.

Trataremos a continuación acerca de los monosacáridos simples más abundantes y las características del enlace polimerizante que une los monosacáridos para formar los polisacáridos.

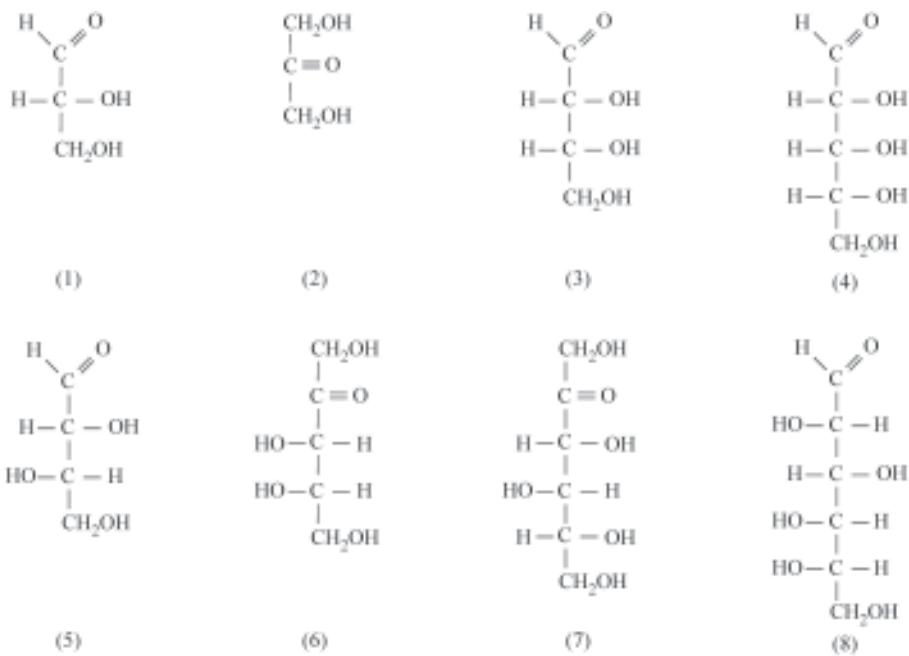
Concepto y clasificación

Los monosacáridos son polihidroxialdehídos y polihidroxiacetonas, así como sus derivados; de aquí que pueden clasificarse en monosacáridos simples y derivados.

Monosacáridos simples

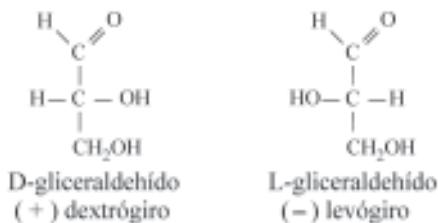
Los monosacáridos simples son compuestos que poseen un grupo carbonilo y una cadena carbonada polihidroxilada. El grupo carbonilo puede ser aldehído o cetona en dependencia de la posición que ocupe en la cadena carbonada; aldehído, si el grupo carbonilo está en el carbono primario, y cetona si lo posee en el carbono secundario.

Clasificación de los monosacáridos simples. Sobre la base de su estructura los monosacáridos simples se pueden clasificar de diferentes formas:



- Según su función carbonilo. Se clasifican en aldosas si poseen función aldehído y en cetosas si tienen función cetona. Observando las estructuras de la figura anterior, en la que todos los compuestos son monosacáridos, se puede comprobar que los compuestos 1, 3, 4, 5 y 8 son aldosas y los compuestos 2, 6 y 7 son cetosas.
- Según el número de carbonos. Los monosacáridos simples se clasifican en triosas (3 carbonos), tetrosas (4), pentosas (5), hexosas (6), heptosas (7), etc. Los más frecuentes son las triosas, tetrosas, pentosas y hexosas. En la misma figura anterior se puede apreciar que son triosas los compuestos 1 y 2; tetrosas son los monosacáridos representados en 3 y 5; pentosas las 4 y 6 y hexosas las 7 y 8. Considerando en conjunto la clasificación según su función y el número de carbonos, los monosacáridos simples podrán ser aldotoriosas o cetotoriosas, aldotetrosas o cetotetrosas y así sucesivamente.
- Por la disposición del grupo hidroxilo, unido al carbono asimétrico, más alejado del grupo carbonilo.

Se clasifican en las series D si el hidroxilo se encuentra hacia el mismo lado que el hidroxilo del D gliceraldehído y se representa en la fórmula plana hacia la derecha si el grupo carbonilo se dispone hacia arriba, y L si dicho OH se dispone hacia el mismo lado que el OH del L gliceraldehído y en la estructura planar se representa hacia la izquierda (capítulo 5).



De los compuestos representados en la figura anterior, pertenecen a la serie D los marcados con los números 1, 3, 4 y 7. Son de la serie L el 5, 6 y 8. Sin embargo, debe

recordarse que los de la serie D pueden ser dextrógiros o levógiros, y a su vez los L monosacáridos pueden ser levógiros o dextrógiros; esta propiedad se determina experimentalmente por medio del polarímetro (capítulo 5).

En las figuras 7.1 y 7.2 están representadas respectivamente las aldosas y las cetosas de la serie D. El antípoda óptico o enantiomorfo de cada uno de los compuestos en estas dos figuras estaría representado en las series L de las aldosas y cetosas que no se muestran. Por ejemplo, los antípodas ópticos de la D-glucosa y la D-fructosa serían la L-glucosa y la L-fructosa.

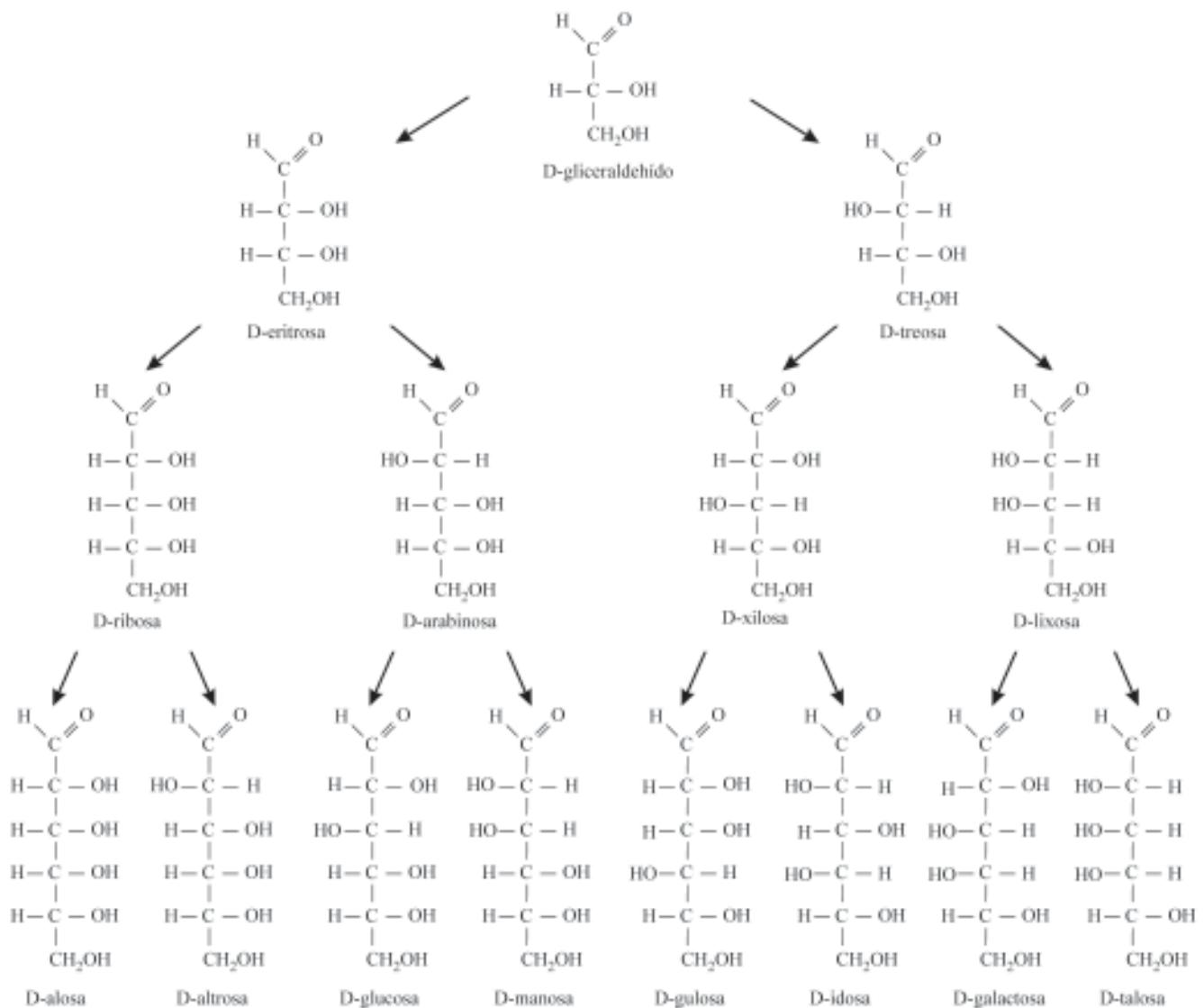


Fig. 7.1. Representación de las aldosas de la serie D (de 3 a 6 carbonos). Observa que las triosas tienen un carbono asimétrico, las tetrosas dos, las pentosas tres, según la fórmula: No. de carbonos asimétricos = No. de carbonos - 2.

Como se ha visto, hay una gran diversidad de monosacáridos simples y pueden existir de 7, 8 o más carbonos. Sin embargo, en los sistemas vivos prevalecen los de la serie D. Las hexosas más abundantes son la D-glucosa, la D-manosa, la D-galactosa y la D-fructosa (Figs. 7.1 y 7.2).

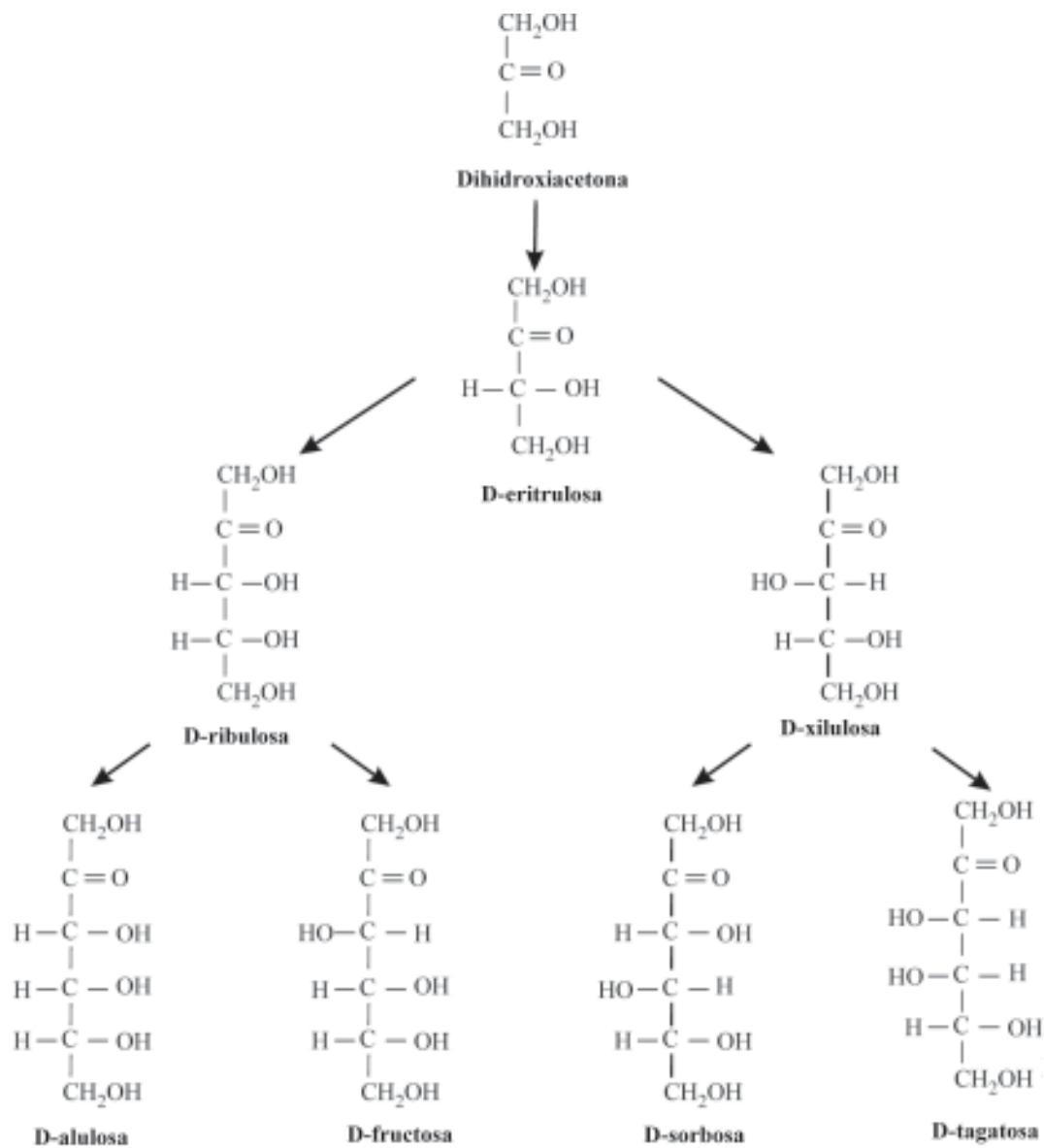
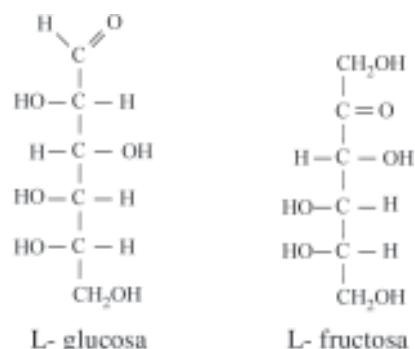
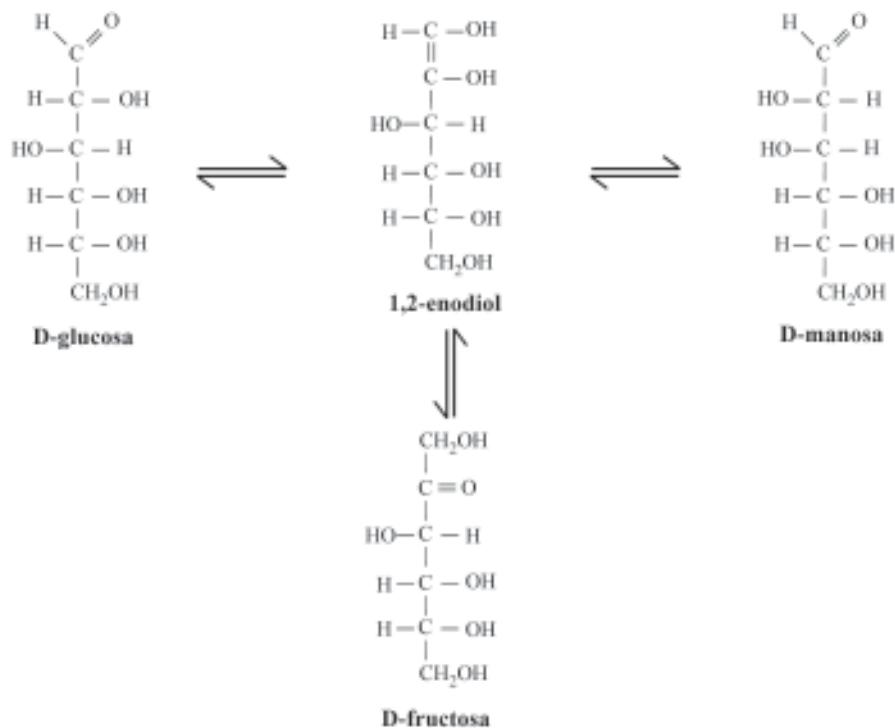


Fig. 7.2. Representación de las cetonas de la serie D (de 3 a 6 carbonos). Observe que la triosa no tiene carbono asimétrico. Las tetrosas tienen 1, las pentosas tienen 2 y las hexosas 5, según la fórmula: No. de carbonos asimétricos = No. de carbonos - 3.



Los monosacáridos se diferencian también por la disposición espacial de los hidroxilos. Son diastereoisómeros (capítulo 5) la glucosa, la manosa y la galactosa (Fig. 7.1). Son epímeros (capítulo 5) la D-glucosa de la D-mana en el carbono 2 y la D-glucosa de la D-galactosa en el carbono 4. La D-glucosa y la D-gulosa son diferentes en la posición de dos de sus hidroxilos, por lo que no son epímeros, son diastereoisómeros (Fig. 7.1).



Interconversiones entre aldosas y cetosas

Las aldosas se pueden interconvertir en cetosas, siempre que los dos monosacáridos posean igual número de carbonos e igual disposición espacial de los hidroxilos de los carbonos 3 en adelante. En estas reacciones de isomerización (cambio de un isómero en el otro) se forma un compuesto intermedio, el enodiol. La D-glucosa y la D-mana pueden isomerizarse a D-fructosa. Estas interconversiones ocurren en las células durante algunos procesos metabólicos.

Formas cíclicas de los monosacáridos: el hemiacetal interno

Los monosacáridos representados hasta ahora en las figuras anteriores se muestran con la estructura lineal. Realmente en la naturaleza los carbonos adyacentes forman un ángulo entre ellos, dada la disposición tetrahédrica de los enlaces del carbono, y pueden rotar en el espacio con sus limitaciones, debido a los grupos sustituyentes que se encuentran unidos a los carbonos. Debido a esto, los monosacáridos de cinco o más carbonos se localizan en forma cíclica, ya que los ángulos de enlace que forman los carbonos adyacentes de la cadena provocan giros y se favorece la interacción entre el grupo carbonilo y un grupo hidroxilo alejado a tres o cuatro carbonos de aquel (Fig. 7.3).

El enlace que se forma al reaccionar el carbonilo con un hidroxilo de la propia cadena se le denomina enlace hemiacetal interno (capítulo 5). A continuación representamos en

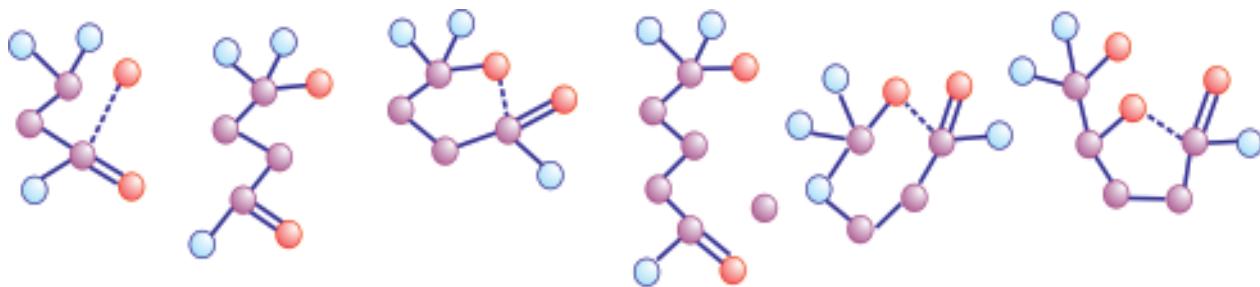
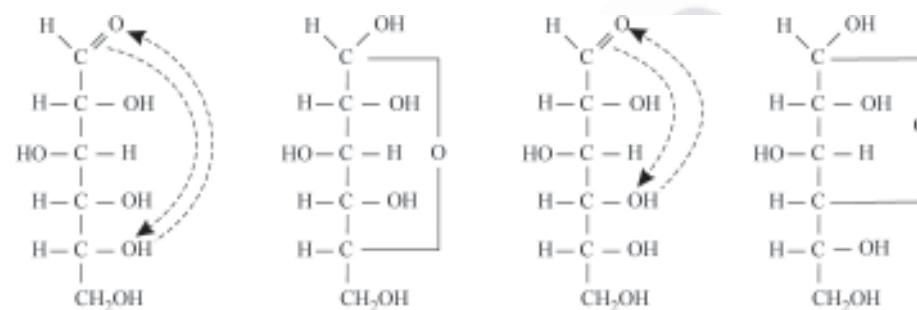


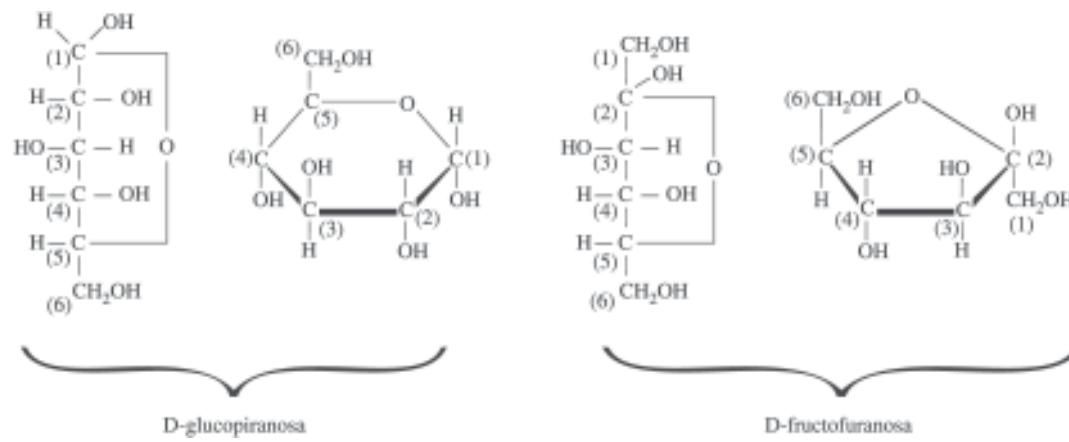
Fig. 7.3. Esquema de representación planares de algunos monosacáridos de tres, cuatro y cinco átomos de carbono con sus ángulos de enlaces entre ellos. Los carbonos son las bolitas violetas, los hidrógenos son las bolitas azules, los hidroxilos son las rosadas y el oxígeno del carbono carbonilo en rojo. Se observa cómo solo puede formarse el enlace hemiacetal interno entre el carbono-no carbonilo y un hidroxilo cuando aquel se encuentra alejado a más de tres carbonos entre ellos.

su forma lineal la formación de dos hemiacetales posibles de la D-glucosa. Obsérvese que en esta representación lineal el carbonilo queda muy alejado de los hidroxilos con los que puede interactuar.



Haworth en 1926 hizo otra representación en el plano de estos ciclos, una que se acercaba más a la realidad, denominándolos de acuerdo con su parecido al pirano (anillo de cinco carbonos y un oxígeno), anillo piranósico y al furano (anillo de cuatro carbonos y un oxígeno), anillo furanósico (capítulo 5).

La forma piranósica está favorecida termodinámicamente en las aldohexosas, sin embargo, en las cetohexosas y aldopentosas la más favorecida es la furanósica. Debido a esto se representa a la D-glucosa en su forma piranósica y a la D-fructosa en su forma furanósica.

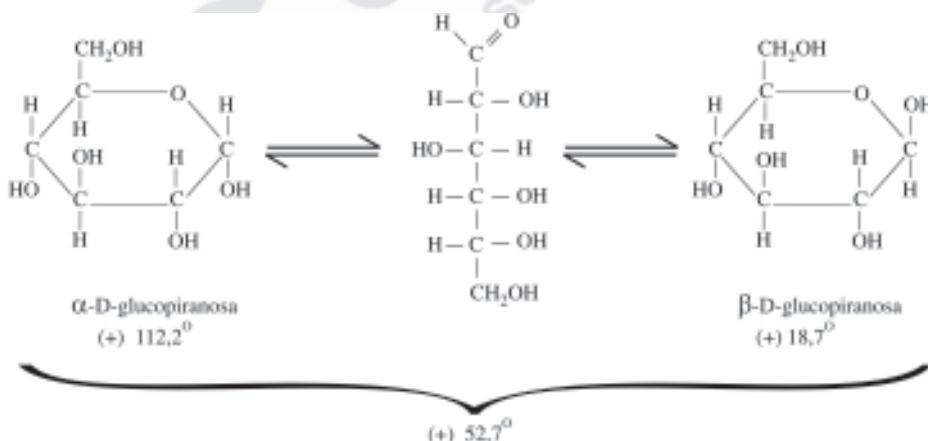


Haworth representó los anillos como si se hallaran perpendiculares al plano de un papel colocado frente al lector, y por esto se dibuja en trazos más gruesos aquella parte del anillo que está más cerca del observador. Los hidroxilos y radicales hidrógeno se encontrarían paralelos al plano del papel, unos hacia arriba y otros hacia abajo del anillo. Los hidroxilos que se encuentran en la representación lineal hacia la derecha, en el anillo se representan hacia abajo y los hidroxilos que se localizan en la representación lineal a la izquierda, en el anillo se representan hacia arriba. Por convención, cuando el último grupo $-\text{CH}_2\text{OH}$ (el del carbono 5 o 6) se representa hacia arriba del anillo, esto significa que el compuesto es de la serie D, y si se representa hacia abajo, es de la serie L.

Anómeros alfa y beta

Un nuevo carbono asimétrico aparece al formarse el enlace hemiacetal. El carbono que antes era el carbonílico y que no era asimétrico en la estructura lineal, ahora sí lo es al quedar con cuatro sustituyentes diferentes. Esto hace que se formen dos nuevos estereoisómeros, ya que el hidroxilo se puede disponer de dos formas en el espacio, hacia arriba del plano del anillo o hacia abajo en las representaciones de Haworth. Este nuevo carbono asimétrico influye en el plano de giro de vibración de la luz polarizada y será diferente el número de grados de giro en ambos isómeros. A los nuevos isómeros se les denomina los anómeros α y β ; al carbono que corresponde este nuevo centro de asimetría se le denomina carbono anomérico y al hidroxilo unido a este se le llama hidroxilo anomérico. En la representación de Haworth el anómero α se representa con el hidroxilo anomérico hacia abajo del plano del anillo, y el β con este hacia arriba.

Veamos cómo se representa el equilibrio entre las formas α y β de la D-glucopiranosa, cuándo se encuentran en una solución, cuál es el ángulo de giro de la luz polarizada de cada uno de los anómeros y cuál el de la solución en el que se encuentran ambos en equilibrio.



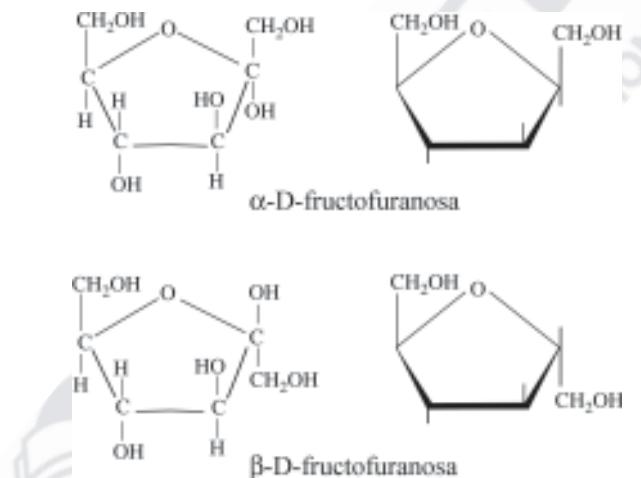
Cuando los dos anómeros de un monosacárido se encuentran disueltos en agua, ellos están en equilibrio mediante su forma lineal. En este equilibrio se observa que el poder óptico no es ni el del anómero α ni el del anómero β .

En el caso representado de la D-glucosa el poder rotatorio de la mezcla de sus dos anómeros en equilibrio es de 52,7°; el equilibrio de este estado depende de la estabilidad de cada anómero. En este caso la β -D-glucosa es la más estable y por ello existe el 63 % de esta en solución, la α es menos estable y existe de ella el 37 % y una mínima cantidad de la forma lineal. Los anómeros de la D-glucosa tienen propiedades físicas diferentes (Tabla 7.1).

Tabla 7.1. Propiedades físicas de los anómeros de la D-glucosa

	Poder rotatorio	Punto de fusión °C	Solubilidad g/100
Forma α	(+) 112,2°	146	82,5
Forma β	(+) 18,7°	150	178

A continuación representamos los dos anómeros de la D-fructosa. La representación más simplificada que aparece, adyacente a cada uno de los anómeros de la fructosa, es la que utilizaremos en este capítulo de aquí en adelante. En el vértice de los ángulos del anillo están los carbonos cuyo símbolo -C- se omite. Cada carbono tiene sus cuatro sustituyentes, sin embargo, no se representan los hidrógenos. El hidroxilo está representado por un trazo que parte del carbono y que se encuentra hacia arriba o hacia abajo del anillo. Los grupos terminales que contienen -CH₂OH se representan con todos sus elementos.



En su forma cíclica los monosacáridos son polihidroxiacetales en vez de polihidroxialdehídos, y polihidroxicetales en vez de polihidroxicetonas.

En realidad los elementos que componen los anillos furánicos y en mayor medida los piránicos no se encuentran en un plano. En el espacio, los piránicos tienen formas: de silla, más rígida y estable en la D-glucopiranosa, y de bote. En cada vértice se encuentran los sustituyentes del carbono en las posiciones espaciales como se indica en la figura 7.4a.

Las formas del anillo de la D-ribofuranosa no aparecen ni en silla ni en bote, tiene la forma de un sobre abierto. Cuatro de los elementos del anillo se ubican casi en un plano y el quinto elemento del anillo se halla más elevado. En estas formas es uno de los carbonos, el 2 o el 3, el que está fuera del plano, hacia el mismo lado que el 5 y se les llama a esas dos formas respectivamente C₂-endo y C₃-endo (Fig. 7.4b).

Monosacáridos derivados

Se llaman monosacáridos derivados a los monosacáridos que han sufrido transformaciones en sus grupos funcionales. Estas transformaciones pueden ser por oxidación, por reducción y por sustitución.

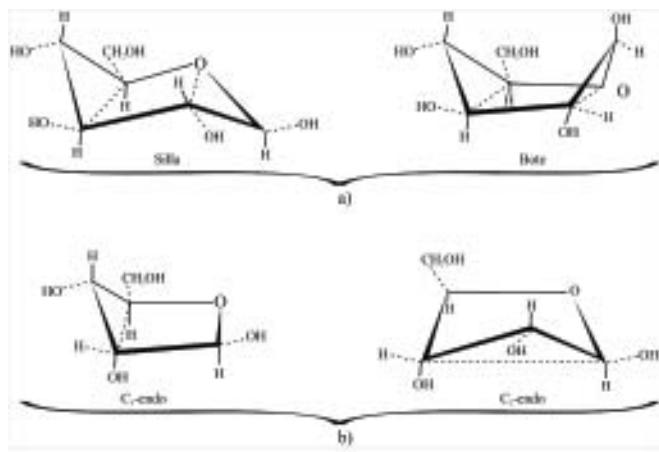
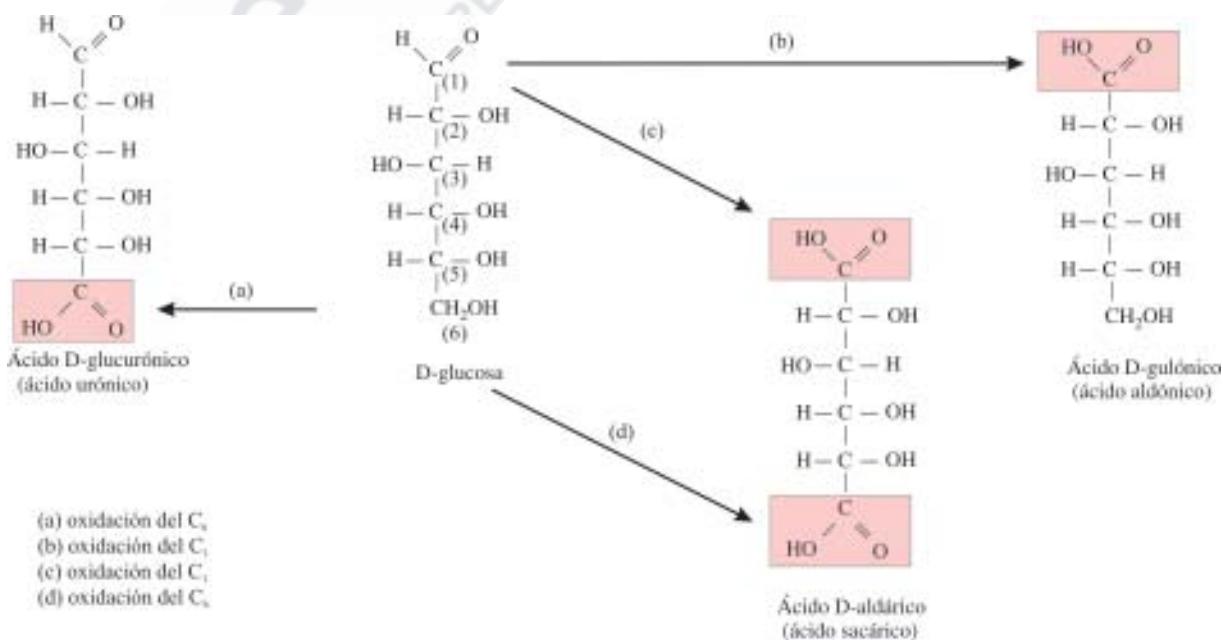
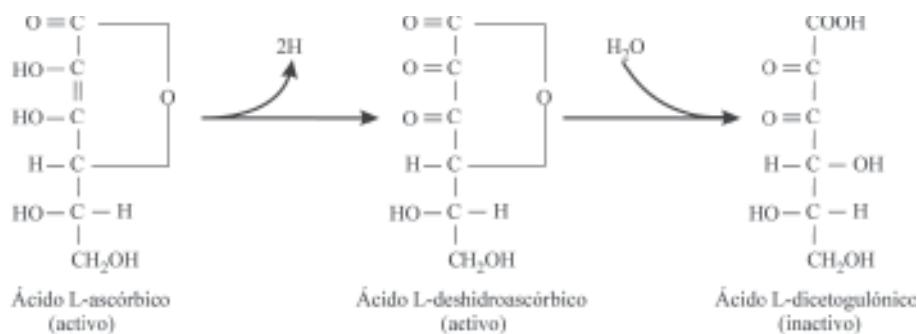


Fig. 7.4. Representación espacial en a) de la D-glucopiranosa en sus formas bote y silla, y en b) de la D-ribofuranosa en sus formas C₃-endo y C₂-endo. En cada vértice de los anillos aparecen los carbonos y el oxígeno ocupando la sexta posición en la forma piranósica y la quinta en la forma furanósica. Cada carbono de los anillos tiene sus sustituyentes -OH y H, que ocupan sus respectivas posiciones espaciales. En estas representaciones espaciales, los hidroxilos y radicales de hidrógeno que se representaban en las fórmulas de Haworth hacia arriba o hacia abajo del anillo, ahora ocupan posiciones ecuatoriales (casi paralelas al plano de los anillos) y representadas por trazos discontinuos, y las axiales (casi perpendicular al plano de los anillos) y en trazos continuos.

Monosacáridos ácidos. Son aquellos monosacáridos que tienen alguno de sus grupos funcionales oxidados. Casi siempre los monosacáridos ácidos se encuentran oxidados en su función carbonilo o en su último carbono en el que se pierde la función hidroxilo y aparece la función carboxilo. Así se forman los ácidos aldónicos, los ácidos urónicos y los ácidos aldáricos. Los ácidos aldónicos tienen en vez del grupo aldehído, un grupo carboxilo; los ácidos urónicos mantienen el grupo carbonilopero tienen en el otro extremo un grupo carboxilo; los ácidos aldáricos presentan un grupo carboxilo en cada uno de los extremos.



Algunos de estos azúcares ácidos, aparte de formar oligosacáridos y polisacáridos, tienen funciones especiales. La vitamina C se relaciona con los ácidos aldónicos. Esta vitamina o ácido L-ascórbico puede deshidrogenarse y formar el ácido L-deshidroascórbico. Estas dos formas son activas, pero si este último se hidrata y se transforma en el ácido L-dicetogulónico, pierde su actividad vitamínica.

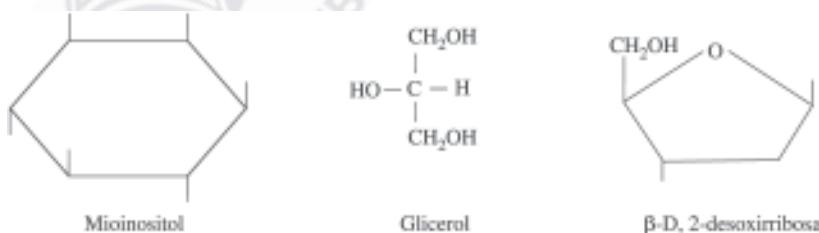


Esta vitamina o ácido L deshidroascórbico no se sintetiza en algunos animales como el cobayo, el mono y el hombre, por lo que hay que ingerirla con los alimentos. Su carencia ocasiona una enfermedad, el escorbuto (capítulo 73).

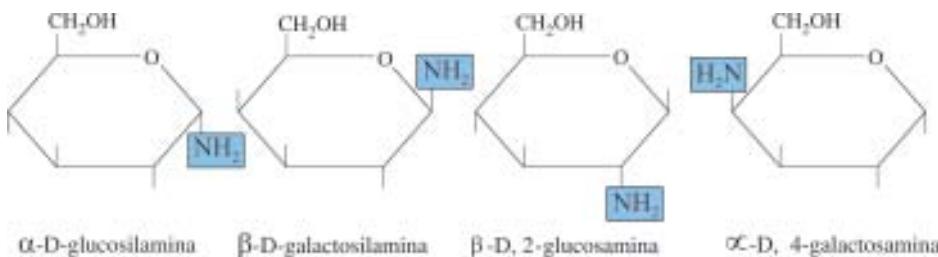
Entre los ácidos urónicos debemos señalar al ácido glucurónico. Este se une a diversos productos catabólicos que son poco solubles en solventes acuosos, unidos a este compuesto son solubles en la sangre y por ello pueden ser eliminados del organismo fácilmente por la orina. Ejemplo de ello es la bilirrubina, que de por sí es insoluble en la sangre, sin embargo, como diglucuronato de bilirrubina puede ser eliminada por la orina a través del riñón. Así mismo ocurre con diversos productos catabólicos de algunas hormonas esteroideas o de algunas sustancias de origen exógeno. La conjugación de estos compuestos con el ácido glucurónico es parte de los procesos de detoxificación.

Polialcoholes. Los polialcoholes se forman por la reducción de los grupos carbonilos de los monosacáridos. Uno de ellos es el gliceraldehído que proviene de la reducción de la dihidrioxiacetona o del gliceraldehído, y el derivado de la D-glucosa es el D-glucitol, también llamado L-sorbitol. El inositol proviene de la reducción del ciclo hexano y es un factor de crecimiento en algunos organismos. El mioinositol, un isómero del inositol, forma parte de moléculas lipídicas. Un derivado de este, el trifosfato de inositol, interviene en algunos mecanismos de transmisión de señales desencadenadas por algunas hormonas.

Aunque no constituye un polialcohol, también por reducción, en este caso del carbono 2 de la ribosa se forma la desoxirribosa, componente de los desoxirribonucleótidos y por ende del ADN.



Azúcares aminados. Se forman por la reacción de los monosacáridos con el amonio. Los más abundantes son los derivados aminados de la glucosa y de la galactosa. La sustitución del hidroxilo anomérico da lugar a la glucosilamina o a la galactosilamina. Si la sustitución ocurre en cualquier otro hidroxilo se forman compuestos como la glucosamina o la galactosamina.

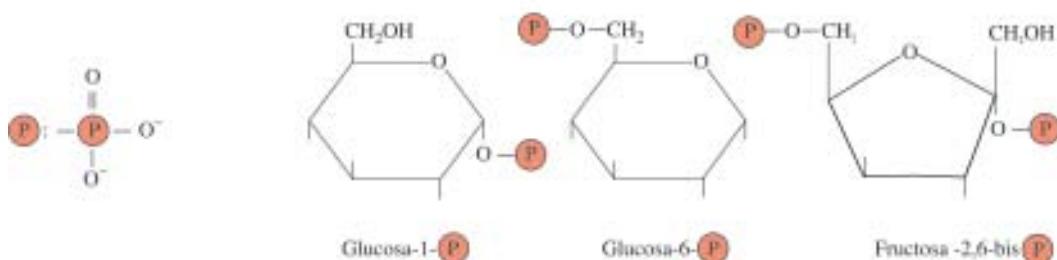


De estos compuestos los dos últimos son componentes frecuentes de los oligo y polisacáridos.

A su vez el grupo amino puede acetilarse y se forman los N-acetilmonosacáridos.

Ésteres fosfóricos de los monosacáridos. Estos se forman al reaccionar el ácido fosfórico con algunos de los hidroxilos de los monosacáridos, incluyendo el hidroxilo anomérico.

Los monosacáridos son metabolizados dentro de la célula en forma de ésteres fosfóricos. La primera transformación que sufre cualquier monosacárido al entrar a la célula es su conversión en su éster fosfórico. Así es como los reconocen las enzimas que los transformarán para ser utilizados en los diversos procesos metabólicos que ocurren en las células.

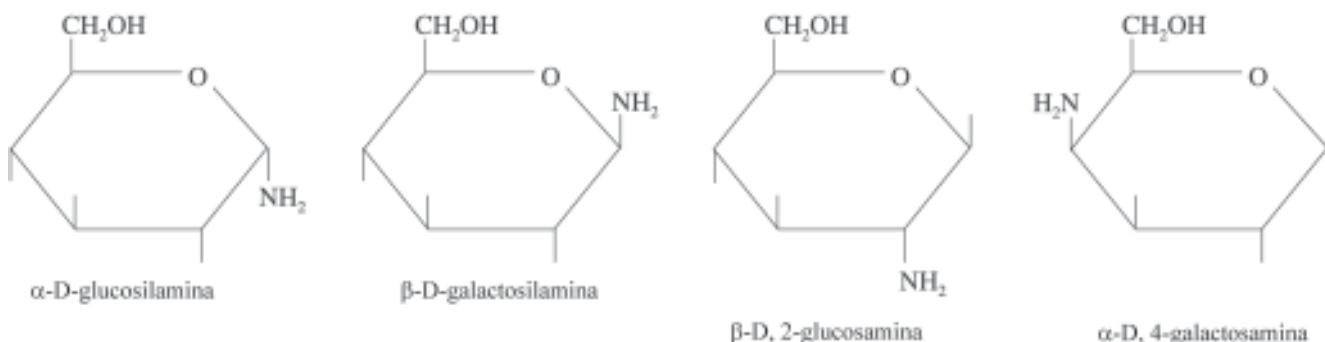


Derivados glicosídicos

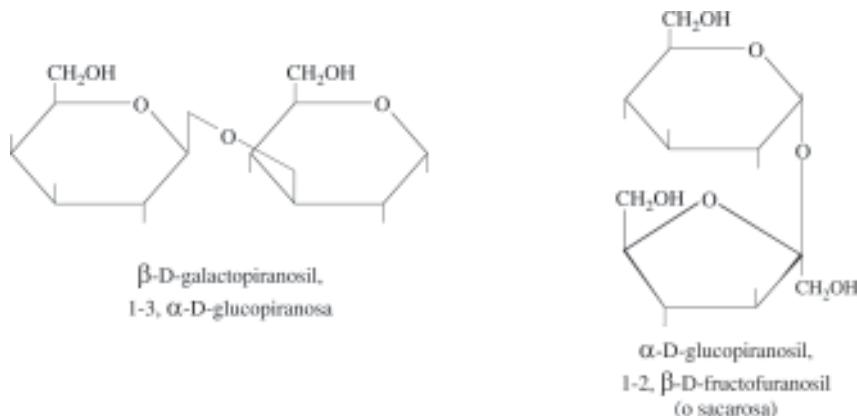
La reacción que experimenta el hidroxilo anomérico con otro hidroxilo de cualquier otro compuesto da lugar a un acetal, y si este segundo hidroxilo pertenece a otro monosacárido, el enlace acetálico toma el nombre de enlace O-glicosídico. Este es un enlace covalente y fuerte, nos interesa en particular por ser el que une los monosacáridos simples o derivados entre sí, para dar origen a los disacáridos (dos monosacáridos unidos entre sí), a los oligosacáridos (en general menores que 10 monosacáridos) y a los polisacáridos (más de 10 monosacáridos).

La nomenclatura de disacárido se conforma de la manera siguiente:

1. Se nombra primero con la terminación piranosil o furanosil, al monosacárido que aporta en el enlace el hidroxilo anomérico.
2. Se señala ordenadamente el número de los dos carbonos que intervienen en el enlace, separados por un guion.
3. El segundo monosacárido si no interviene su carbono anomérico en el enlace, no cambia su nombre, pero si además interviene el carbono anomérico en el enlace, también su terminación es piranosil o furanosil.

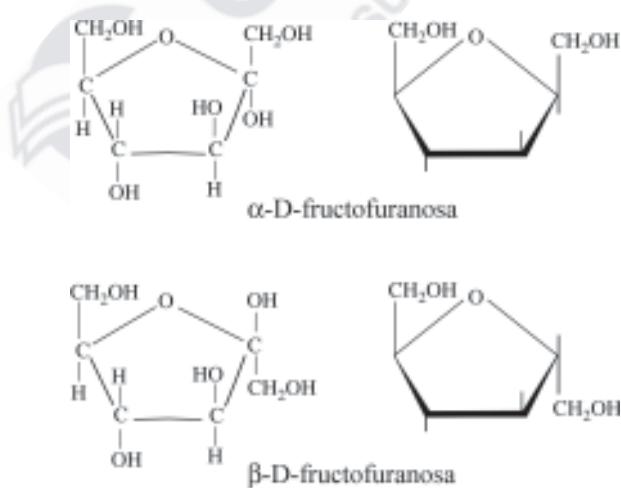


Se pueden formar diversos tipos de enlaces glicosídicos en dependencia de que el OH anomérico es α o β y de la posición del carbono donde se encuentre el hidroxilo que va a formar parte del enlace. Así se tienen enlaces α 1-3, α 1- β 2, y otros.



Cuando el enlace glicosídico se forma entre el hidroxilo anomérico con el nitrógeno de un compuesto que lo posee, entonces el enlace que se forma es el N-glicosídico. Este es el enlace que se forma en la glicosilamina y la galactosilamina (ver azúcares aminados).

También es el enlace que se forma en los nucleósidos y nucleótidos entre el azúcar (ribosa o desoxirribosa) con los anillos nitrogenados (adenina, guanina, citosina, timina y uracilo) de estos compuestos muy importantes que son los precursores de los ácidos nucleicos (capítulo 8).



Carácter reductor

Cuando se interconvierten las aldosas en cetosas y viceversa en medio alcalino, se forma un compuesto intermedio, el enediol, y en esta transformación se forma el aldehído libre, que no está comprometido en el enlace hemiacetal, y es en esta forma libre un reductor. Los monosacáridos en solución alcalina reducen a los iones de Cu^{2+} para formar complejos coloreados. Esta propiedad es utilizada en algunas reacciones para identificarlos y cuantificarlos. Sobre esta base se fundamenta la reacción con el reactivo de

Benedict, cuyos iones Cu^{2+} resultan reducidos a Cu^+ en presencia de un azúcar reductor. La reacción de Benedict es muy utilizada por los diabéticos para conocer sus niveles de glucosa en orina. Del color de la reacción del reactivo de Benedict con la orina se infiere si las cantidades de glucosa que tienen en sangre son altas y de ahí, saber las cantidades de insulina que deben inyectarse y qué alimentos ingerir en el día. Si la reacción es azul, la cantidad de glucosa en sangre está bien y si es roja, es muy alta; colores intermedios son el amarillo y el naranja.

Los monosacáridos pierden su carácter reductor cuando el OH del carbono anomérico se encuentra sustituido o comprometido en un enlace, como es el caso del enlace glicosídico.

Funciones de los monosacáridos

En los organismos vivos los monosacáridos cumplen diversas funciones. Son utilizados como energéticos, al ceder la energía contenida en sus enlaces en reacciones que la requieran; son precursores de los homopolisacáridos que sirven de almacenes de energía, y cuando esta es necesaria se degradan y los monosacáridos constituyentes se usan como fuente de energía, pues en su oxidación completa hasta $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ se forman cantidades apreciables de ATP. A lo largo de este proceso oxidativo se constituyen compuestos intermediarios no glucídicos y por ello cuando existen excesos de glúcidos de la dieta, estos compuestos pueden ser transformados en lípidos que se almacenan en el tejido adiposo. Los monosacáridos mediante diversas reacciones pueden transformarse en aminoácidos o formar parte de cofactores, así como de otras estructuras más complejas (glicoproteínas, glicolípidos y nucleótidos), y son los precursores de los oligo y polisacáridos. Dos monosacáridos, la ribosa y la desoxirribosa, forman parte de los nucleótidos que son los precursores de los ácidos nucleicos, las macromoléculas responsables de la conservación y transmisión de la información genética.

En resumen, como los monosacáridos cumplen múltiples funciones: son energéticos, cofactores y precursores de múltiples biomoléculas, entre otras, por esto se dice que estos compuestos cumplen con el *principio de multiplicidad de utilización*.

Resumen

Los monosacáridos son los glúcidos más simples, son las unidades estructurales de los demás componentes de los glúcidos: los oligosacáridos y los polisacáridos. Los monosacáridos se clasifican en simples y derivados.

Los monosacáridos simples son polihidroxialdehídos o polihidroxiacetonas, pueden tener tres o más unidades carbonadas. Los más abundantes en los organismos vivos son los de tres, cuatro, cinco y seis átomos de carbono y pertenecen a la serie D. Poseen carbonos asimétricos, por lo que desvían el plano de vibración de la luz polarizada, y los de igual número de carbonos y función carbonilo son estereoisómeros entre sí.

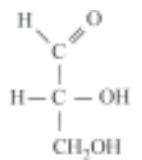
Los monosacáridos simples se ciclan al formarse un hemiacetal interno. Esto genera un nuevo centro de asimetría y se forman los anómeros α y β .

Los monosacáridos derivados son los que se forman: por la oxidación de sus grupos funcionales (monosacáridos ácidos), por la reducción de sus grupos carbonilos (polialcoholes), por sustituciones de grupos funcionales o hidrógenos por grupos aminos (azúcares aminados) y por adición de grupos fosfatos mediante enlaces ésteres (azúcares fosfatados). Los monosacáridos pueden reaccionar entre sí y formar el enlace O-glicosídico que origina los oligo y polisacáridos. También pueden reaccionar con compuestos nitrogenados y formar el enlace N-glicosídico.

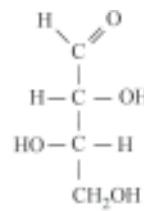
Los monosacáridos cumplen con el principio de multiplicidad de utilización: al hidrolizarse sus enlaces con fosfatos ceden energía a reacciones que la necesitan; al degradarse brindan energía, pueden formar parte de otros compuestos más complejos como son los nucleótidos (precursores de los ácidos nucleicos); parte de su cadena puede transformarse en compuestos no glucídicos como lípidos y aminoácidos, y constituyeron precursores de los oligo y polisacáridos.

Ejercicios

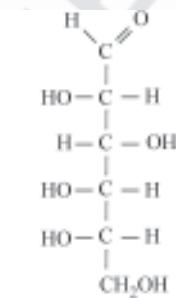
1. ¿Qué relación existe entre monosacáridos, oligosacáridos y polisacáridos?
2. ¿Qué características estructurales tienen los monosacáridos simples?
3. ¿Cuáles son las fuentes de variación que permiten clasificar a los monosacáridos simples? Atendiendo a estas fuentes de variación describa cómo se clasifican estas biomoléculas.
4. ¿A qué serie estereoquímica pertenecen los monosacáridos presentes en mayor abundancia en la naturaleza?
5. ¿Cuál de los siguientes monosacáridos pertenecen a la serie D?



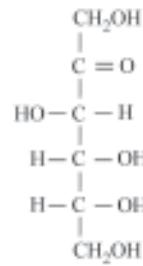
(1)



(2)



(3)



(4)

6. Represente dos diastereoisómeros y dos epímeros de la D-glucosa.
7. Transforme la D-galactosa y la D-ribulosa a su forma cíclica.
8. Represente los anómeros α y β de la D-manosa.
9. Diga qué se entiende por monosacáridos derivados y cite ejemplos particulares de cada tipo.
10. Forme el enlace glicosídico β 1-4 entre la D-galactosa y la D-glucosa; y el α 1- β 2, entre la D-glucosa y la D-fructosa.
11. Fundamente por qué los monosacáridos cumplen con el principio de multiplicidad funcional.

Nucleótidos

Los nucleótidos son compuestos nitrogenados de bajo peso molecular . La función más relevante de los nucleótidos es ser los precursores de los ácidos nucleicos que son las macromoléculas responsables de la conservación, transmisión y expresión de la información genética. Existen dos tipos de ácidos nucleicos: los ácidos desoxirribonucleicos (ADN) y los ácidos ribonucleicos (ARN). Los nucleótidos que forman alADN son los nucleótidos de desoxirribosa y los delARN son los de ribosa.

Estos precursores tienen también otras funciones importantes como la transferencia de energía metabólicamente útil, entre otras, por lo que cumplen con el principio de multiplicidad de utilización.

Al compararlos con los demás precursores de macromoléculas (los monosacáridos y los aminoácidos) los nucleótidos son más complejos, pues están formados por una base nitrogenada, un azúcar y uno o varios grupos fosfato.

En este capítulo se presentarán el concepto, la estructura y clasificación, así como las propiedades y funciones de estos precursores de los ácidos nucleicos.

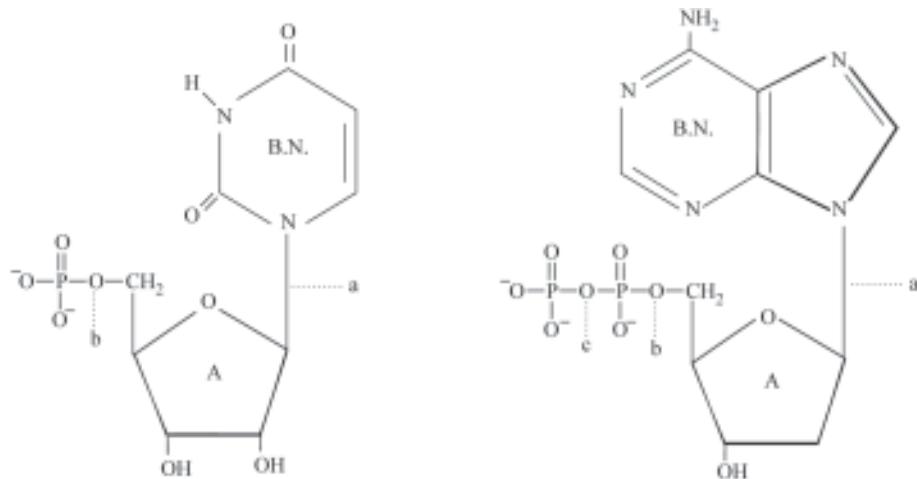
Concepto

Los nucleótidos son compuestos de bajo peso molecular; están formados por una base nitrogenada, por un azúcar y por uno, dos o tres grupos fosfato.

La base nitrogenada está unida al azúcar mediante un enlace β -N-glicosídico y el enlace que une a la pentosa con el grupo fosfato es un éster fosfato. Si el nucleótido posee más de un grupo fosfato, estos se unen entre sí por enlaces anhídridos de ácidos.

En la figura 8.1 se observa la representación estructural de dos nucleótidos, en ambos se encuentran los tres componentes antes mencionados y se puede apreciar que existen diferencias entre ellos, es decir hay fuentes de variación. En estas desigualdades se basan las clasificaciones de los nucleótidos.

Fig. 8.1. Se muestran los tres componentes de los nucleótidos: la base nitrogenada (BN), el azúcar (A) y los grupos fosfato. Los enlaces entre los componentes están representados por: a) enlaces N-glicosídicos, b) enlaces éster fosfato y c) anhídrido de ácidos. En esta figura y otras del capítulo se simplifican las estructuras al omitirse los carbonos de los anillos y los hidrógenos que completan la cuarta valencia de estos carbonos (así se representan las figuras del resto del capítulo).



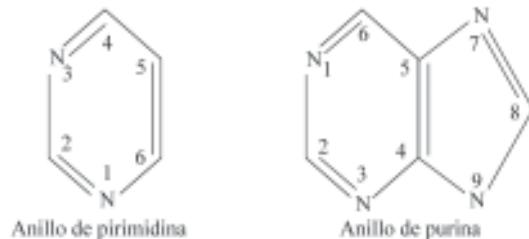
Clasificación

Si se comparan los nucleótidos anteriores se puede observar que la base nitrogenada no es la misma, que el azúcar es diferente y que el número de grupos fosfato es distinto; por lo tanto se pueden clasificar de tres maneras, de acuerdo con estas diferencias: según la base nitrogenada, el tipo de azúcar y el número de grupos fosfatos.

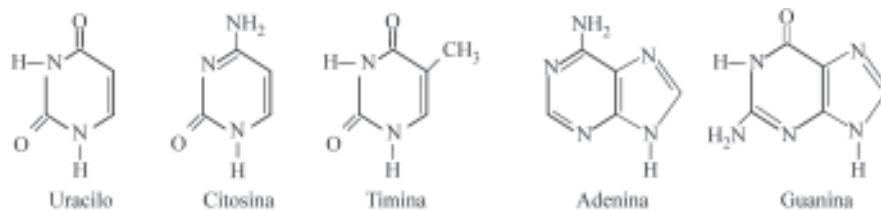
Según la base nitrogenada

Se clasifican en nucleótidos purínicos y pirimidínicos según el tipo de base nitrogenada que contengan. Estas bases pueden ser derivadas de purinas o de pirimidinas.

En la figura siguiente se puede ver la numeración de los elementos que forman los anillos en ambas bases nitrogenadas. Los azúcares se unen por el N-1 en los nucleótidos pirimidínicos y por el N-9 en los purínicos.

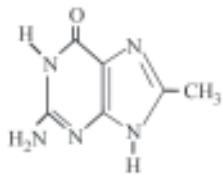


Hay tres bases nitrogenadas pirimidínicas y dos purínicas que se presentan con mayor frecuencia.

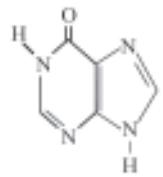


Se les llama amínicas a la citosina y a la adenina porque tienen un grupo amino: en el carbono 4, la primera, y en el carbono 6, la segunda. Se les denomina cetónicas al uracilo, timina y guanina ya que tienen función cetónica: en el carbono 4, las pirimidínicas, y en el 6, las purínicas.

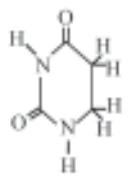
Existen otras bases menos frecuentes, bases raras o poco comunes que se presentan en algunos tipos de ácidos nucleicos; a continuación se presentan algunas de ellas:



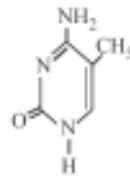
Metilguanina



Hipoxantina

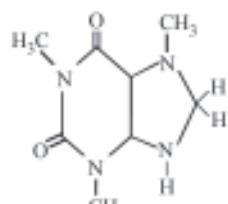


Dihidrouracilo

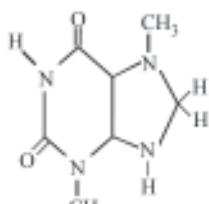


Metilctosina

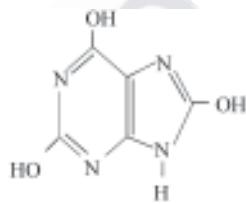
Además existen algunas no presentes en los ácidos nucleicos, que tienen otras funciones.



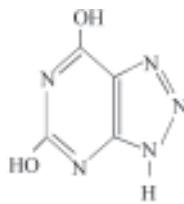
Cafeína



Teobromina



Ácido úrico

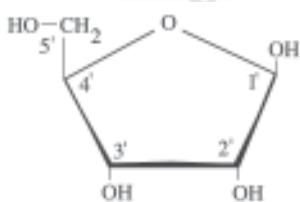


8-azaguanina

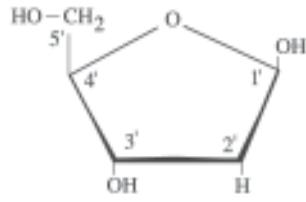
La cafeína y la teobromina se encuentran en el café y el té, respectivamente, y son una de las sustancias activas presentes en ellos. El ácido úrico es un producto del catabolismo de las purinas, además tiene propiedades antioxidantes. La 8-azaguanina es un antimetabolito, esta droga es utilizada en el tratamiento de algunos tipos de cáncer

Según el tipo de azúcar

Se clasifican en ribonucleótido, si poseen el azúcar ribosa, y desoxirribonucleótido, si contienen como monosacárido a la desoxirribosa; los primeros forman parte del ARN y los segundos del ADN.



β -D-ribofuranosa
(riboza)



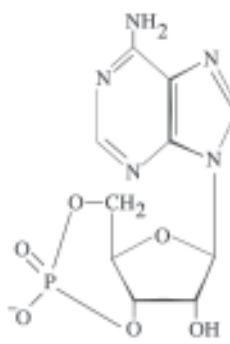
β -D-desoxiribofuranosa
(desoxirribosa)

La ribosa y la desoxirribosa son aldopentosas de la serie D, y al formarse el enlace con la base nitrogenada el hidroxilo anomérico queda en posición β (capítulo 7). La numeración de los carbonos en estos anillos se señala con una comilla para diferenciarla de la numeración de los elementos de las bases nitrogenadas, que se numeran sin la comilla. La numeración del azúcar comienza por el carbono anomérico (capítulo 7). El enlace β -N-glicosídico se establece entre el carbono 1' de las pentosas con el nitrógeno 9 en las bases pirimidínicas y con el nitrógeno 6 en las bases purínicas (Fig. 8.1).

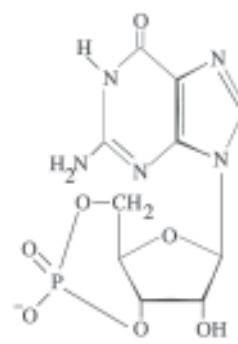
Según el número de fosfatos

Pueden ser mono, di o trifosfatados si presentan en el carbono 5' uno, dos o tres grupos fosfato, respectivamente.

El primer fosfato se une al carbono 5' del azúcar por enlace éster fosfórico, el segundo fosfato se une al primero, y el tercero al segundo mediante enlaces anhídridos de ácido. También existen otros nucleótidos en los cuales la posición del fosfato puede variar, por lo que se encuentra en el carbono 2' o 3'. Dos nucleótidos cíclicos desempeñan una función importantísima en la regulación del organismo: el 3'-5'adenosín monofosfato (AMP_c) y el 3'-5'guanosín monofosfato (GMP_c), segundos mensajeros en la acción hormonal (capítulo 59).



AMP_c



GMP_c

Nucleósidos

Formados por la unión de la base nitrogenada y el azúcar pero carecen de fosfato. Algunos antibióticos como la puromicina producida por un hongo, son nucleósidos.

Nomenclatura

En la tabla 8.1 se muestra la nomenclatura de las seis bases nitrogenadas más comunes, con la nomenclatura de los nucleósidos y nucleótidos que ellas forman.

En esta tabla se asume que el azúcar es la ribosa, excepto para la base timina. Si el azúcar es desoxirribosa debe nombrarse acorde con el criterio empleado para el caso de la timina, por ejemplo, desoxiadenosín trifosfato (dATP).

Propiedades fisicoquímicas de los nucleótidos

Estas propiedades dependen de sus tres componentes y son las siguientes: carácter hidrofilico, propiedades eléctricas, tautomería y absorción de la luz ultravioleta.

Carácter hidrofílico

El azúcar como la base nitrogenada posee grupos polares que hacen que estos compuestos sean solubles en solventes polares. A esta propiedad contribuyen también el o los grupos fosfatos.

Tabla 8.1. Nomenclatura de los nucleósidos y nucleótidos comunes

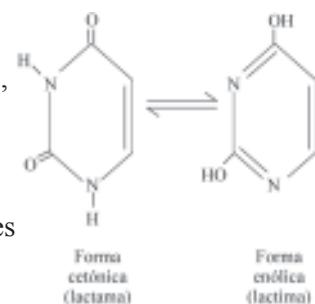
Base	Nucleósido	Nucleótido con un fosfato	Nucleótido con dos fosfatos	Nucleótido con tres fosfatos
Adenina	Adenosina	Adenosín monofosfato AMP (ácido adenílico)	Adenosín difosfato ADP	Adenosín trifosfato ATP
Guanina	Guanosina	Guanosín monofosfato GMP (ácido guanidílico)	Guanosín difosfato GDP	Guanosín trifosfato GTP
Hipoxantina	Inosina	Inosín monofosfato (IMP) (ácido inosínico)	Inosín difosfato (IDP)	Inosín trifosfato (ITP)
Uracilo	Uridina	Uridín monofosfato (UMP) (ácido uridílico)	Uridín difosfato (UDP)	Uridín trifosfato (UTP)
Citosina	Citidina	Citidín monofosfato (CMP) (ácido citidílico)	Citidín difosfato (CDP)	Citidín trifosfato (CTP)
Timina	Timidina	Desoxitimidín monofosfato (dTMP) (ácido desoxitimidílico)	Desoxitimidín difosfato (dTDP)	Desoxitimidín trifosfato (dTTP)

Propiedades eléctricas

Sus propiedades eléctricas dependen de los grupos fosfato. Estos grupos a pH fisiológico se encuentran disociados y les brindan cargas negativas al nucleótido, por lo que los nucleótidos son aniones. Estas cargas negativas serán responsables del carácter polianiónico de los ácidos nucleicos.

Tautomería

Por poseer los heterociclos hidroxilos unidos a un carbono que tiene un doble enlace, estos compuestos presentan el tipo de isomería lactama-lactima; así en solución acuosa, como se muestra en la figura, la forma enólica (lactima) es la que posee el hidroxilo y el doble enlace y la cetónica (lactama) es la que posee el grupo cetónico y no presenta el doble enlace en el anillo. En solución y a un pH cercano a la neutralidad son más estables las lactamas.

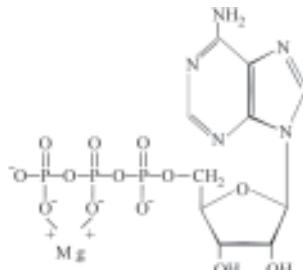


Absorción de la luz ultravioleta

Esta propiedad se debe a los anillos presentes en las bases nitrogenadas, los que absorben la luz ultravioleta a longitudes de onda de 260 nm. Esta propiedad permite cuantificarlos en solución, así como también detectar su presencia en cromatogramas y electroferogramas (capítulo 9) sobre papel o acetato de celulosa; se observan como manchas oscuras sobre la fluorescencia que toma el papel irradiado con este tipo de longitud de onda. Parte de esta absorción se pierde cuando estos anillos forman parte de los ácidos nucleicos (capítulo 11).

Otras características químicas y estructurales de los nucleótidos

Los nucleótidos pueden formar enlaces covalentes o interacciones con diversos compuestos y entre ellos, además de constituir enlaces éster por los hidroxilos del azúcar o por los grupos fosfato; cuando son aniones, pueden formar interacciones salinas con diversos cationes (proteínas catiónicas). Un requisito en su participación como sustratos o cofactores en reacciones enzimáticas es su unión con iones divalentes como el Mg^{2+} .



La presencia en sus heterociclos de elementos como el oxígeno y el nitrógeno, que poseen pares de electrones libres, les posibilita formar puentes de hidrógeno con diversos compuestos, incluso entre ellos. Así, una de las interacciones que mantienen la estructura del ADN es la formación de puentes de hidrógeno entre las bases complementarias de sus dos cadenas (capítulo 11).

Al encontrarse las bases nitrogenadas muy cerca unas de otras, cuando forman la estructura del ADN de doble hélice, se amontonan unos anillos sobre otros, se forman entre ellos gran número de interacciones de Van der Waals y en ese ambiente hidrofóbico se establecen las interacciones hidrofóbicas que también son importantes en el mantenimiento de la estructura tridimensional de esta macromolécula (capítulo 11).

Una de las características estructurales en los nucleótidos es la posición relativa que ocupan en el espacio tridimensional los dos anillos que lo forman: el anillo del azúcar y el de la base nitrogenada. Cada uno de estos anillos son casi planos, pero los dos no ocupan el mismo plano espacial, son perpendiculares entre sí, de forma que el hidroxilo o hidrógeno de la posición 2' de la pentosa queda cerca del nitrógeno 3 (en las purinas), o del oxígeno 2 (en las pirimidinas) (Fig. 8.2).

Muchas de estas propiedades son determinantes en la conformación estructural de las macromoléculas (ADN y ARN) que ellos forman.

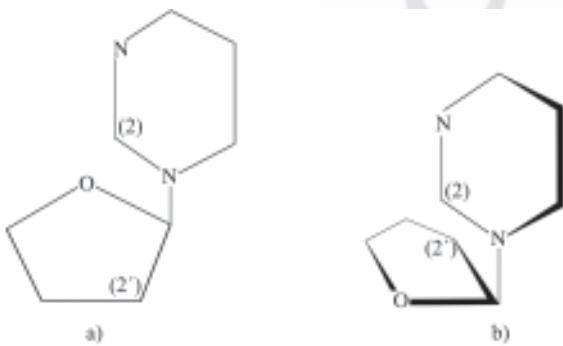


Fig. 8.2. Relación espacial entre los anillos de la base nitrogenada de pirimidina y del azúcar. a) Están representados en el plano del papel. b) Esquema que representa los dos anillos perpendiculares entre sí, la posición 2 de la base nitrogenada se encuentra cerca de la posición 2' del azúcar.

Formación del enlace diéster fosfato

Las unidades estructurales de los ácidos nucleicos se unen entre sí mediante el enlace fosfodiéster o enlace 3'-5' diéster fosfato. Este enlace se forma al reaccionar el fosfato del carbono 5' de un nucleósido trifosfatado con el 3' hidroxilo del otro nucleósido, con la pérdida de un pirofosfato.

Este enlace es covalente, fuerte; los compuestos que se forman son estables en solución acuosa y mantienen la característica de seguir siendo polianiones (Fig. 8.3).

Análogos de nucleótidos artificiales

Como producto de numerosas investigaciones se ha formado una serie de análogos estructurales, nucleótidos artificiales con fines terapéuticos. Estos antimetabolitos inhiben la duplicación del ADN, por lo que provocan la detención de la mitosis de las células

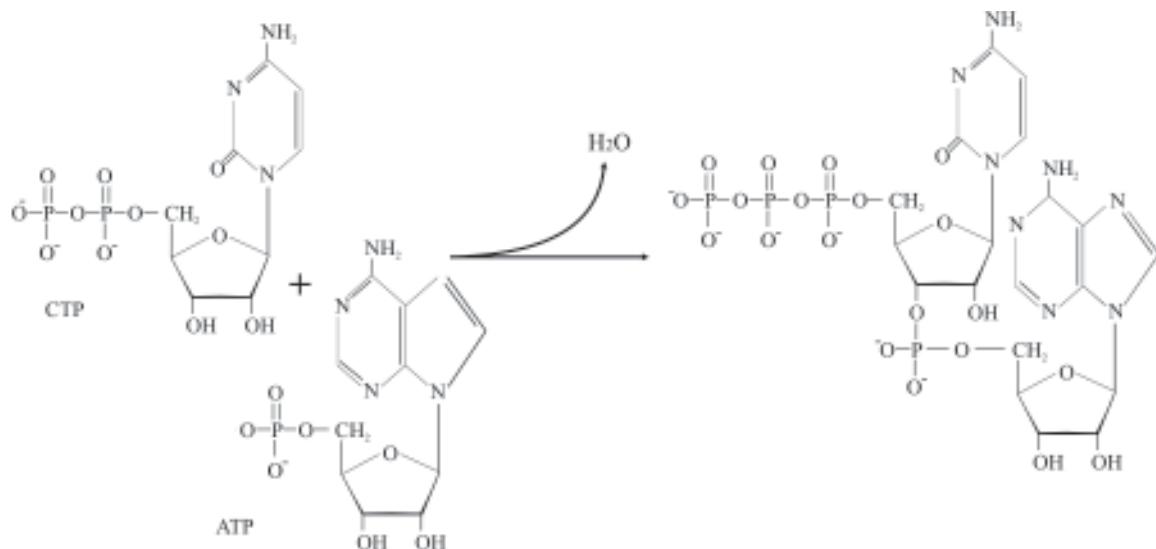


Fig. 8.3. Formación del enlace fosfodiéster entre dos nucleótidos. Al formarse el enlace, observe cómo por cada uno de los extremos pueden condensarse más moléculas de nucleótidos, ya que por uno de los extremos queda un fosfato en 5' y por el otro un hidroxilo en 3' libre, de ahí que se refiera a los extremos 3' y 5' en los oligonucleótidos.

cancerosas que tienen mayor velocidad de multiplicación que las células normales. Entre ellos se utilizan como agentes anticancerosas la 6-mercaptopurina, el 5-fluorouracilo, la 5-yodo-2'-desoxiuridina. Como agentes antivirales podemos citar la azidotimidina (AZT) y la didesoxiinosina (ddl) que interfieren con la replicación del virus de inmunodeficiencia humana (VIH), agente causal del sida.

En el tratamiento de la gota se usa el allopurinol (con semejanza estructural a la hipoxantina) que inhibe la xantina oxidasa.

Funciones de los nucleótidos

Los nucleótidos cumplen con *el principio de multiplicidad de utilización*. Son los precursores de los ácidos nucleicos que son las macromoléculas responsables de la conservación, transmisión y expresión de la información genética.

Los nucleótidos, al hidrolizarse los enlaces entre sus grupos fosfatos (enlaces anhídrido de ácido), liberan energía que es utilizada por diversas reacciones endergónicas (reacciones que requieren energía) como son las reacciones de síntesis y transporte de sustancias a través de las membranas. Los nucleótidos forman parte de otros compuestos más complejos como algunos cofactores; en diferentes reacciones pueden ceder parte de su molécula (grupos fosfatos, pirofosfatos, adenilo o adenosilo) que van a integrar otras biomoléculas.

Algunos nucleótidos son reguladores del metabolismo al ser segundos mensajeros en la acción hormonal o bien cuando actúan como activadores o inhibidores en la acción enzimática. También son transportadores de grupos en reacciones de síntesis, así la glucosa es aportada por la UDP-glucosa, al sintetizarse el glucógeno y la colina es cedida por la CDP-colina en la síntesis de los fosfoglicéridos.

Resumen

Los nucleótidos son biomoléculas formadas por una base nitrogenada, un azúcar y uno o varios grupos fosfato. Las bases nitrogenadas más abundantes son la adenina y la guanina (bases purínicas) y la citosina, el uracilo y la timina (bases pirimidínicas). El azúcar que las

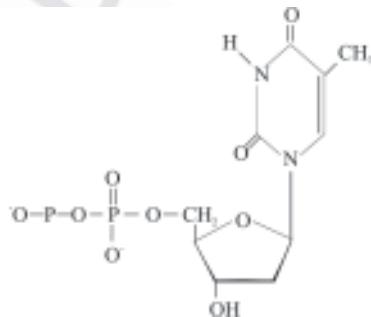
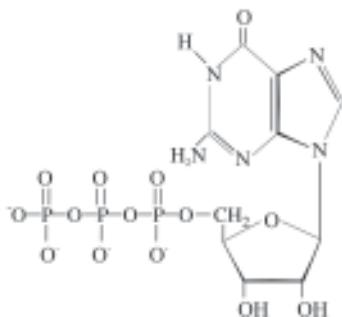
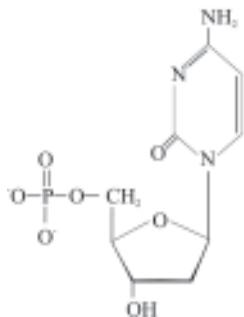
forma es la ribosa o la desoxirribosa. El enlace que une la base con el azúcar es el β -N-glicosídico; el azúcar y el fosfato se unen por enlace éster fosfato. Los enlaces entre los grupos fosfatos son del tipo anhídrido de ácido.

Los nucleótidos cumplen con el principio de multiplicidad de utilización Almacenan y transfieren energía metabólicamente útil, forman parte estructural de otros compuestos; ceden parte de su estructura en la síntesis de otras biomoléculas; transfieren compuestos para la síntesis de otros más complejos; algunos son reguladores del metabolismo y constituyen las unidades estructurales del ADN y ARN. Los nucleótidos se polimerizan por el enlace diéster fosfato o fosfodiéster 3'-5' para formar los ácidos nucleicos.

Algunos análogos artificiales de los nucleótidos se emplean para combatir múltiples enfermedades como el cáncer, la gota y enfermedades virales.

Ejercicios

1. Represente la estructura del ATP y CDP.
2. ¿Los nucleótidos anteriores serían los mismos que se encontrarían en el ADN y el ARN?
3. Analice la estructura de los nucleótidos siguientes:



- a) ¿Cuáles son sus características comunes?
- b) ¿Cuáles son sus características diferentes?
- c) Clasifíquelos según criterios tratados.
- d) Nómbrerlos.
4. Represente el dinucleótido que se forma al unirse el dAMP con el dTMP en un enlace 3'-5' diéster fosfato.
5. ¿Por qué cumplen los nucleótidos con el principio de multiplicidad de utilización?

Características generales de las macromoléculas

Muchas son las características que distinguen a los seres vivos de la materia inanimada, las cuales fueron estudiadas en los capítulos iniciales de este libro. Desde el punto de vista de su composición lo más relevante es la existencia de las macromoléculas, que son organizaciones en las cuales participan cientos o miles de átomos con una compleja distribución tridimensional. Esta extraordinaria complejidad escapa a las concepciones estructurales de la química tradicional y su estudio es por derecho propio, patrimonio exclusivo de la bioquímica.

El desarrollo del conocimiento bioquímico ha marchado paralelo al conocimiento de las macromoléculas y viceversa. Con el transcurso de los años cada vez fue más evidente que los métodos y procedimientos de las químicas general y orgánica eran insuficientes para tratar este problema. Los bioquímicos han tenido que diseñar métodos específicos de análisis de las macromoléculas y, en muchas ocasiones, contribuir directa o indirectamente a la producción de equipos de laboratorio que les permitieran ensanchar la potencia de sus sentidos, para penetrar en este complejo campo. Esto trajo como consecuencia que en esa lucha por desentrañar la estructura de las macromoléculas, la bioquímica fuera creando su propio ‘ársenal’ metodológico e instrumental, lo que equivale a decir que se fue haciendo cada vez más una ciencia independiente.

Los primeros resultados exitosos mostraron una realidad más que asombrosa. Las primeras imágenes reconstruidas a partir de los datos experimentales mostraban unas moléculas de enorme tamaño con plegamientos y replegamientos, a cuya organización parecía imposible aplicar lógica alguna; pero los intentos se repitieron, los métodos se ampliaron, los instrumentos se perfeccionaron y cada año se describía al menos la estructura tridimensional de un miembro más del grupo. Si los trabajos iniciales implicaron años, los actuales se hacen en meses y tal vez en el futuro se realicen en días. Hoy existe una gran colección de conocidas estructuras tridimensionales de macromoléculas, lo cual ha permitido penetrar en los secretos de su estructura o, al menos, en los principios generales que rigen su organización estructural y, a partir de ellos, conocer las formas peculiares de su funcionamiento.

En términos bioquímicos se identifican tres grandes familias de macromoléculas: las proteínas, los polisacáridos y los ácidos nucleicos. Para su estudio están dedicados los próximos capítulos. En este se presentarán aquellas características que en mayor o menor grado son comunes a todas ellas. Se tratará de presentar aquellas regularidades que subyacen en la organización estructural y hasta donde sea posible funcional, de las macromoléculas. Como sucede siempre en la vida, muchas de estas reglas tienen sus excepciones, las cuales en los casos necesarios también serán resaltadas no como una muestra más de la biodiversidad al nivel molecular sino también con el propósito lógico del empleo de la excepción para hacer más válida la regla.

Estas características generales serán presentadas, acompañadas de algunos procedimientos experimentales que han permitido su comprobación a través de la historia. En todos los casos no se evidenciará cómo el carácter explicado se cumple en todas y cada una de las macromoléculas, pero siempre se hará referencia por lo menos a una de ellas. Algunas de estas características no son tan evidentes en unas macromoléculas como en otras, por tanto, es preferible que en este momento solo queden enunciadas como generales y puedan demostrarse después al estudiar el capítulo correspondiente a cada una de ellas.

Características generales

Las biomacromoléculas poseen un conjunto de características que son comunes a todas ellas, lo cual permite un estudio sistemático del grupo que debe completarse después con el estudio de las especificidades de cada una; estas características son:

1. Elevado peso molecular.
2. Carácter polimérico.
3. Carácter uniforme.
4. Carácter lineal.
5. Carácter tridimensional.
6. Carácter informacional.
7. Tendencia a la agregación.
8. Relación estructura-función.

Estas son las características que serán estudiadas en este capítulo. Las específicas serán tratadas en los tres capítulos siguientes.

Elevado peso molecular

Las macromoléculas biológicas presentan un elevado peso molecular que está en el rango de 3 000 a varios millones.

Parece superfluo decir que las macromoléculas tienen elevado peso molecular, es una tautología, solo se pretende resaltar este carácter pues se trata posiblemente del más importante de todos los aspectos que se deben considerar en este tipo de componente molecular de los seres vivos.

La química tradicional estudia moléculas pequeñas, cuyos pesos moleculares alcanzan apenas cientos de unidades de masa atómica y en la mayoría de los casos el volumen molecular es poco importante para el estudio de las propiedades químicas de esos compuestos. La realidad de las macromoléculas es totalmente diferente.

El sistema internacional de unidades establece como unidad de masa atómica el dalton (D), que es equivalente a 1/12 del peso atómico del isótopo más abundante del carbono. Como todas las unidades esta admite múltiplos y submúltiplos de los cuales el más utilizado en bioquímica es el kilodalton (kD), que es igual a 1 000 D. Mientras los químicos trabajan con sustancias cuyas masas apenas alcanzan 1 kD, los bioquímicos enfrentan el estudio de sustancias con masas de más de 500 kD que son precisamente las macromoléculas. Aunque no existe un límite inferior bien definido, se consideran dentro del grupo de las macromoléculas aquellas sustancias con masas moleculares superiores a los 5 kD. Estos tamaños se manifiestan por propiedades que distinguen a este grupo de sustancias de forma muy especial, las cuales serán estudiadas posteriormente.

Carácter polimérico

Las macromoléculas biológicas se forman por la polimerización de compuestos con bajo peso molecular, unidos mediante enlaces covalentes.

Un polímero es una sustancia que se forma por la unión de varias moléculas más pequeñas, las cuales reciben el nombre de monómeros. Para ambos existe la relación entre el todo y la parte, por lo que las propiedades del polímero dependen en gran medida del tipo y la cantidad de los monómeros que lo constituyen, pero no exclusivamente de eso. En el polímero aparecen propiedades que no pueden deducirse directamente de las propiedades de los monómeros, se deben en gran parte a la manera en que estos monómeros están organizados en la formación del polímero. En la estructura del polímero se crean interacciones de atracción o de repulsión que le dan a este determinadas propiedades que los monómeros por separado no exhiben. Cuando dos monómeros se unen forman un dímero que en realidad se diferencia poco del monómero, con tres se forma un trímero que tampoco se diferencia mucho. Pero cuando el cúmulo cuantitativo de monómeros sobrepasa determinado límite, aparecen características cualitativas nuevas que son las propias del polímero. De todo lo anterior se deduce que las macromoléculas al poseer carácter polimérico van a guardar con sus precursores relaciones similares a las descritas y, por tanto, tendrán propiedades que no pueden explicarse directamente a partir de los monómeros constituyentes, y hace falta conocer la organización estructural del polímero para tener una idea exacta de ellas.

Carácter uniforme

Los monómeros que forman las macromoléculas biológicas son todos del mismo tipo.

Todas las biomacromoléculas son polímeros de sus monómeros constituyentes o precursores. Las proteínas son polímeros de aminoácidos; los polisacáridos, de monosacáridos y los ácidos nucleicos, de nucleótidos. Esta forma de organización les concede carácter uniforme, pues cada biomacromolécula se forma por la polimerización de precursores de la misma clase. Estos precursores se unen mediante una reacción de condensación, con pérdida de una molécula de agua o de pirofosfato, y quedan enlazados covalentemente, lo cual le concede fortaleza a la estructura.

Este enlace polimerizante es el más fuerte de todas las interacciones que se establecen entre los monómeros para formar la estructura del polímero, por eso resulta el más difícil de romper. En las proteínas es el enlace peptídico; en los polisacáridos, el glicosídico, y en los ácidos nucleicos, el fosfodiéster.

Estos tipos de enlaces no son particulares de las biomacromoléculas, pues aparecen en otros grupos de compuestos orgánicos, aquí reciben nombres específicos para realzar su importancia; el enlace peptídico es de tipo amida y el glicosídico, un acetálico. La sucesión de estos enlaces y los grupos entre los cuales se forman, determinan la existencia en la macromolécula de un eje covalente principal, que viene a ser algo así como la columna vertebral de su estructura.

Estos enlaces son, como ya se dijo, de tipo covalente y tienen al menos tres propiedades muy importantes para la existencia de las macromoléculas: son fuertes, con una energía de enlace superior a las $50 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$; muy estables en agua o disoluciones acuosas, por lo cual las macromoléculas suelen ser muy estables en los organismos vivientes, cuyo mayor componente es el agua, y poseen orientaciones espaciales definidas de acuerdo con el elemento químico de que se trate, por ejemplo, en el átomo de carbono con hibridación sp^3 , las valencias están orientadas hacia los vértices de un tetraedro regular.

Las características específicas de estos enlaces y su función en la estructura de las macromoléculas correspondientes serán estudiadas en los capítulos posteriores.

Carácter lineal

Salvo algunas excepciones, las macromoléculas biológicas tienen una estructura lineal, es decir, carecen de ramificaciones.

Aun cuando en su estructura existen otras posibilidades, casi siempre las macromoléculas son lineales. En este momento, dicha palabra tiene el sentido de carecer de ramificaciones y no se refiere a la forma de la molécula en el espacio. El carácter lineal se debe a que los monómeros se unen uno a continuación del otro y forman largas cadenas poliméricas sin la existencia de ramificaciones. La única excepción de esta regla aparece entre los polisacáricos, pues algunos tipos de estos compuestos presentan ramificaciones y en ocasiones muy abundantes. Es una ventaja la carencia de ramificaciones en proteínas y ácidos nucleicos, pero también es ventajosa la existencia de ramificaciones en algunos polisacáridos.

La formación del enlace polimerizante ocurre siempre entre dos grupos bien definidos de la estructura de los precursores; esto hace que todos los precursores que forman parte de la cadena polimérica tengan comprometidos sus dos grupos de enlace, uno con el precursor que le antecede y otro con el que le sucede, excepto el primero y el último que exhiben libre uno de los dos grupos. Como estos grupos libres son diferentes en cada extremo, las macromoléculas se caracterizan porque sus extremos no son iguales, lo cual expresa que tienen polaridad. Por lo general los extremos se nombran señalando cuál es el grupo libre.

Esta característica permite definir una dirección en la estructura del polímero, pues admite identificar cuál es el primer precursor y cuál es el último. Cuando dos cadenas poliméricas del mismo tipo se encuentran acomodadas una al lado de la otra, lo pueden hacer mediante dos formas: si el primer precursor de una molécula coincide con el primero de la otra (y por tanto, coinciden los dos últimos) se dice que las cadenas tienen una disposición paralela; en caso contrario se les denomina antiparalelas. Cuando entre dos macromoléculas existe una relación funcional, de forma tal que dado un orden para los

precursores en una de ellas es posible determinar el orden de los precursores de la otra, se dice que existe colinealidad entre ambas.

Tanto el carácter polimérico, como el uniforme y el lineal se resumen en la figura 9.1.

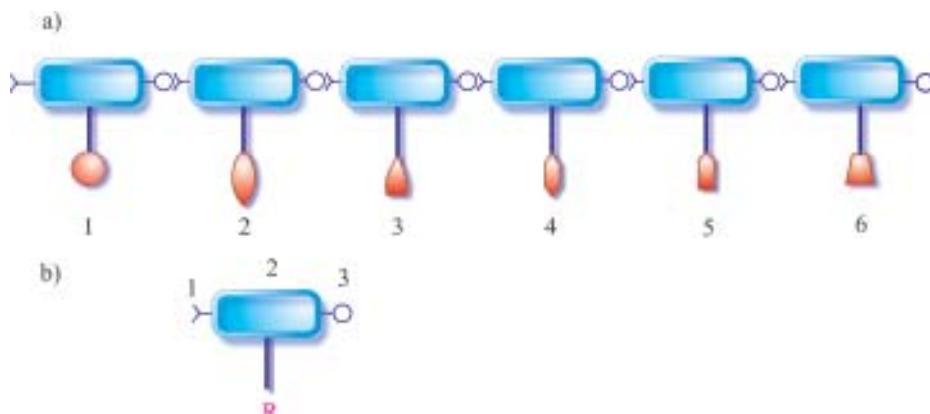


Fig. 9.1. El carácter polimérico. En a) se representa un esquema de un polímero formado por precursores de la misma clase, carácter uniforme. La cadena muestra de igual forma su carácter lineal, pues carece de ramificaciones. Como puede observarse el extremo numerado como 1 es diferente del 6, por tanto el polímero posee polaridad. La estructura general del precursor se muestra en b), donde se distingue el óvalo azul (2) que representa una parte de la estructura del precursor, común a todos los de su clase; la zona R representa la parte de la estructura diferente para cada precursor de una clase dada. También en b) se muestran los grupos de enlace identificados con los números 1 y 3. Se puede observar que en a) el precursor número 1 tiene libre el grupo 1, mientras el 6 tiene libre el grupo 3. Se puede afirmar que la molécula tiene polaridad 1 y 3.

Carácter tridimensional

Las macromoléculas biológicas presentan una estructura tridimensional compleja que es imprescindible para sus funciones.

Las macromoléculas poseen una estructura compleja con una organización espacial que se extiende en tres dimensiones; por supuesto que todos los cuerpos desde los más pequeños son tridimensionales, pero como en los casos anteriores se trata aquí de resaltar esta característica, pues merece especial atención para comprender la estructura y el funcionamiento de estas moléculas; tal es su complejidad, que para estudiar su organización tridimensional ha sido necesario introducir un sistema de estudios por niveles, que van desde el primario hasta el cuaternario, donde cada uno de ellos expresa un grado diferente de organización estructural. No en todas las macromoléculas estos niveles están perfectamente establecidos y se toman a las proteínas como sistema de referencia para el estudio de todas ellas.

El nivel primario o estructura primaria se refiere al orden o sucesión de los monómeros en el polímero.

Nivel primario. También llamado estructura primaria, se refiere al orden o sucesión de los monómeros en el polímero. Se origina como consecuencia de la reacción de polimerización y por tanto la interacción que lo mantiene es el enlace polimerizante. Ya se dijo que este enlace es el más fuerte de todos los que se forman en las macromoléculas, de lo cual se deduce que el nivel primario es el más estable de todos los niveles estructurales de las macromoléculas.

Teniendo en cuenta las diferencias entre los precursores que integran el polímero, las macromoléculas pueden dividirse en dos grandes grupos. El primer grupo estaría integrado por aquellas que están formadas por un solo precursor; recuérdese que el carácter uniforme establece que las macromoléculas están constituidas por precursores de la misma clase, por ejemplo, las proteínas por aminoácidos; pero en este caso se trata no del mismo tipo, sino del mismo precursor, o sea, una proteína hipotética que estuviera formada por la polimerización del mismo aminoácido. Este tipo de macromolécula solo

se ha encontrado entre los polisacáridos, por ejemplo, la quitina que forma parte del exoesqueleto de algunos invertebrados, constituida por la polimerización de la N-acetil-glucosamina; otros ejemplos son el almidón, el glucógeno y la celulosa que están formados solo por glucosa. En estos casos las moléculas exhiben una monotonía estructural total, ya que todos sus sectores son esencialmente iguales.

En otras ocasiones se produce la polimerización de un dímero, como se observa en las glicosaminoglicanas, por ejemplo, el ácido hialurónico es un polímero de ácido glucurónico y N-acetyl-glucosamina, en tanto, el dermatán sulfato resulta de la polimerización del disacárido constituido por el ácido L-idurónico y la N-acetyl-glucosamina-4-sulfato. También en este caso se presenta la monotonía estructural, aunque menos marcada que en el anterior.

Por último, existe la polimerización de trímeros, de lo cual el mejor ejemplo es la colágena, formada esencialmente por glicina-prolina-hidroxiprolina, que se repite cientos de veces a lo largo de la cadena polimérica. Las macromoléculas de este tipo casi siempre cumplen funciones más elementales, como las de servir de soporte estructural a los tejidos o estructuras más complejas y en general (excepto el almidón y el glucógeno) adoptan forma de fibras o filamentos, que es la que más se adapta a la función que deben cumplir.

Antes de pasar al otro grupo es bueno señalar que en realidad la monotonía no es total, pues existen pequeñas variaciones en la estructura, aunque la mencionada es la predominante en casi el 90 % de la longitud del polímero.

El segundo grupo lo integran aquellas macromoléculas que no poseen un patrón regular de polimerización y en ellas sus precursores se alternan sin que exista ninguna ley que pueda predecir la posición de cada uno, por ejemplo, en el caso del ácido hialurónico, si se sabe que la posición “n” está ocupada por la N-acetyl-glucosamina, inmediatamente se deduce que la “n+1” será el ácido glucurónico. En las macromoléculas del segundo grupo, saber que un precursor ocupa la posición “n” no permite conocer el “n+1”, ya que puede ser cualquiera de los otros. A este grupo pertenece la mayoría de las macromoléculas (Fig. 9.2).

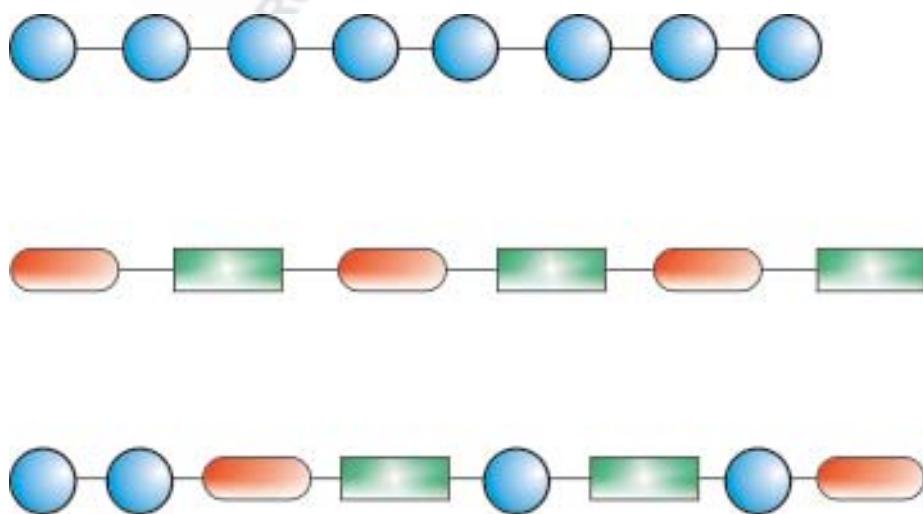
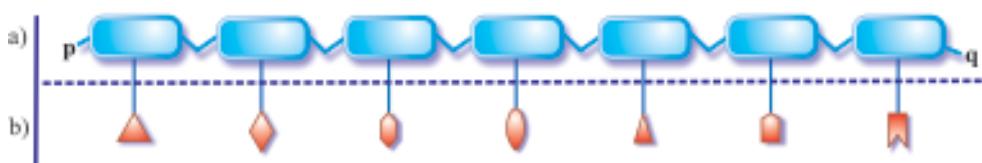


Fig. 9.2. Tipos de polímeros por la composición de precursores. La línea superior muestra un sector de un polímero formado por el mismo precursor, lo cual da al polímero una monotonía total. La línea central presenta un polímero también monótono, pero con la combinación de dos precursores. La línea inferior presenta un polímero totalmente diverso. Obsérvese que no existe regularidad alguna, después del precursor representado por el círculo azul se puede encontrar cualquiera de los precursores, el mismo azul, el verde o el rojo.

En las macromoléculas se puede distinguir una zona compuesta por los elementos que integran el enlace, que como es siempre el mismo, por el carácter uniforme, genera una zona de monotonía estructural; pero a la par existe una zona que varía en cada punto de la cadena, debido a las características estructurales del precursor que esté presente en ese punto, así se genera una zona de variabilidad. Esto significa que en la estructura de las macromoléculas se da la unión de lo monótono y lo diverso (Fig. 9.3).



La estructura de la zona monótona diferencia los tipos de macromolécula, es decir, las proteínas de los polisacáridos y estos de los ácidos nucleicos. La zona variable diferencia una macromolécula de otra del mismo tipo, por ejemplo, el glucagón de la insulina. Los métodos para el estudio de la estructura primaria de las macromoléculas del segundo grupo serán estudiados en los capítulos donde se trate cada una de ellas.

La distinción entre las dos zonas estructurales de las macromoléculas es importante para entender la génesis de los demás niveles de organización, pues ellos van a depender del establecimiento de interacciones entre elementos químicos localizados en una zona u otra. En líneas generales se puede afirmar que si las interacciones se forman entre elementos localizados en la zona monótona, se van a originar estructuras regulares con patrones bien definidos, pero si dependen de la zona variable se formarán organizaciones más bien irregulares.

Como ya se señaló, las macromoléculas del primer grupo, donde la monotonía es total, tienden a tomar formas fibrilares o filamentosas, en las cuales el largo predomina sobre el ancho y la profundidad. Sin embargo, las del segundo grupo tienden a adoptar formas esféricas como consecuencia de los plegamientos y replegamientos sobre sí de la cadena polimérica.

Los estudios de las estructuras de numerosas macromoléculas en los últimos años, han permitido profundizar en la complejidad de estas estructuras y advertir que aún en las más irregulares existen determinados patrones que se repiten, como si existiera una ley general que gobernara la forma en que se organizan las macromoléculas biológicas.

El nivel secundario o estructura secundaria es la forma que adopta en el espacio un pequeño sector de la cadena polimérica.

Nivel secundario. Al nivel primario ya estudiado le sigue el nivel secundario o estructura secundaria. Este término se refiere a la forma particular que adopta la cadena polimérica en pequeños sectores de su estructura, pudiera ser un sector formado por 10 a 20 precursores consecutivos. Estos sectores pueden tener una disposición regular o irregular. Se ha podido determinar que existen dos formas fundamentales de estructuras secundarias regulares: las helicoidales y las plegadas. Las estructuras plegadas se caracterizan porque el eje covalente primario de la molécula va describiendo una

Fig. 9.3. Zonas en la estructura de la macromolécula. En la estructura de la macromolécula se pueden distinguir dos zonas. En a) aparece representada en azul la zona monótona de la estructura que origina el eje covalente principal de la macromolécula. Observe que estructuralmente todos los sectores de esta zona son iguales. Aplican marcados los extremos p y q, pues esta molécula tiene polaridad pq. En b) se representa en color rojo la zona variable debido a que cada uno de los precursores presenta una estructura diferente. De esta forma se evidencia que en la estructura de las macromoléculas se da la unidad de lo monótono y lo diverso.

línea en *zig zag*, con ángulos bien definidos, y en ocasiones diferentes sectores de la misma molécula que toman esta forma se aproximan entre sí, creando una especie de superficie plegada. Si las cadenas tienen la misma polaridad se dice que son paralelas, de lo contrario se les nombra antiparalelas (Fig. 9.4).

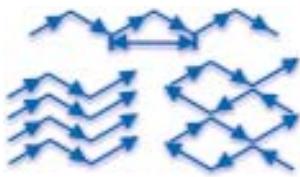


Fig. 9.4. Cadenas plegadas. Arriba se presenta una cadena plegada donde se señala el avance o paso de la estructura. Abajo, a la izquierda, un grupo de estructuras plegadas paralelas y a la derecha, antiparalelas. Las flechas indican la polaridad del polímero.

Las estructuras helicoidales tienen mayor distribución entre las macromoléculas que las plegadas. Desde el punto de vista matemático se puede considerar que una estructura helicoidal se genera como consecuencia del movimiento de un punto que se desplaza alrededor de la superficie de un cilindro con un ángulo de inclinación permanente. Cuando el eje covalente principal de una macromolécula adopta esta forma, se dice que tiene una estructura helicoidal.

En las macromoléculas las estructuras helicoidales se definen a partir de tres parámetros: el paso o avance de la hélice (p) es la distancia que existe entre un punto de una de las espiras y la posición equivalente en la espira siguiente, es decir, cuánto avanza el punto en sentido paralelo al eje del cilindro al dar una vuelta completa sobre su superficie; el avance por unidad de repetición (d) se refiere a cuánto avanza la hélice con la adición de cada monómero, y el número de unidades repetitivas por espira (n) que se refiere a cuántos monómeros hacen falta para pasar de una espira a otra en puntos equivalentes. El valor de n no tiene necesariamente que ser un número entero, y de hecho, casi nunca lo es. Como puede deducirse estos tres parámetros están ligados mediante la ecuación:

$$p = n \cdot d$$

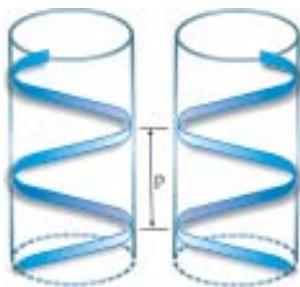


Fig. 9.5. Estructuras helicoidales. A la izquierda se representa una estructura helicoidal derecha y a la derecha una hélice izquierda. Observe que ambas guardan la misma relación que un objeto con su imagen en un espejo plano, por tanto son estructuras asimétricas. La flecha indica el avance o paso de la hélice (p).

Las hélices pueden ser derechas o izquierdas. Para identificar una hélice se usa la regla de la mano. Se coloca el dedo pulgar orientado en el sentido de avance de la hélice y con el resto de los dedos se intenta seguir la trayectoria de la hélice. Si esto puede hacerse con la mano derecha, se dice que la hélice es derecha, de lo contrario es izquierda. Una hélice izquierda y una derecha son estructuras que no pueden superponerse, por tanto, las estructuras helicoidales poseen la propiedad de la quiralidad y lo manifiestan por la desviación del plano de vibración de la luz polarizada. Las medidas del ángulo de rotación se han utilizado para estimar el contenido de estructuras helicoidales en las macromoléculas (Fig. 9.5).

Se debe tener cuidado en no confundir las estructuras helicoidales con las espirales. En las primeras, todas las vueltas son aproximadamente del mismo radio, en tanto en las segundas cada giro presenta un radio mayor que el anterior.

En las macromoléculas, especialmente en las proteínas, estas estructuras se combinan en un grupo de patrones bien establecidos, a los cuales se les suele llamar estructuras supersecundarias. Uno de estos patrones, que consiste en dos hélices unidas por una estructura plegada (Fig. 9.6).

El nivel terciario o estructura terciaria es la forma definitiva de una cadena polimérica. Se habla de estructura cuaternaria cuando la macromolécula está constituida por más de una cadena polimérica.

Niveles terciario y cuaternario. El nivel terciario de organización o estructura terciaria se refiere a la estructura tridimensional total de la macromolécula. Para su estudio se deben tener en cuenta no solo las formas secundarias mencionadas, sino la topología del eje covalente principal de la macromolécula, o sea, cómo se van conectando

unos con otros los diferentes sectores de estructuras secundarias o supersecundarias. El nivel cuaternario se ha definido en proteínas y se usa para caracterizar aquellas que están formadas por más de una cadena polipeptídica, que a los efectos reciben el nombre de subunidades (Fig. 9.7).

Estas organizaciones espaciales se mantienen gracias a la formación de interacciones débiles entre diferentes grupos químicos de las macromoléculas. Las principales son los puentes de hidrógeno, las interacciones salinas y las llamadas fuerzas de Van der Waals. Estas interacciones tienen una fortaleza que va desde $10 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$, para las primeras, hasta menos de $1 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$, para las últimas, por tanto su importancia no radica en su fortaleza, sino en el número extraordinario de ellas que pueden formarse en una macromolécula.

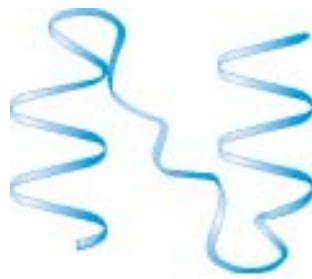


Fig. 9.6. Un modelo de estructura supersecundaria. Dos hélices derechas están conectadas por un segmento de la cadena polimérica en el cual se encuentra una estructura plegada. Este tipo de organización es frecuente en las proteínas.

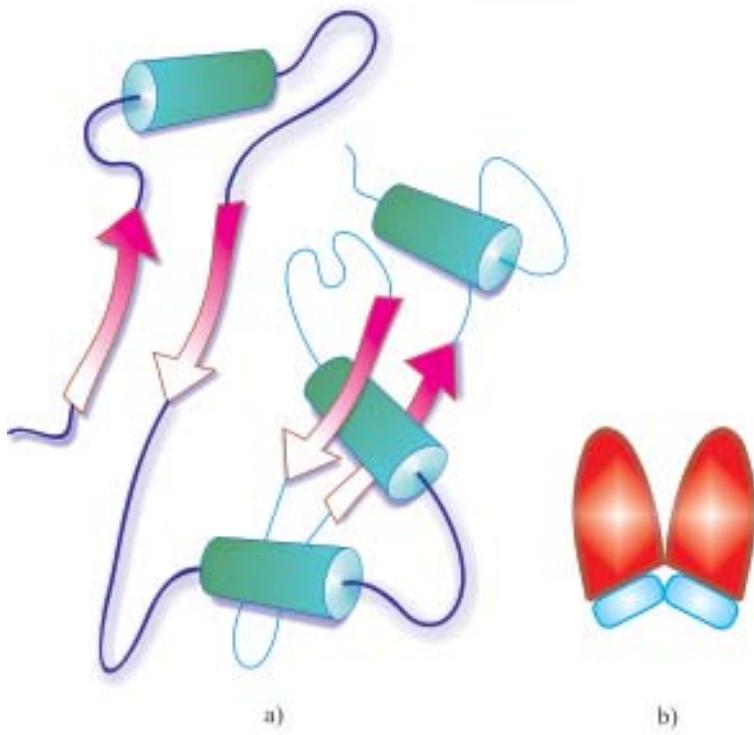


Fig. 9.7. Estructuras terciarias y cuaternarias. En a) se representa la estructura terciaria de una macromolécula, en la cual las estructuras helicoidales aparecen en forma de cilindros y las plegadas en forma de saetas. El eje covalente principal va formando giros que permiten a la macromolécula adoptar una forma que tiende a lo esférico. En b) se presenta un esquema de la estructura cuaternaria de una proteína que está formada por cuatro subunidades iguales dos a dos (las dos rojas son iguales, entre sí, así como las dos azules).

La fuerza de los puentes de hidrógeno es más variable, pues es mayor en ambientes anhidros que cuando están expuestas a la acción del agua. Debido a la propia dinámica de formación de la estructura tridimensional de las macromoléculas, cada nivel de organización se mantiene por interacciones que son cada vez más débiles o, lo que es lo mismo, los niveles superiores siempre son más inestables que los inferiores.

Este conocimiento no solo es importante desde el punto de vista biológico, permite comprender por qué la vida tiene que desarrollarse en condiciones ambientales muy limitadas; también tiene importancia desde el punto de vista experimental, ya que siempre debe tenerse en cuenta que pequeñas variaciones en las condiciones con las cuales se trabaja, con una de estas macromoléculas, puede afectar considerablemente sus propiedades, que son las manifestaciones externas de su estructura.

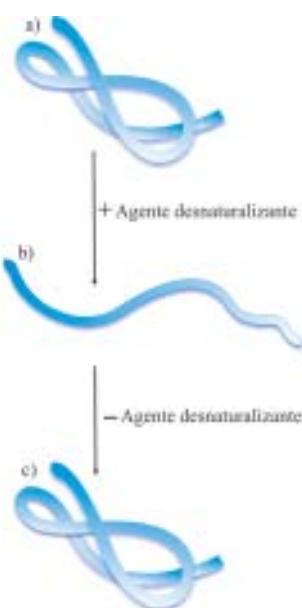


Fig. 9.8. Desnaturalización y renaturalización. En a) se muestra la estructura tridimensional de una macromolécula que, al ser sometida a la acción de un agente desnaturalizante, adquiere una forma totalmente desordenada, conservando solo el nivel primario de organización como se muestra en b). En muchas ocasiones cuando el agente desnaturalizante es retirado, la molécula adopta de nuevo su forma original como se muestra en c). El primer paso representa la desnaturalización y el segundo la renaturalización. Este segundo paso no siempre es posible.

Cuando una macromolécula pierde su estructura tridimensional, pero conserva la estructura primaria, se dice que ha sufrido un proceso de desnaturalización. Los agentes desnaturalizantes interfieren con la formación de las interacciones débiles y por eso son capaces de desorganizar la molécula. Un agente desnaturalizante universal es el calor; de ahí que los seres vivos en general tiendan a vivir en medios donde los cambios de temperatura no son drásticos, incluso, los organismos superiores han creado evolutivamente mecanismos para mantener constante la temperatura corporal, con independencia de la ambiental.

El fenómeno de desnaturalización puede ser reversible, si la macromolécula desnaturalizada es llevada de nuevo a las condiciones adecuadas, por lo que puede recuperar su estructura tridimensional original. Esta renaturalización es una evidencia importante de que la estructura tridimensional está determinada por el nivel primario de organización. Desde el punto de vista práctico esta propiedad de las macromoléculas sirve de fundamento a las técnicas de hibridación de los ácidos nucleicos (capítulo 1) (Fig. 9.8).

Carácter informacional

El carácter informacional está relacionado con la variedad estructural y con el grado de ordenamiento de un sistema.

Una de las características más importantes de las macromoléculas biológicas es que poseen información. La información molecular está relacionada con la variedad estructural y permite la realización de interacciones específicas entre las diferentes macromoléculas o entre ellas y moléculas pequeñas.

La información molecular está contenida en la estructura de las macromoléculas y puede ser de tipo secuencial o conformacional.

La información permite discriminar, con elevado grado de precisión, con cuál molécula se interactúa, en qué sitio y bajo cuáles circunstancias. Teniendo en cuenta la forma en que se presenta la información molecular puede ser de dos tipos: la secuencial y la conformacional.

La información secuencial está contenida en la estructura primaria de las macromoléculas que presentan secuencias irregulares, de manera que mientras mayor es la irregularidad de la secuencia, mayor puede ser el contenido de información y viceversa. En la secuencia de los precursores de una macromolécula la información está codificada linealmente en forma de mensajes, con un contenido preciso; tal vez una alegoría sirva para esclarecer este concepto. Si se parte de la secuencia de aminoácidos de un péptido y se escribe utilizando el código de una sola letra (capítulo 6) se pueden obtener situaciones como:

ala - met - ile - ser - tre - ala - asp
A M I S T A D

ala - met - ala - arg - glu - ser - val - ile - val - ile - arg
A M A R E S V I V I R

Por supuesto que las largas cadenas poliméricas de las macromoléculas contienen mensajes mucho más complejos que los mostrados. Estos mensajes generalmente in-

forman sobre cómo construir una estructura tridimensional, cómo ordenar precursores durante la síntesis de las macromoléculas, dónde comenzar o terminar un proceso, etc. La información secuencial es muy estable, ya que está asociada con el nivel primario de organización, que es el más estable en la estructura de una macromolécula, cualquiera que esta sea. Pero este tipo de información no permite interacciones tridimensionales específicas, pues ella aparece en forma lineal.

La información conformacional por su parte está contenida precisamente en la estructura tridimensional, es decir, en la conformación general de la macromolécula y sí admite interacciones específicas en el espacio. La forma característica que adopta una macromolécula le permite crear sobre su superficie sitios con una forma y distribución de grupos químicos orientados, de tal manera que facilita la ubicación y fijación de otras moléculas cuya forma y distribución de grupos químicos sean complementarias al sitio superficial de la macromolécula. Estos sitios tienen un arreglo tan estricto que algunas moléculas son capaces de alojarse en ellos y una vez allí, permiten que la macromolécula realice sobre ellos una función específica.

Este fenómeno de interacción específica entre una macromolécula y otra biomolécula recibe el nombre de *reconocimiento molecular* y el lugar por donde se realiza *sitio de reconocimiento* (Fig. 9.9). La sustancia que se une a la macromolécula recibe el nombre genérico de *ligando*.

El reconocimiento molecular es el mecanismo básico de actuación de las macromoléculas y es la expresión de la información conformacional.

Los sitios de reconocimiento tienen algunas propiedades comunes como estar ubicados en la superficie de la macromolécula, lo cual posibilita el acceso del ligando; poseer una estructura tridimensional derivada de la estructura tridimensional general de la macromolécula, que debe ser complementaria a la estructura del ligando; tener grupos químicos orientados en forma conveniente para interactuar con los grupos químicos de la sustancia reconocida y hacer que esta permanezca unida a la macromolécula.

La unión del ligando provoca cambios conformacionales en la macromolécula, que permiten que se realice su función o modulan la intensidad de esta. Los ligandos pueden ser también macromoléculas, pero en ese caso la zona de contacto se limita a un sector preciso de la estructura y no a toda ella.

Al tratar el carácter tridimensional quedó establecido que las estructuras de orden superior de las macromoléculas, su conformación general estaba determinada por la estructura primaria. Acaba de establecerse que esas estructuras expresan un determinado tipo de información molecular; la primaria está vinculada a la secuencial y las de orden superior a la conformacional; se infiere que la información conformacional está determinada por la información secuencial. Una de las funciones de la información secuencial era cómo construir determinadas estructuras tridimensionales que son las que albergan la información conformacional. Esta relación entre los tipos de información molecular es uno de los fundamentos más importantes en el funcionamiento de los seres vivos.

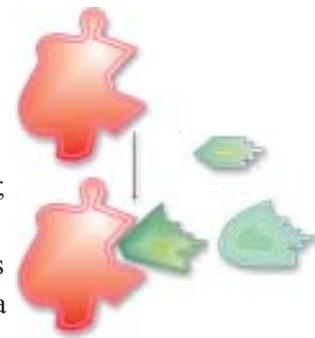


Fig. 9.9. Información conformacional. Arriba (en rojo) la silueta de la estructura tridimensional de una macromolécula, donde se muestra la ubicación del sitio de reconocimiento. Abajo se representan tres moléculas (en verde) de las cuales solo una puede interactuar de forma específica, pues su estructura es complementaria a la estructura del sitio de reconocimiento. Esta forma específica de interacción es el reconocimiento molecular que es la forma fundamental de expresión de la información conformacional.

Tendencia a la agregación

Las macromoléculas tienden a unirse unas con otras para formar agregados supramacromoleculares con estructuras y funciones complejas.

Como fenómeno general, las macromoléculas tienden a agregarse unas con otras para formar grandes estructuras supramacromoleculares de gran complejidad estructural y funcional, cuyas masas moleculares alcanzan los millones de daltons. Estas asociaciones pueden realizarse de manera covalente o no covalente y formarse espontáneamente o mediante un proceso asistido por otras macromoléculas. La existencia de estos agregados no contradice el carácter de uniformidad, pues las macromoléculas que se asocian no lo hacen con interrupción del eje covalente principal, emplean grupos químicos laterales para el enlace. Casi siempre en estos agregados se encuentran proteínas, de ahí que muchos se describan como formas conjugadas de las proteínas y resalten en el nombre el componente no proteínico; así existen nucleoproteínas, glicoproteínas y lipoproteínas.

La asociación de moléculas de proteínas para formar grandes agregados supera el concepto de estructura cuaternaria, que es más limitado. No puede considerarse que los sistemas de microtúbulos o microfilamentos sean proteínas con estructura cuaternaria, sino verdaderos agregados multiproteínicos. Muchos de estos ejemplos serán estudiados en este libro. Las proteínas se asocian con ácidos nucleicos para constituir los cromosomas, los ribosomas, los corpúsculos de procesamiento de los ARN y diferentes estructuras particulares que intervienen en el proceso de síntesis y procesamiento de las proteínas.

La asociación de proteínas con polisacáridos produce las glicoproteínas, de las cuales los ejemplos más sobresalientes son las que integran la matriz extracelular

Por último, pueden producirse agregados de proteínas con lípidos que son las lipoproteínas. Aun cuando en realidad los lípidos no son macromoléculas, estos se encuentran asociados como grandes complejos lipídicos, parecidos a como lo hacen las macromoléculas. La estructura de las membranas biológicas y de las grandes lipoproteínas sanguíneas constituyen ejemplos de agregados lipoproteínicos.

Relación estructura-función

Existe una relación muy estrecha entre la estructura de las macromoléculas y las funciones que estas realizan.

Como ya se ha visto, una de las propiedades más sobresalientes de las biomoléculas es que a ellas puede atribuirseles una función, a esto no escapan las macromoléculas; lo importante es que esta función está directamente vinculada con la estructura. Este vínculo es casi una ley del comportamiento de las macromoléculas biológicas.

El estudio cada vez más profundo de la organización estructural de las macromoléculas ha permitido ir identificando determinados patrones estructurales que están siempre relacionados con una función particular. Las modernas técnicas de secuenciación de los ADN en ocasiones ha llevado a tener completa la secuencia de aminoácidos de una proteína desconocida, pero a partir de esta secuencia se han determinado algunas características estructurales y funcionales de la proteína incógnita. Se ha sabido que son proteínas transmembranales o que tienen sitios de unión con nucleótidos o que actúan como proteínas quinasas o que se unen con el ADN, etc. Numerosos son los aspectos funcionales que pueden deducirse de la secuencia de aminoácidos, basados en el principio de la relación entre la estructura primaria, la conformación y la función. Es posible que llegue el día en que de una estructura pueda saberse su función o viceversa, ese ha sido el sueño de todos los bioquímicos desde los albores de esta ciencia.

Propiedades generales

Estas características generales antes mencionadas se manifiestan de formas diferentes en las macromoléculas, esas son las propiedades generales. A partir de esas propiedades ha sido posible ir profundizando en el conocimiento de sus características estructurales. A continuación se estudiarán algunas de esas propiedades y se dejará claro con cuál o cuáles de las características estructurales generales están relacionadas.

Difusión

Debido a su elevado peso molecular las macromoléculas difunden muy lentamente.

Todas las moléculas cuando son colocadas en el seno de un fluido experimentan movimientos de traslación de un lugar a otro en todas las direcciones del espacio, este fenómeno recibe el nombre de difusión. La velocidad de difusión está influída por diversos factores como la masa de la partícula. Cuando todos los demás factores se mantienen constantes, la velocidad de difusión es una función decreciente de la masa de la partícula, o sea, la velocidad disminuye a medida que la masa aumenta, por lo que las macromoléculas exhiben velocidades muy lentes de difusión, incluso existen equipos especialmente diseñados que permiten una estimación aproximada de la masa molecular a partir de las medidas de la velocidad de difusión.

Diálisis

Debido a su elevado peso molecular las macromoléculas no dializan, esto es, no pueden atravesar las membranas.

La diálisis es el proceso mediante el cual una sustancia disuelta en un fluido, que está dividido en dos compartimentos separados por una membrana, es capaz de pasar de un compartimento al otro hasta que la concentración se iguale en ambos compartimentos. La diferencia de concentración en ambos lados de la membrana crea un gradiente de potencial químico que impulsa el movimiento de la sustancia a través de la membrana; esto es posible gracias a que la membrana posee poros de tamaños muy pequeños, por los cuales la sustancia puede pasar. El gran volumen molecular de las macromoléculas les impide pasar a través de esos poros y por tanto no pueden dializar (Fig. 9.10).

Esta propiedad de las macromoléculas tiene importancia desde los puntos de vista biológico y del trabajo experimental.

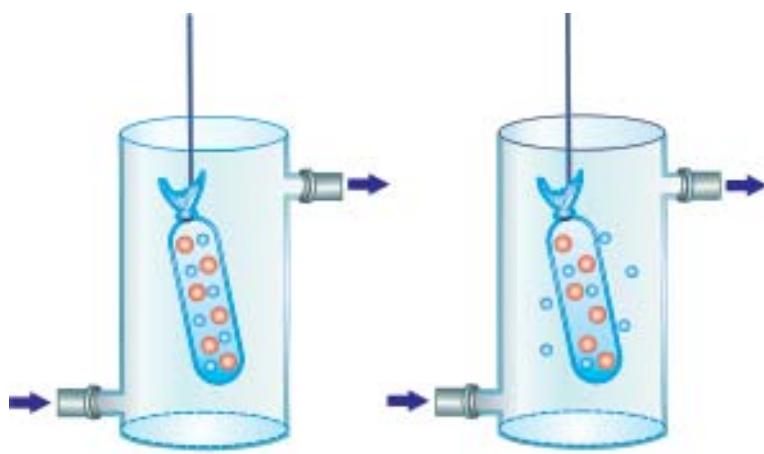


Fig. 9.10. Diálisis. Una bolsa de celofán que contiene una solución donde se encuentra una macromolécula (círculos rojos) con otras moléculas menores (círculos azules) se sumerge en un solvente que fluye constantemente como se observa a la izquierda. Con el paso del tiempo las moléculas pequeñas abandonan la bolsa de celofán y son arrastradas por el solvente, mientras la macromolécula permanece dentro de la bolsa, pues su gran tamaño le impide atravesar los poros del celofán. Las flechas indican la dirección del flujo del solvente externo.

Como se sabe, los organismos vivientes presentan compartimentos que están separados unos de otros por membranas. Las células, que son la unidad estructural y funcional de todos los seres vivos, están separadas de su entorno por la membrana plasmática y aun dentro de las células existen compartimentos como el núcleo, las mitocondrias, etc., que están separados por membranas del resto de la célula.

La imposibilidad de diálisis de las macromoléculas permite que cada célula y cada compartimento subcelular posea su propia dotación de macromoléculas, sin obligación de compartir el conjunto total de macromoléculas del organismo, como sería el caso si estas sustancias atravesaran libremente las membranas.

Desde el punto de vista experimental la diálisis se emplea en la purificación de macromoléculas de contaminantes de baja masa molecular. Para ello la preparación que contiene la macromolécula que se está purificando se coloca en una bolsita de celofán y esta en un recipiente por donde fluye agua; se genera así un gradiente de potencial químico para cada una de las sustancias que están disueltas dentro de la bolsita que las impulsa a salir de ella; pero como el líquido en el exterior está fluyendo, la concentración en él de esa sustancia es siempre cero y por mucha sustancia que salga las concentraciones en ambos lados del celofán no logran igualarse, solo la macromolécula no sale. Con un tiempo de diálisis lo suficientemente prolongado (unas 24 h) se puede lograr un grado de purificación aceptable.

Sedimentación

Debido a su elevado peso molecular las macromoléculas pueden sedimentar al aumentarse el campo gravitacional, como ocurre en las centrífugas.

La física establece que el peso de una sustancia es igual al producto de su masa inercial por la aceleración de la gravedad. Cuando sustancias muy pesadas se colocan en un fluido, con el transcurso del tiempo tienden a ir hacia el fondo del recipiente, o sea, sedimentan. Si se toma un poco de arena y se dispersa en agua, al poco tiempo casi toda la arena habrá sedimentado. Si se quiere aumentar la velocidad de sedimentación, se puede colocar el recipiente en una centrífuga y hacerlo girar a gran velocidad; esto se debe a que el movimiento giratorio que realiza la centrífuga incrementa el valor del campo gravitacional. Si en lugar de granitos de arena hubiera en el recipiente partículas más pequeñas, bastaría aumentar la velocidad de la centrífuga para sedimentarlas; esto significa que, en principio al menos, cualquier sustancia por pequeña que sea puede ser sedimentada siempre y cuando se disponga de una centrífuga capaz de alcanzar la velocidad necesaria. En estos momentos existe un límite práctico para ese objetivo y en los equipos modernos solo se han alcanzado velocidades suficientes para la sedimentación de las macromoléculas, por ser precisamente las moléculas más grandes.

En las centrífugas la velocidad de sedimentación depende de numerosos factores, como la forma y la masa de la partícula. En general la velocidad de sedimentación es una función creciente de la masa de la partícula. Como unidad de velocidad de sedimentación se usa el coeficiente de sedimentación S, en honor a Theodor Svedberg, pionero en este campo, que es igual a 10^{-13} s. Mientras mayor sea el valor de la masa de la partícula, mayor será el valor de S. En la tabla 9.1 se relacionan algunas macromoléculas biológicas con su peso molecular y su coeficiente de sedimentación.

En muchas ocasiones se emplea el valor del coeficiente de sedimentación S como indicativo de masa molecular. La figura 9.11 presenta un resumen esquemático del procedimiento. Esta propiedad de las macromoléculas también ha sido empleada en el proceso de purificación.

Tabla 9.1. *Masas moleculares (M) y coeficiente de sedimentación (S) de algunas proteínas*

Proteína	M (kD)	S
Lipasa de la leche	6,7	1,14
Ribonucleasa A	12,6	2,00
Citocromo c	13,4	1,71
Mioglobina	16,9	2,04
Citocromo oxidasa	89,8	5,80
Lactato deshidrogenasa H	150	7,31
Catalasa	222	11,20
Fibrinógeno	340	7,63
Glutamato deshidrogenasa	1 015	26,60

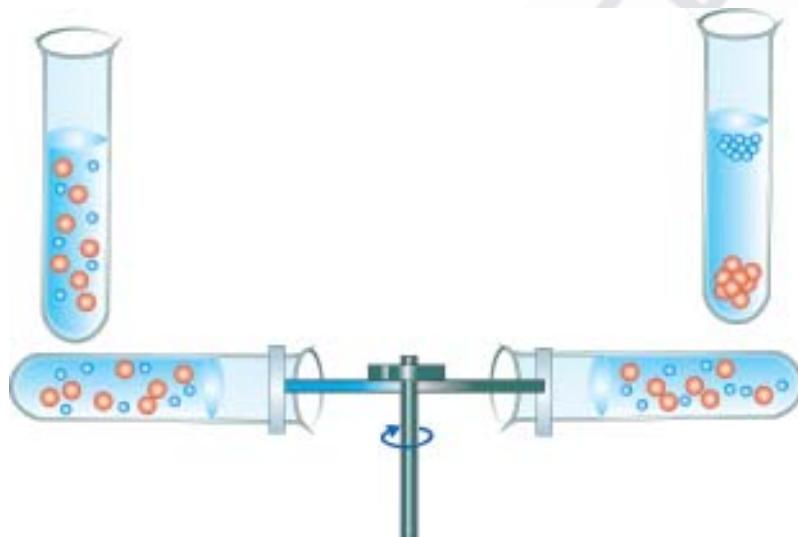


Fig. 9.11. Centrifugación. Una solución que contiene una macromolécula (círculos rojos) y otras moléculas más pequeñas se colocan en un tubo de centrífuga. El tubo se hace girar a gran velocidad, con lo cual se aumenta considerablemente el campo gravitacional. Después de un tiempo prudencial las macromoléculas han ido a sedimentarse en el fondo del tubo, mientras las moléculas pequeñas permanecen en solución.

Visualización

Quizás la más sobresaliente manifestación del carácter macromolecular (elevado peso molecular) es que estas moléculas pueden ser visualizadas por medios ópticos especiales como el microscopio electrónico. Con el grado de perfeccionamiento alcanzado por estos equipos ha sido posible la obtención de microfotografías, donde puede observarse la forma de algunas macromoléculas, especialmente las más grandes, como algunas enzimas, el ácido desoxirribonucleico, etcétera.

Hidrólisis

Como las macromoléculas se forman por reacciones de condensación, los enlaces polimerizantes pueden ser rotos mediante el proceso de hidrólisis.

Los caracteres polimérico y uniforme se pueden evidenciar mediante la hidrólisis. La adición catalítica de agua al enlace polimerizante provoca la ruptura de este, que con un tiempo prolongado y condiciones adecuadas puede lograrse la descomposición total del polímero en sus monómeros constituyentes.

Para la hidrólisis se pueden emplear tres tipos de procedimiento, en dependencia del catalizador empleado, y en cada uno se obtienen resultados diferentes. La hidrólisis puede realizarse en medio ácido para los tres tipos de macromoléculas y es el medio más empleado; solo produce alteraciones de algunos aminoácidos durante la hidrólisis de las proteínas.

La hidrólisis alcalina produce mayores alteraciones de aminoácidos y no afecta a los ácidos desoxirribonucleicos. La hidrólisis enzimática suele ser parcial, pues la especificidad de las enzimas no le permite a estas actuar sobre todos los enlaces presentes en una molécula. Aun cuando ninguno de estos procedimientos por separado permite en todos los casos la hidrólisis total de la macromolécula, una adecuada combinación de todos ellos puede dar los resultados deseados.

Difracción de rayos X

La difracción de los rayos X es un método muy empleado en el estudio de la estructura tridimensional de las macromoléculas.

La técnica más empleada para el estudio de la estructura tridimensional de las macromoléculas es la cristalografía de rayos X; para su empleo se requiere la obtención de la macromolécula en estado cristalino y después el cristal obtenido se somete a la acción de los rayos X durante un tiempo prolongado (72 h). En su recorrido por el interior del cristal la trayectoria de los rayos se desvía por los núcleos de los átomos que componen el cristal y esa desviación es mayor mientras mayor sea el tamaño del núcleo. Una vez que los rayos X atraviesan el cristal van a incidir sobre una placa recubierta de una emulsión fotográfica que se vela por la incidencia del rayo. Las placas se cambian cada un número de minutos fijados de antemano, además, durante ese tiempo el cristal se hace girar de forma que se obtienen vistas desde diferentes ángulos. Al concluir el experimento se obtiene una colección de placas con numerosos puntos que indican los sitios donde incidieron los rayos X desviados (Fig. 9.12).

El análisis de estos puntos para deducir la estructura tridimensional es extremadamente complejo y en los primeros años de aplicarse esta técnica podía durar meses, pero hoy los cálculos se hacen mucho más rápido con el empleo de las computadoras. Las imágenes que se obtienen presentan un nivel de resolución de varios nanómetros. Cuando se dice que una imagen tiene un nivel de resolución de un nanómetro, esto significa que dos puntos que estén separados por una distancia menor que un nanómetro en la figura se verán como uno solo. Hoy día se cuenta con un buen número de macromoléculas estudiadas por este procedimiento.

Métodos empleados en el estudio de las macromoléculas

Numerosos son los métodos empleados en el estudio de las macromoléculas, de los cuales solo se esbozarán los principales. Lo primero es separar la macromolécula del resto de los componentes celulares, después purificarla lo más posible y, por último, caracterizarla. A continuación se describirá cómo se lleva a cabo cada etapa, en líneas generales.

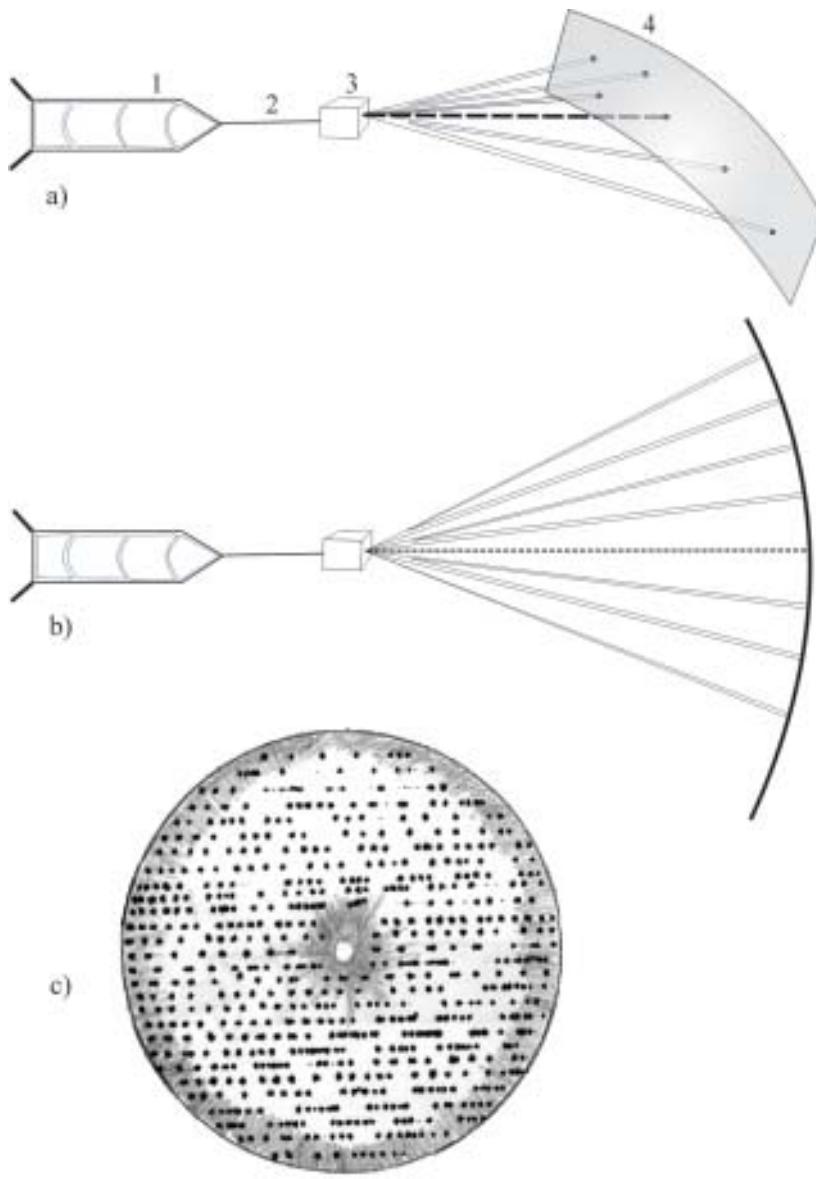


Fig. 9.12. Difracción de rayos X. Se muestra un diagrama del equipo de difracción de rayos X. En a) se ofrece una vista lateral de los elementos esenciales: el dispositivo generador de los rayos X (1), el haz de rayos X (2) que incide sobre el cristal de la macromolécula (3) y los rayos dispersos que inciden sobre una superficie recubierta como una emulsión fotográfica (4). En b) el mismo diagrama pero en una vista desde arriba. En c) un esquema de un fotograma obtenido en el experimento. Los puntos negros representan los lugares donde los rayos desviados velaron la emulsión fotográfica. Miles de estos fotogramas deben ser analizados para obtener la información necesaria sobre la estructura tridimensional de una macromolécula.

Obtención de la macromolécula

El primer paso para el estudio de una macromolécula es poder obtenerla a partir de un material biológico idóneo:

1. Seleccionar el material biológico con el cual se ha de trabajar; se obtiene algún fragmento de un tejido de un organismo vivo que sea particularmente rico en la macromolécula que se pretende purificar. Cuando se trata de macromoléculas muy específicas se debe obtener el organismo que la sintetiza, aunque no sea muy rico en esta.

2. Poseer un método que permita siempre localizar dónde está la macromolécula que se pretende purificar; esto es necesario, pues casi siempre todos los procedimientos de purificación consisten en separar la preparación original en dos o más fracciones, por lo que se requiere localizar en cuál de ellas está la macromolécula de interés.

Se procede a la ruptura de las células por los métodos habituales de homogeneización. El material biológico se puede triturar con la ayuda de un mortero o con equipos diseñados para eso, cuyo objetivo fundamental es romper las paredes o membranas celulares y dejar expuesto el contenido intracelular. Este proceso siempre se realiza a bajas temperaturas, en un líquido de incubación con una composición salina adecuada y un *buffer* que asegure la constancia del pH durante todo el proceso. Al material obtenido como resultado de este proceso se le da el nombre de homogenato. Es conveniente el empleo de inhibidores de las enzimas que hidrolizan la macromolécula que se pretende purificar, pues una vez rota la estructura celular estas enzimas pueden atacar a la macromolécula deseada.

Separación de la macromolécula

El segundo paso para el estudio es eliminar el resto de las moléculas que acompañan a la macromolécula en el material seleccionado.

Los métodos más usados con este propósito son la ultracentrifugación, la cromatografía y la electroforesis.

En la ultracentrifugación el homogenato se coloca en un tubo de centrífuga que se hace girar a velocidad elevada, con lo cual se produce un incremento notable del campo gravitacional. Bajo la acción de este campo las moléculas pesadas son impulsadas hacia el fondo del tubo, con una velocidad que es una función de varios factores como la forma y el peso molecular. Al final el homogenato queda dividido en dos fracciones: el sedimento y el sobrenadante. Es necesario entonces localizar en cuál de estas se encuentra la macromolécula buscada.

Una variante del método puede ser más útil. Se procede a realizar una primera centrifugación a velocidad baja para eliminar los restos de membranas o paredes celulares que deben sedimentar. El sobrenadante se somete a una nueva centrifugación, pero ahora a velocidad mayor. Si la macromolécula buscada queda en el sobrenadante se puede repetir el procedimiento a una velocidad mayor aún. La lógica del procedimiento consiste en ir eliminando los componentes celulares que no son de interés y obtener una preparación en la cual la concentración de la macromolécula buscada sea cada vez mayor.

Otra variante del método permite obtener mejores resultados. Si a la solución donde va a centrifugarse se le añade una molécula pequeña de rápida difusión, como el CsCl o la sacarosa, esta se distribuye en el tubo y crea un gradiente de densidad. En esas condiciones los componentes macromoleculares del homogenato se moverán en el tubo de centrífuga hasta que su densidad coincida con la del medio. Moléculas con diferente densidad se equilibrarán en diferentes posiciones y se pueden obtener con el sencillo procedimiento de perforar el fondo del tubo y recoger pequeñas alícuotas de la solución.

Es de esperar que solo con el empleo de la ultracentrifugación no se logre la purificación total de la macromolécula y se recurre entonces a la cromatografía.

Las técnicas cromatográficas permiten separar macromoléculas de una mezcla, empleando varias propiedades físicas y químicas de la macromolécula deseada.

En la cromatografía la fracción obtenida por ultracentrifugación, que contiene la macromolécula, se adsorbe sobre un sólido embebido en un solvente adecuado y

“empaquetado” en un cilindro de vidrio, de manera que se forme una columna. El sólido empleado, la longitud y el diámetro de la columna dependen de la macromolécula que se pretende purificar. Una vez depositada la muestra en la columna se hace pasar una solución apropiada para separar los componentes de la mezcla; este procedimiento recibe el nombre de elusión y al líquido que sale de la columna se le da el nombre de eluato. Pequeñas alícuotas del eluato se van recolectando en tubos de ensayo, de manera que al finalizar se pueden tener varias docenas de estos tubos. Un registro general, como puede ser la absorción luminosa en determinada longitud de onda, indica dónde se encuentran las macromoléculas del mismo tipo de la que se está purificando. Si los resultados son llevados a una gráfica se obtiene una curva con varios picos (Fig. 9.13).

Es necesario entonces utilizar el método de identificación de la macromolécula para determinar en cuáles de los tubos se encuentra, pues casi siempre es en más de uno. Los eluatos que contienen la macromolécula pueden reunirse en uno solo y realizar un nuevo procedimiento cromatográfico, variando el sólido empleado y las condiciones de elusión.

La electroforesis permite separar macromoléculas que presenten carga eléctrica.

La electroforesis es parecida a la cromatografía, también la mezcla se adsorbe sobre un soporte que en este caso es un gel en contacto con un *buffer* de pH fijo. La fuerza que hace mover las partículas es un campo eléctrico generado por una fuente de poder, conectado a través de electrodos que están colocados en los extremos del gel.

Este procedimiento puede ser empleado en la separación de macromoléculas, porque las proteínas, los ácidos nucleicos y los polisacáridos poseen grupos químicos ionizables que les conceden carga eléctrica. Estas técnicas están muy desarrolladas para las proteínas y los ácidos nucleicos. La movilidad de las moléculas varía inversamente con su masa molecular y directamente con su carga eléctrica neta.

Los geles más usados son los de agaralmidón, poliacrilamida y agarosa, en dependencia de la macromolécula que se debe purificar. Para localizar las moléculas, el gel se tinge con algún reactivo específico que dé coloración visible, o sea, transiluminado con luz ultravioleta. Después de revelar la electroforesis existen varias bandas que indican la posición de un número igual de macromoléculas en la solución de partida. Hay que emplear entonces el método de determinación específico para la macromolécula buscada (Fig. 9.14).

En muchas ocasiones las macromoléculas se obtienen en forma de soluciones muy diluidas y es necesario concentrarlas, para ello existen equipos especiales de ultrafiltración o puede recurrirse a la diálisis, como ya fue descrito. Para conservar la macromolécula purificada se puede aplicar el proceso de liofilización.

Criterios de pureza

Una vez terminado el procedimiento de purificación hay que tener la certeza de la pureza de la macromolécula obtenida; para ello pueden emplearse los mismos procedimientos ya descritos de purificación, pero en todos los casos se deben obtener resultados que confirmen que la macromolécula está pura. Por ejemplo, en la ultracentrifugación con gradiente de densidad se debe obtener una sola banda con una densidad precisa; en la cromatografía se debe obtener un pico único, y una sola banda en la electroforesis, así como de igual forma en todos los procedimientos realizados. No existe un criterio de pureza mejor que los demás, solo la utilización de varios de estos puede llevar a la certidumbre de los resultados.

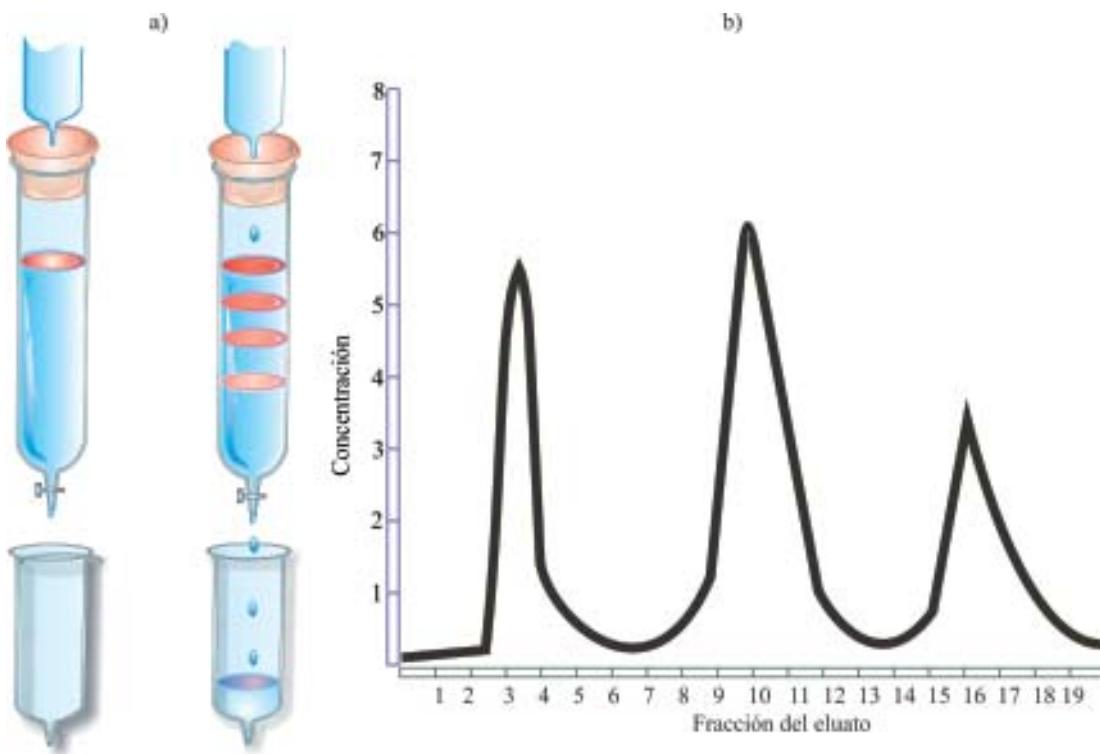


Fig. 9.13. Cromatografía. En a) a la izquierda se observa una columna que contiene un soporte sólido sobre el cual se ha colocado una solución que contiene varios componentes. El tubo está conectado a un recipiente que contiene una solución para la elución. A medida que el líquido del recipiente superior pasa a través de la columna arrastra consigo los componentes de la mezcla, a velocidades diferentes, con lo cual se logra su separación. En b) se muestra la gráfica formada por varios picos, la que se obtiene cuando se determina la concentración de macromoléculas en cada fracción del eluato. Un método específico permite

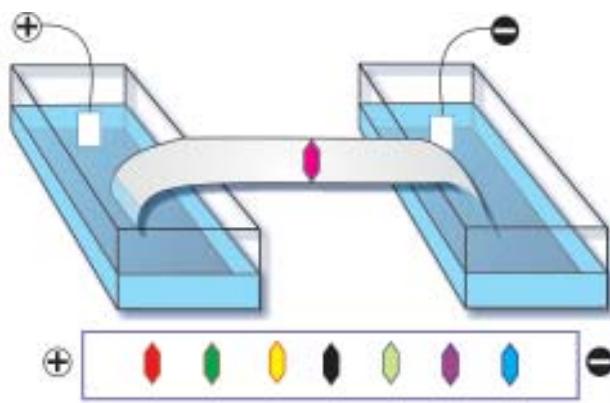


Fig. 9.14. Electroforesis. Sobre un soporte sólido se coloca la mezcla de varios componentes. El soporte está en contacto con dos cubetas, donde se ha depositado una solución *buffer* para mantener el pH constante. En cada cubeta está sumergido un electrodo. Al aplicar la corriente eléctrica los componentes de la mezcla se mueven según la intensidad de su carga eléctrica y pueden separarse como se muestra en la parte inferior de la figura.

Caracterización de la macromolécula

Caracterizar la macromolécula significa describir sus propiedades más sobresalientes. Uno de los primeros pasos es la determinación del peso molecular que puede hacerse por ultracentrifugación analítica o por métodos especiales de electroforesis.

Después se pasa al estudio de la estructura tridimensional. Para el estudio de la estructura primaria se utilizan varios procedimientos que son diferentes en cada tipo de macromolécula y serán estudiados en los capítulos correspondientes. En relación con la estructura tridimensional se utilizan métodos de espectroscopia y por último, la difracción de rayos X o la resonancia magnética nuclear que aportan elementos suficientes para el conocimiento de la organización espacial de la macromolécula.

Es conveniente la construcción de un modelo de la macromolécula para compararlo con los datos obtenidos, de forma que se tenga una idea cada vez más aproximada de la estructura tridimensional de la macromolécula purificada. En este momento se puede intentar la correlación entre la estructura y la función de la macromolécula, para ello es necesario la realización de otro conjunto de procedimientos que evidencien los aspectos funcionales. No es el momento de describir esos procedimientos, muchos de estos serán estudiados en otros capítulos.

Una incógnita

Una pregunta que siempre se han hecho los investigadores es ¿por qué las macromoléculas son tan grandes?

Una primera respuesta tiene que ver con un aspecto físico del problema. Los seres vivos están formados por células separadas de su entorno por una membrana a través de la cual se establece constantemente un flujo de agua; este flujo está gobernado por la presión osmótica en ambos lados de la membrana ya su vez, la presión osmótica depende del número de partículas disueltas. Una macromolécula, por muy grande que sea, es una partícula y por tanto ejerce una presión osmótica mínima, sin embargo, ~~de~~ puede contener miles de precursores unidos, cada uno de los cuales si estuvieran independientes se comportarían como una partícula y generarían una presión osmótica elevada, por ejemplo, una molécula de glucógeno puede contener unidas 3 000 moléculas de glucosa; de no estar unidas las moléculas de glucosa generarían una presión osmótica 3 000 veces superior al glucógeno que las contiene a todas. De esta forma las macromoléculas contribuyen a regular el flujo de agua entre la célula y su entorno.

Otro aspecto tiene que ver con el modo de funcionamiento de estas moléculas. El mecanismo básico es el reconocimiento molecular. Las proteínas, por ejemplo, para crear un sitio de reconocimiento requieren la participación de no menos de 22 aminoácidos; para mantener en posiciones espaciales bien definidas a esos aminoácidos se necesita el concurso de otros muchos. Si se tiene en cuenta que una misma proteína puede poseer varios sitios de reconocimiento, entonces se entenderá por qué son requeridos tantos precursores en su estructura. Por otra parte, el ADN para codificar uno de los aminoácidos de una proteína necesita tres nucleótidos, lo cual significa que para un sitio de reconocimiento requiere al menos 66, pero el ADN también precisa de secuencias específicas de nucleótidos que funcionan como señales que indican los puntos donde comienza y donde termina la síntesis de los ARN, así como de motivos estructurales que sirven de lugar de unión para proteínas que controlan su actividad. Igual sucede con otras moléculas informacionales como los ARN. En resumen, las características tridimensionales y multifuncionales son las que condicionan el tamaño que tienen estas moléculas, funciones

que al no ser necesarias en los cuerpos carentes de vida hacen que las macromoléculas sean componentes exclusivos de los seres vivos.

Resumen

El aspecto más relevante en la composición de los seres vivos es la existencia de las macromoléculas; estas presentan una estructura tridimensional muy compleja que, a primera vista, parece inaccesible al entendimiento humano. Las técnicas experimentales aplicadas a su estudio en las últimas décadas han hecho posible identificar algunas regularidades en su organización estructural, lo que se ha denominado principio de organización de las macromoléculas.

Todas las biomacromoléculas presentan una masa molecular elevada que se evidencia por su baja velocidad de difusión, su imposibilidad de diálisis, poder de sedimentación al aumentar el campo gravitacional y ser visible por métodos ópticos como el microscopio electrónico. Todas ellas se forman por la polimerización de precursores de la misma clase, mediante un enlace covalente que crea un eje covalente principal, con una estructura monótona que diferencia una macromolécula de otra.

Por otra parte, la variedad de los precursores crea una zona de diversidad que diferencia a una macromolécula de otra del mismo tipo. Los diferentes procedimientos de hidrólisis pueden separar los precursores comprobando el carácter polimérico y el uniforme. Las macromoléculas presentan estructuras espaciales que, si se forman por interacciones entre los elementos de la zona monótona, tienden a adoptar formas regulares con patrones bien establecidos como los plegamientos y las hélices, pero si dependen de la zona variable, tienden a hacerse irregulares y confieren a la macromolécula una estructura tridimensional única.

Los experimentos de desnaturalización y renaturalización confirman que en la mayoría de los casos la estructura tridimensional está determinada por la estructura primaria. A estos niveles estructurales está asociada la información molecular, que puede ser de tipo secuencial o conformacional, esta última operando mediante el mecanismo del reconocimiento molecular. Las macromoléculas tienden a agregarse para formar estructuras supramacromoleculares de gran complejidad, lo que permite la realización de funciones muy especializadas.

Para el estudio de las macromoléculas se emplean numerosos métodos que consisten en la obtención de un homogéneo a partir de un material biológico que después se va fraccionando por ultracentrifugación, cromatografía y electroforesis hasta tener la macromolécula en estado de pureza. La caracterización estructural comienza con la determinación del peso molecular, seguida del estudio de la estructura primaria y de la organización tridimensional. La construcción de modelos a partir de los datos experimentales permite aproximarse cada vez más a la estructura real de la macromolécula y comenzar la correlación entre la estructura y la función.

La organización molecular en forma de macromoléculas le proporciona a los seres vivos determinadas ventajas como: la regulación del flujo de líquidos ~~entre~~ el organismo y el entorno, así como la realización de funciones múltiples que con estructuras más simples no se lograrían.

Ejercicios

1. ¿En qué orden de magnitud se encuentra el peso molecular de las macromoléculas?
2. ¿Qué significa que las macromoléculas tienen carácter polimérico? ¿Cuál es la importancia de ese carácter?
3. ¿Por qué se dice que las macromoléculas tienen carácter uniforme?
4. ¿Cómo pueden demostrarse experimentalmente los caracteres polimérico y uniforme?
5. Una estructura biológica está compuesta de dos subunidades de 8 S y 14 S, respectivamente. ¿Al centrifugar la partícula completa debe obtenerse un coeficiente de sedimentación de 22 S? Explique su respuesta.
6. ¿Por qué cree usted que, como regla, las macromoléculas biológicas no presentan ramificaciones?
7. ¿En qué consiste la información molecular y cuáles son sus formas principales?
8. ¿Podría una macromolécula que no tenga información secuencial poseer información conformacional? ¿Sería válido igualmente el caso contrario?
9. ¿En qué consiste el fenómeno de reconocimiento molecular? ¿Con cuáles de los tipos de información molecular está vinculado directamente?
10. La tendencia a la agregación es una característica general de las macromoléculas. ¿La existencia de las nucleoproteínas, glicoproteínas y lipoproteínas no contradice el carácter uniforme de las macromoléculas? Explique su respuesta.
11. Si usted desea purificar una macromolécula, cuáles son los requisitos previos que debe conocer antes de comenzar el procedimiento.
12. En los tres capítulos que siguen se estudian en detalle las macromoléculas. Cuando estudie cada uno de ellos diseñe un procedimiento para la purificación de una proteína, de un ácido nucleico y de un polisacárido.

Capítulo
10

Polisacáridos

Los glúcidos son las biomoléculas más abundantes en la naturaleza, en particular los polisacáridos cuyas funciones más generales son: almacenamiento de energía, estructural y reconocimiento. En el reino vegetal representan la mayor parte de su peso seco, no así en los tejidos animales. En el hombre constituyen menos del 1 %.

Se denominan polisacáridos aquellos polímeros que por hidrólisis rinden más de 10 moléculas de monosacáridos; oligosacáridos cuando rinden de 2 a 10 moléculas.

Los polisacáridos con función de almacenamiento de energía son: el almidón, en los vegetales, y el glucógeno, en los animales. Entre los que poseen función estructural se encuentran: la celulosa, en los vegetales; la quitina, en los artrópodos y las glicosaminoglicanas, en los vertebrados. Estas últimas confieren protección y soporte a las células, tejidos y órganos. Los que forman parte de las membranas biológicas tienen función de reconocimiento; participan tanto en el reconocimiento intercelular como en el de sustancias ajenas al organismo. Cuando se alteran los mecanismos de reconocimiento pueden dejar de identificarse como propias, determinadas moléculas del organismo.

La importancia biológica y médica de los polisacáridos justifica el estudio de sus estructuras, funciones y ubicación.

Oligosacáridos

Un oligosacárido está constituido por diferentes monosacáridos, casi siempre sustituidos, unidos mediante enlaces glicosídicos de diferentes tipos: α y β ; ambas características determinan su secuencia informacional, por ejemplo, tres hexosas diferentes, enlazadas por enlaces glicosídicos distintos, pueden formar más de 1 000 trisacáridos diferentes.

A pesar de ser millones las posibilidades teóricas que predicen la existencia de moléculas diferentes de oligosacáridos, en la realidad existe un número limitado, como consecuencia de la especificidad y poca variedad de las enzimas que los sintetizan.

Los oligosacáridos, moléculas que poseen desde 2 hasta 10 monosacáridos, casi siempre aparecen unidos a proteínas y lípidos, formando las glicoproteínas y los glicolípidos, a los cuales modifican su polaridad y solubilidad, debido a que contienen agrupaciones altamente hidrofílicas.

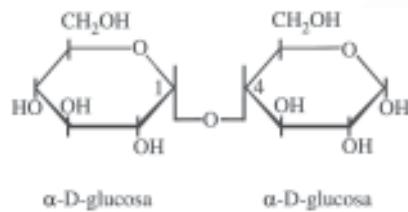
Los oligosacáridos constituidos por dos monosacáridos o disacáridos constituyen la unidad básica estructural de los homopolisacáridos y de las glicosaminoglicanas o mucopolisacáridos ácidos.

Disacáridos

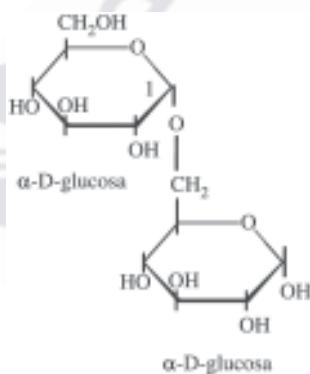
Los disacáridos están constituidos por dos monosacáridos unidos mediante enlace glicosídico (capítulo 7).

Los homodisacáridos están formados por el mismo monosacárido, a este grupo pertenecen la maltosa, la isomaltosa, la celobiosa y la trealosa. En los heterodisacáridos se obtienen monosacáridos diferentes, aquí encontramos la lactosa y la sacarosa.

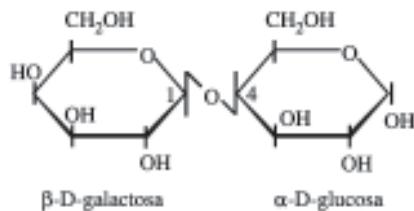
Maltosa. Es un disacárido integrado por dos moléculas de α -D-glucosa, unidas por enlace glicosídico α 1-4; es un glucósido, su fuente principal es la hidrólisis parcial del almidón y del glucógeno que se produce en el tracto gastrointestinal del organismo animal durante el proceso de digestión.



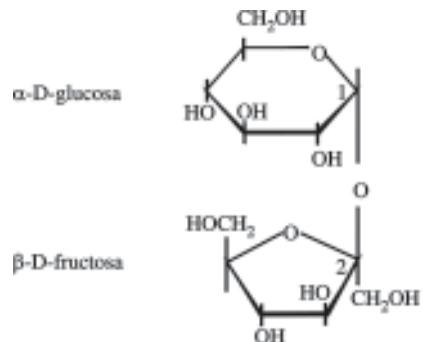
Isomaltosa. Es un disacárido integrado por dos moléculas de α -D-glucosa, unidas por enlace glicosídico α 1-6; es un glucósido; su fuente, al igual que la maltosa, es la hidrólisis parcial del almidón y del glucógeno.



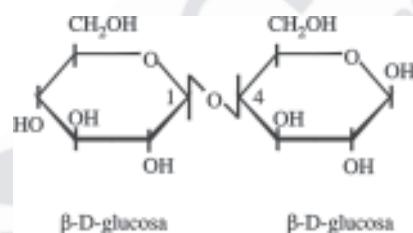
Lactosa. La lactosa es un disacárido integrado por una molécula de β -D-galactosa y otra de α -D-glucosa, unidas por enlace glicosídico β 1-4; es un galactósido, porque la galactosa brinda su hidroxilo anomérico al enlace glicosídico. Su fuente es la leche, donde existe en forma libre entre 2 y 6 %; solo se sintetiza en la glándula mamaria durante la lactancia.



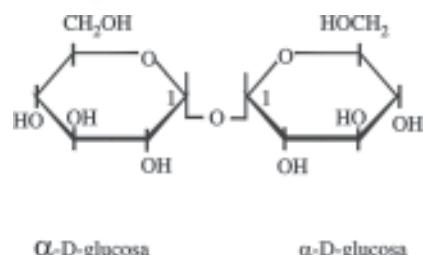
Sacarosa. Es un disacárido formado por una molécula de α -D-glucosa y otra de β -D-fructosa, esta última en su forma furanósica, unidas por enlace glicosídico $\alpha 1-\beta 2$ o $\beta 2-\alpha 1$, o sea, ambos hidroxilos anoméricos integran el enlace acetálico, por lo que es a su vez un α -glucósido y un β -fructósido. Sus fuentes principales son la caña de azúcar y la remolacha, también está presente en el resto de las plantas, pero en cantidades menores. En muchas plantas constituye la forma principal de transporte de azúcar desde las hojas hacia otras partes. Los animales superiores no la pueden sintetizar. Es importante en la dieta humana, usada como edulcorante.



Celobiosa. Es un disacárido integrado por dos moléculas de β -D-glucosa, unidas por enlace glicosídico β 1-4. En este caso el enlace es de tipo β , a diferencia de la maltosa, por ejemplo. Su fuente es la hidrólisis de la celulosa.



Trealosa. Es un disacárido integrado por dos moléculas de α -D-glucosa, unidas por enlace glicosídico α 1-1; es uno de los principales constituyentes de la hemolinfa de los insectos, en los que actúa como reserva energética.



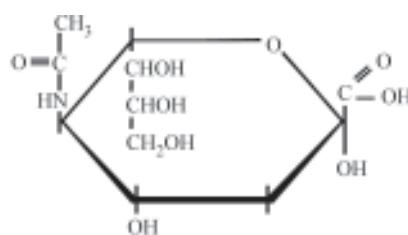
Importancia de los disacáridos

Los disacáridos maltosa, isomaltosa, lactosa y sacarosa son hidrolizados al nivel del intestino delgado, por enzimas disacaridasas específicas, que están localizadas en el borde “en cepillo” del enterocito, desde donde sus monosacáridos constituyentes ingresan al organismo y sirven principalmente de fuente de energía.

Glicoproteínas

Son proteínas conjugadas cuyo contenido glucídico puede ser desde 1 % a más de 85 % del peso, ya que pueden contener desde varios residuos glucídicos hasta numerosas cadenas laterales de oligosacáridos lineales o ramificados, unidos por enlace covalente.

Muchas de las proteínas de las membranas plasmáticas son glicoproteínas, por ejemplo, la glicoferina de la membrana eritrocitaria y el receptor de insulina; también son glicoproteínas algunas hormonas, como la gonadotropina coriónica y todas las proteínas plasmáticas de los seres humanos, excepto la albúmina. En el caso de las glicoproteínas solubles, la cadena oligosacárida de la mayoría termina en ácido siálico. La pérdida del ácido siálico determina el reconocimiento por receptores hepáticos específicos de estas asialoglicoproteínas, su captación y posterior degradación intralisosomal.



Por ejemplo, la ceruloplasmina es una sialoglicoproteína plasmática que transporta cobre; la pérdida del ácido siálico la convierte en una asialoglicoproteína que permite su eliminación y posterior reemplazo.

En otros casos, durante la síntesis de proteínas, la unión de un oligosacárido en particular es lo que va a determinar su destino ulterior, que puede ser hacia un organismo subcelular específico o en la superficie externa de la membrana plasmática, por ejemplo, la adición de manosa-6-fosfato al extremo de la cadena oligosacárida de determinadas glicoproteínas enzimáticas condiciona que sean transportadas a los lisosomas.

Principales funciones de las cadenas de oligosacáridos en las glicoproteínas:

1. Modulan propiedades físico-químicas como solubilidad, viscosidad, carga y desnaturización.
2. Protegen contra la proteólisis (intracelular y extracelular).
3. Intervienen en la inserción dentro de las membranas, en la migración celular, distribución y en la secreción.
4. Intervienen en el desarrollo embrionario y en la diferenciación (interacción entre células normales).

Existen enfermedades por deficiencias genéticas en la actividad de glicoproteínas hidrolasas lisosómicas específicas, entre estas se encuentran la manosidosis, fucosidosis y sialidosis que tienen como denominador común el retardo mental. Otro ejemplo es la enfermedad de células I, los pacientes no poseen la enzima que añade la manosa-6-fosfato a las enzimas lisosomales; estas glicoproteínas, al no poseer la señal de reconocimiento, no pueden ser orientadas correctamente, por lo que los lisosomas de estos pacientes carecen de casi la totalidad de sus enzimas.

Glicoesfingolípidos

En los gangliósidos los oligosacáridos constituyen la porción polar de su estructura (capítulo 13). Estos oligosacáridos también son informacionales y contienen ácido siálico; cuando forman parte de los lípidos de las membranas plasmáticas pueden ser importantes en la comunicación, el contacto intercelular, al integrar receptores celulares.

Polisacáridos

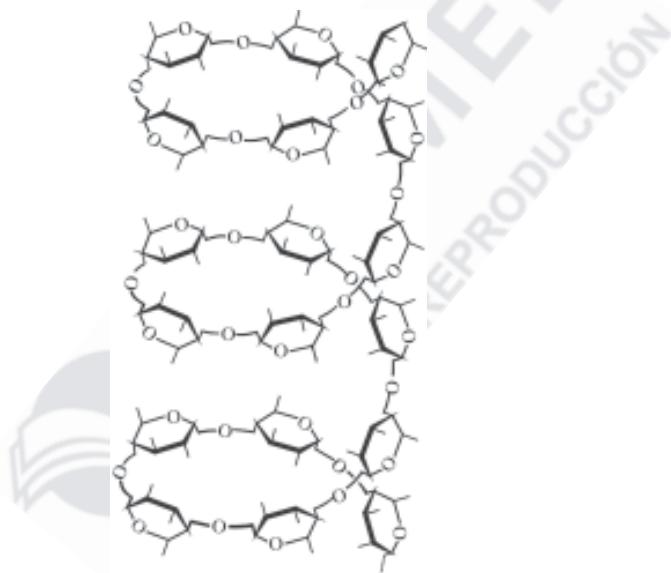
Los polisacáridos son polímeros de monosacáridos, unidos mediante enlace glicosídico; poseen peso molecular elevado, son estables en medio acuoso y a diferencia de los ácidos nucleicos y las proteínas no tienen un número exacto de monómeros. Difieren entre sí en el tipo de monosacárido que los constituyen y el tipo de enlace que los une, en la longitud de sus cadenas, en el grado de ramificación y en su función biológica. Se clasifican en homopolisacáridos y heteropolisacáridos.

Homopolisacáridos

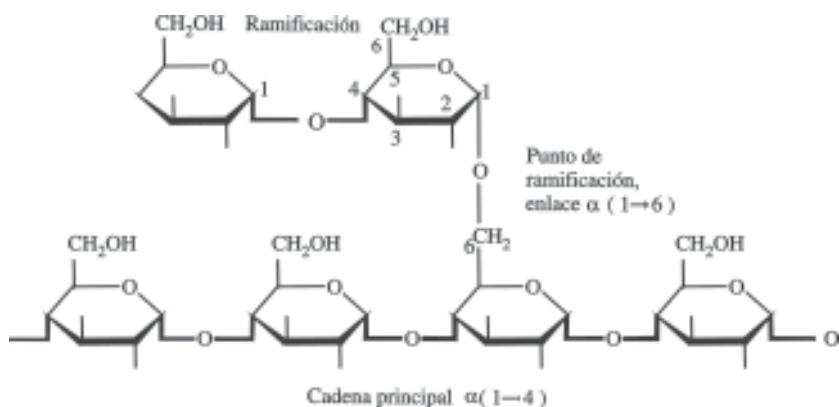
Los homopolisacáridos son polímeros del mismo monosacárido; entre los principales se encuentran: el almidón, el glucógeno, la celulosa, la pectina y la quitina.

Almidón. El almidón está formado por dos tipos de polímeros: la amilosa, de 15 a 20 %, y la amilopectina, de 80 a 85 %.

La amilosa es un polímero lineal largo de α -D-glucosas, unidas mediante enlace glicosídico del tipo α 1-4, lo cual determinan que adopten una estructura helicoidal, cuyo peso molecular puede variar desde unos pocos millares hasta 500 000.



La amilopectina es un polímero ramificado, cuyo peso molecular puede llegar hasta 100 millones; los residuos sucesivos de glucosa están unidos por enlaces glicosídicos α 1-4; pero cada 24 a 30 residuos existen puntos de ramificación mediante un enlace glicosídico del tipo α 1-6.



Esta molécula se encuentra muy hidratada porque sus abundantes grupos hidroxilos expuestos forman puentes de hidrógeno con el agua.

Función. Es el polisacárido de reserva de energía más importante en las células vegetales. La mayor parte de estas células tienen un conjunto enzimático que les permite sintetizar el almidón, especialmente abundante en tubérculos, como la papa, y en semillas, como el maíz; constituye uno de los glúcidos más abundante en la dieta.

Glucógeno. Es un polímero ramificado con peso molecular de varios millones, cuyo precursor es la α -D-glucosa, que se unen por enlace glicosídico α 1-4, lo que permite el crecimiento del polímero en sentido lineal, y por enlaces glicosídicos α 1-6, que facilitan el establecimiento de ramificaciones cada 8 o 12 residuos monosacáridos (Fig. 10.1). Al ser una molécula mucho más ramificada que la amilopectina, es mucho más soluble; puede contener hasta 10 % de glucosamina.

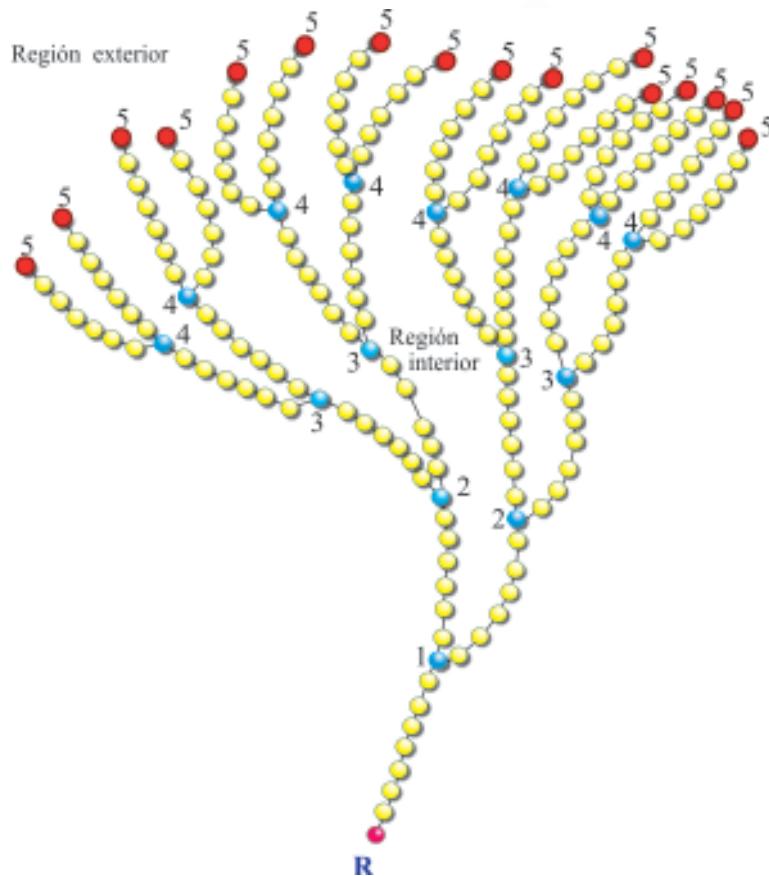
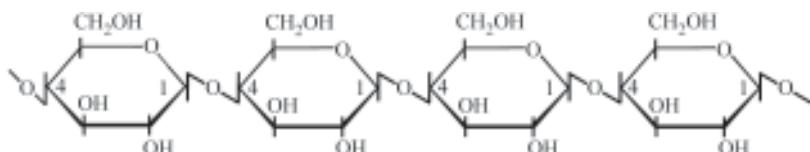


Fig. 10.1. Estructura del glucógeno. Estructura general. R= único residuo de glucosa que tiene el OH anomérico (C_1) libre (en violeta). Los residuos señalados en rojo tienen el OH del C_4 libre. Los números se refieren al orden en que las ramificaciones se van desarrollando. Los residuos señalados en azul son los puntos de ramificación.

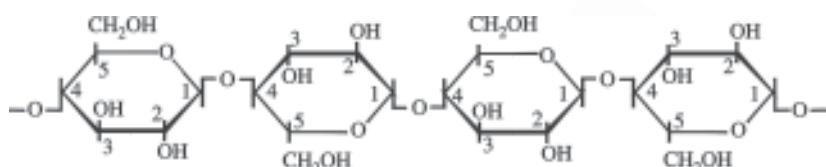
Estructura supramacromolecular. Con el microscopio electrónico fue posible observar que las partículas de glucógeno tienen tres niveles de organización, cada uno de estos con una morfología y tamaño característicos. Las unidades más grandes, las partículas α , son esferoidales y miden entre 50 y 200 nm, con un promedio de 150 nm. Estas partículas están formadas por unidades más pequeñas –las partículas β , redondas o poliédricas y con un diámetro de 30 nm. En el interior de las partículas β existe una estructura más fina, las partículas γ , constituidas por bastones de 3,20 nm. Las diferentes unidades del glucógeno se disocian por la acción de ácidos.

Función. Es el homopolímero de reserva más importante en las células animales. El almacén de glucógeno es limitado; es especialmente abundante en el tejido hepático, hasta el 10 o 12 % de su peso húmedo, y en el músculo esquelético hasta el 2 %.

Celulosa. La celulosa es un homopolímero lineal, cuyo precursor, la β -D-glucosa, está unida mediante enlaces glicosídicos del tipo β 1-4.



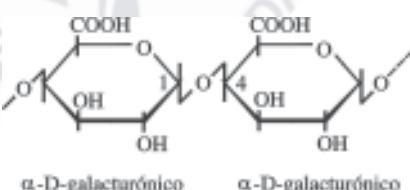
La conformación más estable es aquella en que cada precursor se halla girado 180° con respecto al precedente, formándose una cadena recta y extendida.



Varias cadenas adyacentes pueden formar una red estabilizada por puentes de hidrógeno intercatenarios, que da lugar a fibras supramacromoleculares lineales y estables, de gran resistencia a la tensión.

Esta sustancia fibrosa, resistente e insoluble, por lo que posee función estructural, se encuentra en las paredes celulares de algunas plantas, en particular tallos, troncos y en todos los tejidos vegetales.

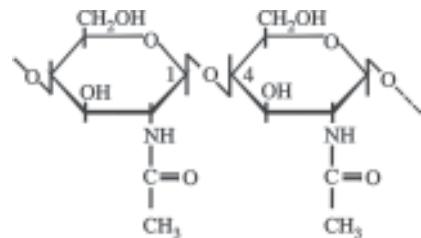
Pectina. Está formada por ácido D-galacturónico, unido por enlace glicosídico α 1-4, contiene muchos carboxilos en forma de metilésteres.



Función. Está presente en las frutas y forma geles con la sacarosa. Como es muy porosa, adsorbe gran cantidad de sustancias tóxicas; facilita la coagulación de la leche en la cavidad gástrica, en forma de grumos pequeños y blandos. Por ser hidrófila contribuye a la formación de un bolo fecal más voluminoso. Ayuda a restablecer la flora intestinal al favorecer la germinación intestinal de algunas especies bacterianas antagónicas a las patógenas; debido a estas propiedades se usa con determinada frecuencia en el tratamiento de varios tipos de diarreas infantiles y algunas colitis del adulto.

Quitina. Es un homopolímero lineal cuyo precursor es la N-acetil-D-glucosamina, unido mediante enlace glicosídico de tipo β 1-4; este precursor es una β -D-glucosa que tiene en C-2 un grupo amino acetilado, en vez de un hidroxilo.

Es el componente principal de los exoesqueletos duros de artrópodos como: langostas, cangrejos, insectos, hasta completar un millón de especies, que lo hace el segundo polisacárido más abundante en la naturaleza.



N- acetilglucosamina N- acetilglucosamina

Heteropolisacáridos

Peptidoglicanas. Las células bacterianas poseen una membrana externa protectora y una membrana plasmática interna; entre ambas membranas se encuentra una capa fina y resistente de peptidoglicanas, que le confiere a la célula su forma y rigidez características.

Una peptidoglicana está formada por un heteropolisacárido, unido por enlace covalente, a cadenas peptídicas.

El polisacárido está constituido por unidades alternas de N-acetil-glucosamina y ácido N-acetil-murámico, unidos por enlace β 1-4. Estos polímeros tienen una conformación extendida, consecuencia del enlace, y los péptidos unidos a él permiten el entrecruzamiento de varios polímeros mediante enlaces de tipo covalente (Fig. 10.2).

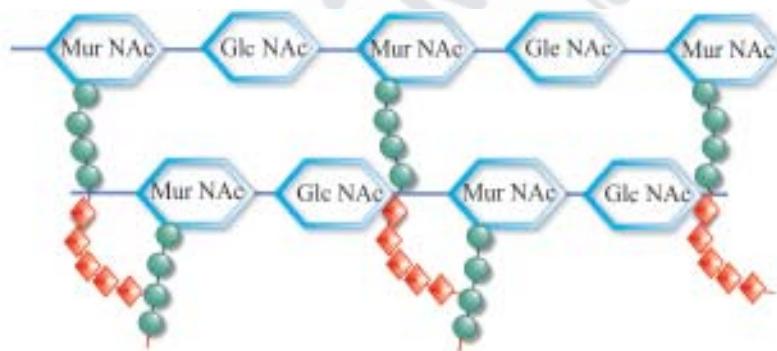


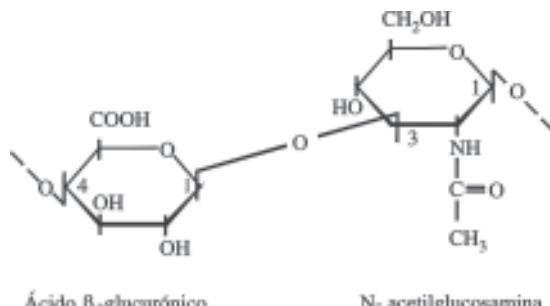
Fig. 10.2. Peptidoglicana de la pared celular de la bacteria grampositiva *Staphylococcus aureus*. Los péptidos (en verde y rojo) se unen por enlace covalente al ácido N-acetil-murámico y entrelazan las dos cadenas de heteropolisacáridos. Glc NAc son las iniciales del N-acetil-glucosamina y Mur NAc las del N-acetil-murámico .

La enzima lisozima cataliza la ruptura de los enlaces β 1-4 establecidos entre estos dos precursores. Esta enzima se encuentra en las lágrimas, donde es probable que actúe como protección contra las células bacterianas , al destruirlas. También sintetizan esta enzima algunos virus bacterianos, lo que garantiza su liberación desde las células huésped.

Las glicosaminoglicanas son polímeros lineales, donde se repite un tipo de disacárido. Uno de los monosacáridos es N-acetilglucosamina o N-acetilgalactosamina; el otro casi siempre es un ácido urónico, el glucurónico o el L-idurónico.

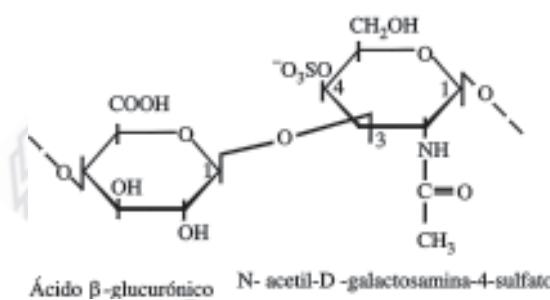
Glicosaminoglicanas o mucopolisacáridos ácidos. En algunas glicosaminoglicanas uno o más grupos hidroxilo del aminoazúcar se encuentra esterificado con un grupo sulfato. La carga negativa que a pH fisiológico posee el grupo carboxilo del ácido urónico y el grupo sulfato, junto con los enlaces β que unen a los monosacáridos, determinan que estas moléculas adopten una conformación extendida en solución que produce elevada viscosidad. A continuación estudiaremos el ácido hialurónico, el sulfato de condroitina, el sulfato de queratán, la heparina, el sulfato de dermatán y el sulfato de heparán.

Ácido hialurónico. El ácido hialurónico posee un disacárido repetitivo, formado por ácido glucurónico unido por enlace glicosídico β 1-3 a una N-acetil-glucosamina. Esta cadena está constituida por aproximadamente 50 000 disacáridos, unidos por enlace glicosídico β 1-4. Forman disoluciones claras y viscosas y se encuentran en el líquido sinovial, cuerpo vítreo y tejido conectivo.



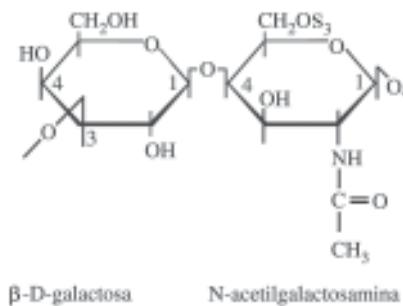
Funciones principales. Actúa como lubricante en el líquido sinovial de las articulaciones. Confiere su consistencia gelatinosa al cuerpo vítreo en el ojo de los vertebrados. Es componente central de la matriz extracelular de cartílagos y tendones, en los que contribuye a su resistencia, tensión y elasticidad. Facilita la migración celular durante la morfogénesis y la reparación de las heridas.

Sulfato de condroitina. El sulfato de condroitina, condroitín-4-sulfato y condroitín-6-sulfato, está formado por 20 a 60 unidades del disacárido compuesto por la unión, mediante enlace glicosídico β 1-3, de ácido glucurónico y de N-acetil-galactosamina-sulfato. Los disacáridos se unen por enlace β 1-4. Se encuentra en cartílagos, huesos y córnea, junto con el ácido hialurónico interviene en la compresibilidad del cartílago cuando soporta peso.

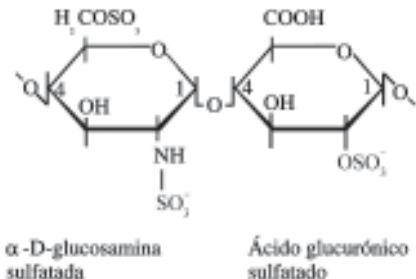


Sulfato de queratán. El sulfato de queratán está integrado por el disacárido repetitivo formado por galactosa y N-acetil-galactosamina, unidos mediante enlace glicosídico β 1-4. Los disacáridos se unen por enlace glicosídico β 1-3.

El sulfato de queratán I se ubica en la córnea y contribuye de manera importante a su transparencia. El sulfato de queratán II está localizado en el tejido conjuntivo laxo.



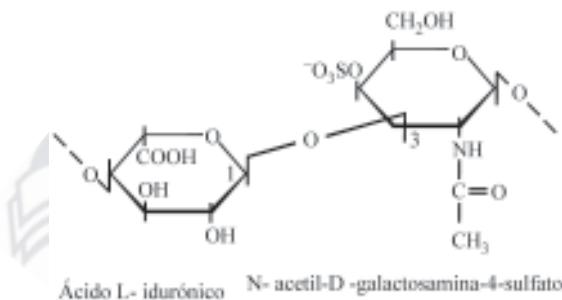
Heparina. La heparina tiene como unidad repetitiva un oligosacárido de seis residuos de monosacáridos, integrado por derivados sulfatados de D-glucosamina y del ácido glucurónico, el cual predomina en 90 %, o ácido idurónico. Los enlaces glicosídicos son de tipo α 1-4.



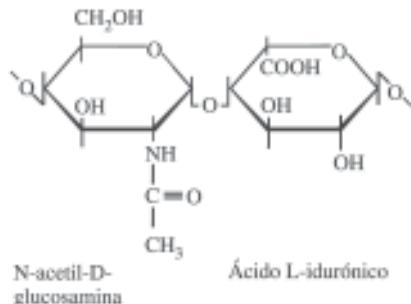
Se encuentra en gránulos en las células cebadas, particularmente abundantes en los revestimientos de las arterias, también en el hígado, pulmón y piel. Es un inhibidor potente de la coagulación, que se une a los factores IX y XI, pero su acción más notable es cuando activa la antitrombina III, lo cual propicia la inactivación de enzimas serín-proteasas, como la trombina. Además, causa la liberación de la lipasa de lipoproteínas.

Sulfato de dermatán. La unidad repetitiva está integrada por ácido L-idurónico o ácido glucurónico y N-acetil-D-galactosamina-4-sulfato, unidos por enlace glicosídico β 1-3.

Junto con el sulfato de queratán constituye la córnea y contribuye de manera importante a su transparencia. Su presencia en la córnea ayuda a mantener la forma del ojo.



Sulfato de heparán. El sulfato de heparán contiene N-acetyl-glucosamina y el ácido urónico predominante es el L-idurónico; es menos sulfatado que la heparina y componente de las membranas plasmáticas, donde puede actuar como receptor, además, participa en interacciones intercelulares como la comunicación y la adhesividad; también determina la selectividad de la carga eléctrica en el glomérulo renal. Es componente de vesículas sinápticas y otras.



Proteoglicanas

Una proteoglicana está formada por la unión de una molécula de proteína con cadenas de glicosaminoglicanas.

Las proteínas que se unen por covalencia a las glicosaminoglicanas se denominan proteínas basales o núcleo. Una proteoglicana está constituida por una cadena larga de ácido hialurónico, que ocupa la posición central. Se asocia por interacciones débiles a intervalos de 40 nm, con muchas moléculas de proteínas núcleo (Fig. 10.3). Cada proteína núcleo tiene unida mediante enlace covalente muchas moléculas de glicosaminoglicana más cortas, como sulfato de condroitina, sulfato de queratán, sulfato de heparán y sulfato de dermatán. Cada proteína núcleo tiene unidas por enlace covalente como cadenas laterales alrededor de 150 cadenas de polisacáridos. El contenido glucídico de una molécula de proteoglicana puede constituir hasta el 95 % de su peso.

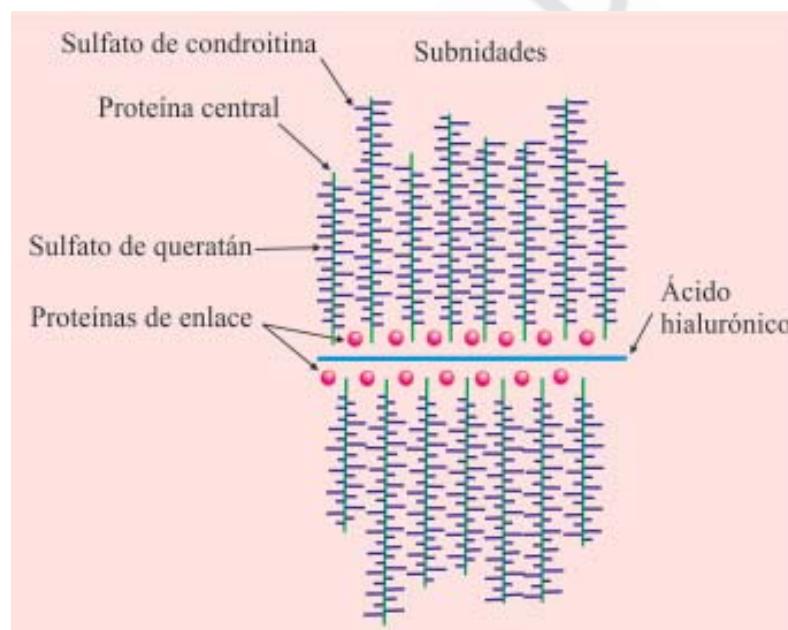


Fig. 10.3. Representación esquemática del agregado de proteoglicana. En rojo, el ácido hialurónico; en azul, la proteína central o núcleo; en verde, la proteína de enlace; en negro, el sulfato de condroitina y el sulfato de queratán.

Como consecuencia del gran número de grupos hidroxilos y de cargas negativas de las moléculas, las proteoglicanas tienen la posibilidad de hidratarse, por lo que ocupan gran espacio y pueden lubricar o acopiar otras estructuras.

Las proteoglicanas son moléculas extraordinariamente complejas que se encuentran en todos los tejidos del cuerpo, con predominio en la matriz extracelular o sustancia basal; se unen entre sí, así como a la colágena o a la elastina influyen en la determinación del ordenamiento de la matriz. También interactúan con proteínas adhesivas, por ejemplo, la fibronectina y la laminina. Por su gran tamaño y porque presentan en el espacio una estructura extendida, ocupan un volumen mayor en relación con las proteínas.

Las glicosaminoglicanas presentes en las proteoglicanas son polianiones, por lo que se unen a cationes como Na^+ y K^+ y modifican la presión osmótica y atraen agua

a la matriz extracelular. Al convertirse en gel confieren a las proteoglicanas la propiedad de servir de filtro y dejan pasar moléculas pequeñas por difusión relativamente libre.

También se encuentran ubicados intracelularmente; en el núcleo celular su función es aún desconocida. En algunos gránulos de almacenamiento o secretores, como en los gránulos cromafines de la médula suprarrenal, forman parte del mecanismo de liberación del contenido de estos.

Resumen

Los polisacáridos son las biomoléculas más abundantes en la naturaleza, cuyas funciones más generales son las de almacenamiento, estructural y de reconocimiento.

Los oligosacáridos pueden estar integrados por 2 y hasta 10 monosacáridos generalmente sustituidos, unidos mediante enlaces glicosídicos del tipo α o β .

Los disacáridos están formados puros monosacáridos iguales o diferentes. La maltosa, la isomaltosa y la celobiosa están formados por unidades de D-glucosa.

La lactosa está formada por una β -D-galactosa y una α -D-glucosa, y la sacarosa por una α -D-glucosa unida a una β -D-fructosa.

Son glicoproteínas muchas de las proteínas de las membranas plasmáticas, algunas hormonas y todas las proteínas plasmáticas, excepto la albúmina. Entre sus funciones principales se encuentran que modulan propiedades físico-químicas y protegen contra la proteólisis intracelular y extracelular. Intervienen como señales en el destino intracelular de muchas proteínas y en las interacciones célula-célula.

Los polisacáridos contienen más de 10 monosacáridos pueden ser homopolisacáridos, si todos sus monosacáridos constituyentes son iguales, o heteropolisacáridos, si son diferentes. El glucógeno es un homopolímero de D-glucosas unidas mediante enlace glicosídico α 1-4, ramificado mediante uniones α 1-6 cada 8 a 12 residuos. El almidón está formado puros polímeros, la amilopectina, que se diferencia del glucógeno en que se ramifica cada 24 o 30 residuos, y el de amilosa que es lineal. Ambos son reservas de energía en los animales y los vegetales, respectivamente. La celulosa es un homopolisacárido lineal donde las D-glucosas están polimerizadas mediante enlace glicosídico del tipo β 1-4. Existe en los vegetales donde cumple función estructural al formar fibras resistentes e insolubles. La pectina está constituida por ácido D-galacturónico unidos por enlace α 1-4; forma geles con la sacarosa, es muy hidrófila y ayuda a establecer la flora intestinal, por lo que se emplea en el tratamiento de algunos tipos de diarreas en los niños.

Entre los heteropolisacáridos tenemos las glucosaminoglicanas mucopolisacáridos, formados en general por un disacárido, constituido por una N-acetil-glucosamina o por una N-acetil-galactosamina unida al ácido glucurónico o al ácido-L-idurónico. A este grupo pertenecen el ácido hialurónico, el sulfato de condroitina, el sulfato de queratán, la heparina, el sulfato de dermatán y el sulfato de heparán. El ácido hialurónico se relaciona con el proceso de reparación de las heridas, junto con el sulfato de condroitina interviene en la compresibilidad del cartílago. Los sulfatos de queratán y de dermatán contribuyen de manera importante a la transparencia de la córnea. La heparina es un potente anticoagulante y el sulfato de heparán es un componente importante de las membranas plasmáticas, cuya función se relaciona con el reconocimiento celular y con las interacciones intercelulares.

Las proteoglicanas se forman por la unión entre una molécula de proteína y las glicosaminoglicanas. Son moléculas extraordinariamente complejas, que se encuentran en todos los tejidos del cuerpo, con predominio en la matriz extracelular donde influye en su ordenamiento.

Ejercicios

1. Demuestre que se cumple el carácter polimérico en los polisacáridos.
2. Compare el almidón y el ácido hialurónico de acuerdo con los principios de organización de las macromoléculas.
3. Compare estructuralmente el almidón y el glucógeno.
4. Realice un estudio del glucógeno donde demuestre la relación estructura-función.
5. Realice un estudio de la celulosa donde demuestre la relación estructura-función.
6. Demuestre si los oligosacáridos que forman parte de las glicoproteínas son informationales o no.
7. Realice una tabla donde compare los diferentes homopolisacáridos, sobre la base de sus semejanzas y diferencias.
8. Realice una tabla comparativa entre los diferentes glicosaminoglicanos o mucopolisacáridos ácidos.
9. Explique la importancia funcional de los polisacáridos.

Capítulo
11

Estructura de los ácidos nucleicos

Los ácidos nucleicos constituyen la segunda macromolécula de importancia biológica después de las proteínas, y sus funciones están muy relacionadas con estas últimas. Como macromoléculas presentan las características e estructurales comunes, como ya fue estudiado en el capítulo 9, pero tienen aspectos que son exclusivos de ellas.

Las funciones de los ácidos nucleicos están relacionadas con el funcionamiento del aparato genético celular, o sea, con el conjunto de moléculas y mecanismos que garantizan la transmisión y expresión de los caracteres hereditarios de generación en generación y, por tanto, son de gran valor en la perpetuación de las especies.

El descubrimiento de su estructura fue uno de los más importantes hitos de la biología contemporánea, y de ello hace apenas algo más de 50 años. Desde entonces, muchos son los datos que han enriquecido el conocimiento de la estructura y las funciones de estos compuestos, de forma tal que en nuestros días existe una imagen bastante aproximada de estas.

Dos son los tipos principales de ácidos nucleicos que se diferencian, tanto estructural como funcionalmente: los ácidos desoxirribonucleicos (ADN) y los ácidos ribonucleicos (ARN). De cada uno de estos existen diferentes subtipos. Ambos surgen como consecuencia de la polimerización de unidades estructurales más sencillas, denominadas nucleótidos, que ya fueron estudiados en el capítulo 8. Presentan estructuras tridimensionales complejas, muy relacionadas con las funciones que realizan, y son portadores de información molecular.

Tipos y funciones

Aunque los ácidos nucleicos realizan varias funciones todas están relacionadas con la conservación, transmisión y expresión de la información genética.

Desde el punto de vista funcional los ADN cumplen solo la función de reservorios celulares de la información genética, en tanto los ARN pueden realizar funciones diferentes, aunque todas ellas relacionadas con la síntesis y el procesamiento de proteínas. Entre estas funciones tenemos:

1. Dirigen la síntesis de proteínas en el proceso de la traducción, como se estudiará en el capítulo 30.

2. Forman parte de la estructura de los ribosomas y parecen tener allí una participación funcional importante. Este aspecto será estudiado en detalles en el capítulo 29.
3. Preparan a los aminoácidos para la síntesis de las proteínas y los transfieren al ribosoma, como se verá en el capítulo 30.
4. Algunos ARN participan en el procesamiento de otros ARN. El estudio de esta función se realiza en el capítulo 27.
5. Participan en el proceso de secreción de proteínas, como se verá en el capítulo 29.
6. Algunos ARN presentan cierta actividad catalítica por sí y otros contribuyen a la actividad catalítica de las proteínas. Este aspecto se desarrolla en el capítulo 25.
7. Actúan como “chaperonas” moleculares en el procesamiento de algunos ARN transcritos primarios. Esta función será abordada en el capítulo 27.
8. En algunos organismos (virus) son los portadores de la información genética (capítulo 78).

Por razones de índole didáctico en este capítulo se estudiará primero la estructura de los ADN y después la de los ARN, y se resaltarán, siempre que sea posible, sus analogías y diferencias.

ADN como material genético

Después de muchos años de investigaciones, los trabajos de Watson y Crick demostraron que el ADN es el material genético.

En 1928 Frederick Griffith realizó un experimento singular; para ello utilizó el *Diplococcus pneumoniae*, una bacteria que es el agente causal de algunos tipos de neumonía. Al crecer en un medio de cultivo, las colonias de estas bacterias tienen un aspecto liso (L), ya que están encapsuladas por un polisacárido gelatinoso que contiene el antígeno, mediante el cual reconoce a las células que infecta. Un mutante carente de esa cubierta y, por tanto, no patógeno, forma colonias rugosas (R).

Griffith inyectó ratones con bacterias L muertas por calor y R vivas. De manera sorpresiva los ratones morían por neumonía, pero más sorprendente fue el hecho de que en la sangre de los ratones se encontraron bacterias L vivas, las cuales al ser cultivadas originaban bacterias de tipo L. Estos resultados suponen que las bacterias L transformaron a las R y que esa transformación tenía carácter permanente.

En busca de la naturaleza química de ese principio transformante, en 1944 Oswald Avery, Colin MacLeod y Maclyn McCarty encontraron que el principio transformante no se afectaba por el tratamiento con tripsina, quimotripsina o ribonucleasa, pero era totalmente inactivo después de su exposición a la acción de las desoxirribonucleasas, por tanto, el principio transformante era el ADN. Este resultado no fue aceptado con simpatía por la comunidad científica. En esa época se pensaba que el ADN tenía una estructura tan simple que era incapaz de servir como portador de la información genética.

En 1952 Alfred Hershey y Martha Chase hicieron crecer el fago T2 en un cultivo de *Escherichia coli* que contenía ^{32}P y ^{35}S . De esta forma las proteínas del virus eran marcadas con el ^{35}S , mientras el ADN lo era con el ^{32}P . Se transfirió el fago hacia un cultivo de *E. coli* con medio no radiactivo y, después de un tiempo suficiente para producir la infección, el cultivo fue agitado vigorosamente en una licuadora doméstica para separar las partículas virales de la bacteria. La preparación se centrifugó en condiciones que facilitaban la sedimentación de las bacterias y que los materiales menos pesados quedaran en el sobrenadante. El análisis radiactivo mostró que la mayor

parte del ^{35}S quedaba en el sobrenadante, mientras casi todo el ^{32}P se recobraba en el precipitado. Además, mientras en la progenie del virus solo aparecía el 1 % del ^{35}S , en esta se conservaba más del 30 % del ^{32}P . Hershey y Chase concluyeron que solo el ADN era esencial para la reproducción del virus y por tanto debía ser el material genético.

En 1953 Watson y Crick propusieron un modelo molecular para el ADN, basados en estudios de cristalografía de rayos X, que ha sido corroborado suficientemente con posterioridad. Este modelo no solo permitía comprender cómo el ADN podía servir de reservorio de la información genética, también sugería el mecanismo básico para la trasmisión de esa información de una generación a otra. De esta forma quedó firmemente establecida la idea de que la molécula portadora de la información genética es el ADN.

Estructura primaria de los ADN

La estructura primaria del ADN se define como el orden o sucesión de los desoxinucleótidos de la cadena polinucleotídica.

En el estudio de las macromoléculas el concepto de estructura primaria se refiere al orden o sucesión de los precursores en la cadena polimérica. Estos precursores se unen por medio de enlaces covalentes, que suelen ser los más fuertes entre todas las interacciones que contribuyen a mantener la estructura tridimensional de las macromoléculas. La estructura primaria de los ADN se define como el orden o sucesión de los desoxinucleótidos a lo largo de la cadena polinucleotídica. Ahora bien, como quiera que de los tres componentes del desoxinucleótido solo existe variación en la base nitrogenada, se acostumbra hablar de la sucesión de las bases y no de los desoxinucleótidos. Los desoxinucleótidos se unen por los hidroxilos de C3' y C5' mediante un grupo fosfato; este grupo se esterifica hacia ambas posiciones, por lo que el enlace recibe el nombre de 3', 5'-fosfodiéster con lo cual se origina una cadena lineal, o sea, carente de ramificaciones, una característica que es común a casi todas las macromoléculas. Se representa un pequeño sector de una hebra de ADN (Fig. 11.1).

Si se observa una cadena polinucleotídica se verá que todos los desoxinucleótidos están unidos a otros dos (uno por su C3' y otro por su C5'), excepto los extremos. En un extremo solo está comprometido en el enlace fosfodiéster el C3' -OH, mientras que el grupo fosfato de la posición C5' está libre; en el otro extremo es el C3' -OH el que se encuentra libre; esto significa que los dos extremos de la cadena son diferentes, por eso se dice que la cadena polinucleotídica tiene polaridad. Se define como el primer componente de la cadena al desoxinucleótido que tiene libre el fosfato de la posición C5' y el último al del C3' -OH, y se dice que la cadena tiene una polaridad 5' → 3'. En la figura 11.2 se muestran las características de una cadena polinucleotídica.

Cuando dos cadenas se colocan una al lado de la otra, si los extremos 5' de las dos cadenas coinciden, y también coinciden los 3', se dice que las cadenas tienen una disposición paralela. En el caso contrario se les designan como antiparalelas.

El grupo fosfato se encuentra disociado a pH fisiológico, cada uno porta una carga negativa, por lo que el polímero posee características de un polianión que atrae fuertemente iones de carga contraria.

Las reglas de Chargaff establecieron las principales regularidades en la composición de los ADN.

Durante la década de los años 40 Edwing Chargaff estudió la composición de bases de los ADN de diferentes orígenes. El ADN era hidrolizado y sus productos identificados y cuantificados por medio de cromatografía en papel; de esos estudios se derivaron importantes conclusiones:

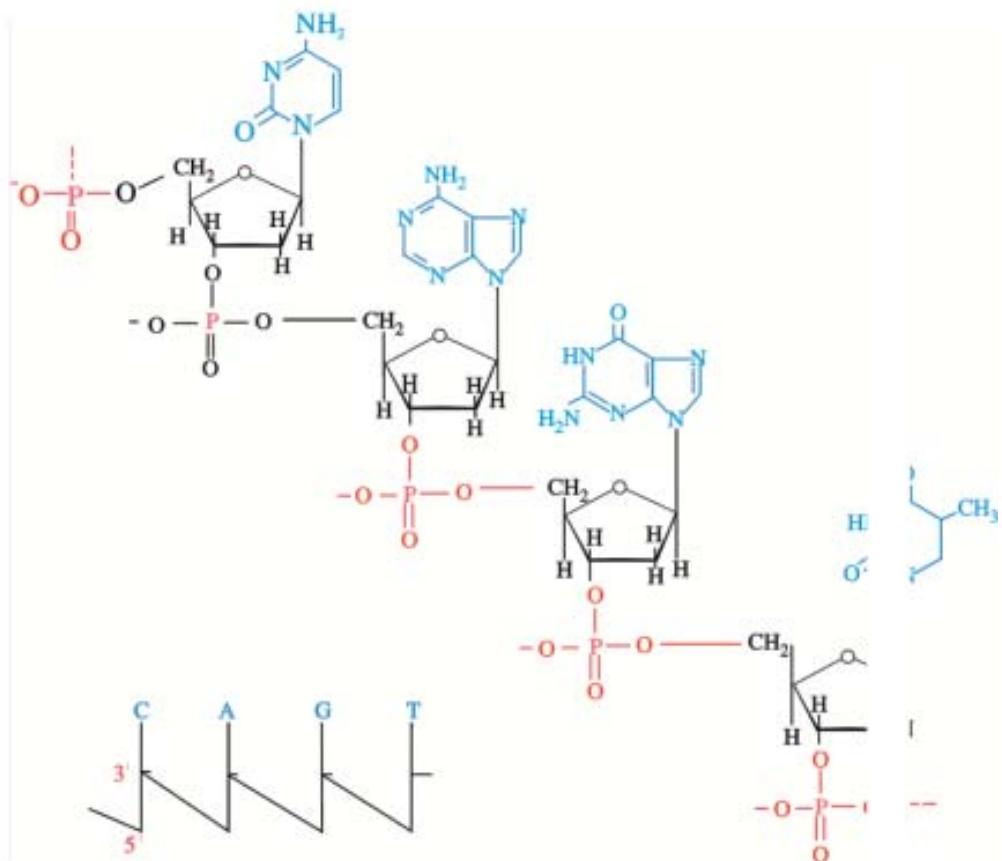


Fig. 11.1. Estructura polimérica del ADN. En la parte superior se muestra un segmento de una hebra del ADN donde aparece la estructura de sus cuatro bases nitrogenadas características. Obsérvese la monotonía estructural del eje covalente principal, donde se alternan la desoxirribosa y el fosfato. Abajo una representación abreviada, en la cual las letras mayúsculas representan a las bases, la línea vertical a la pentosa con su C3' en el centro y el C5' en el extremo inferior.

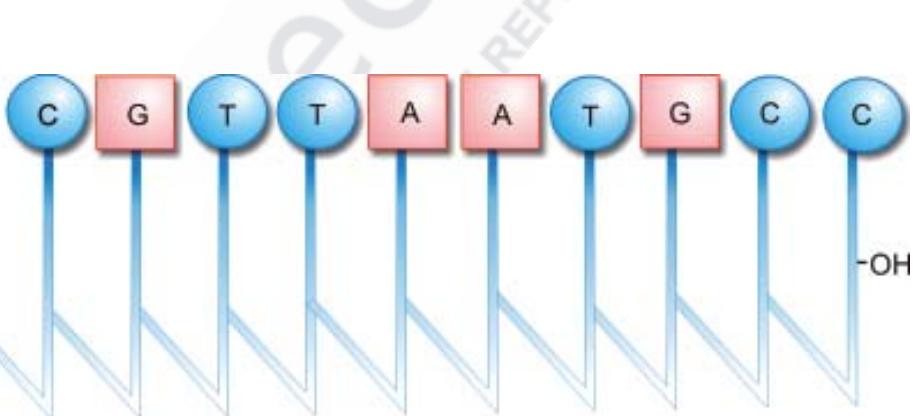


Fig. 11.2. Polaridad de una cadena polinucleotídica. Se muestra un sector de una cadena polinucleotídica en la cual las bases pirimidínicas aparecen como círculos azules y las purínicas como cuadrados rojos. La línea inclinada representa el enlace fosfodiéster. El primer nucleótido tiene libre el fosfato en la posición 5' y el último tiene libre el OH de la posición 3', por eso la polaridad de la cadena es 5' → 3'.

1. La composición de bases del ADN es característica de cada especie.
2. Diferentes células o tejidos del mismo organismo tienen una composición de bases idénticas o casi idénticas y no varía con la edad, el desarrollo, el estado nutricional u otras condiciones fisiológicas o ambientales.
3. La composición de bases muestra una amplia variación de un organismo a otro (de 25 a 75 % de G + C). Esta variación es mayor entre las bacterias que entre organismos superiores. Esto se expresa con mayor claridad por el índice de disimetría ($A + T/G + C$).
4. Mientras más cercana es la relación filogenética entre dos organismos, mayor similitud tiene la composición de bases de sus ADN.

5. Todos los ADN “normales” exhiben algunas regularidades químicas que se definen como las reglas de Chargaff, estas son: A = T; G = C; A + G = C + T (purínicas = pirimidínicas); A + C = G + T (6 ceto = 6 amino; en la nomenclatura antigua el C4 de las pirimidinas se numeraba como C6). Estas reglas no pudieron tener una explicación comprensible hasta años más tarde cuando apareció el modelo molecular del ADN. En la tabla 11.1 se relaciona la composición de bases de ADN de algunas especies.

Tabla 11.1. Composición de bases del ADN de algunas especies

Espece	A	G	C ^a	T	A+T/C+G
Bacteriófago T4	32,3	17,6	16,7*	33,4	1,91
<i>Escherichia coli</i>	24,7	26,0	25,7	23,6	0,93
Neurospora crassa	23,0	27,1	26,6	23,3	0,86
Trébol	29,9	21,0	20,4	28,6	1,41
Zanahoria	26,7	23,1	23,2	26,9	1,16
Erizo de mar	28,4	19,5	19,3	32,8	1,58
Langosta	29,3	20,5	20,9	29,3	1,41
Salmón	28,9	22,4	21,6	27,1	1,27
Trucha	29,7	22,2	20,5	27,5	1,34
Tortuga de mar	28,7	22,0	21,3	27,9	1,31
Gallina	28,0	22,0	21,6	28,4	1,29
Rata	28,6	21,4	21,5	28,4	1,33
Buey	29,0	21,2	22,4	28,7	1,36
Oveja	29,3	21,1	21,9	28,7	1,38
Hombre	30,4	19,6	20,6	30,1	1,53

^a Incluye tanto a la citosina como a su derivado metilado, la 5-metil citosina.

* Todo en forma de 5-hidroximetil citosina.

Conformación de los nucleótidos

La conformación adoptada por cada nucleótido influye sobre la conformación general del ADN.

La estructura de los nucleótidos fue estudiada en el capítulo 8; ahora pretendemos hacer un breve análisis de las características espaciales de estos compuestos (las relaciones entre sus componentes) que influyen de forma importante en la estructura tridimensional de los ácidos nucleicos, en especial de losADN; por tanto es conveniente que el lector recuerde el contenido del capítulo 8 antes de seguir adelante.

Relación base-pentosa

Tanto en losADN como en losARN la base nitrogenada está unida mediante un enlace N-glicosídico al C 1 de la pentosa. Como se trata de un enlace simple , debía existir una rotación relativamente libre de los anillos alrededor del enlace, pero existen factores como el volumen de los ciclos que lo impiden. De acuerdo con la posición relativa de la base y la pentosa, en relación con el enlace, pueden derivarse dos conformaciones: la *syn* y la *anti*.

En el primer caso las dos estructuras cíclicas se disponen del mismo lado del enlace, mientras en el segundo se disponen en lados contrarios. Cuando las bases son de tipo purínicas pueden adoptar cualquiera de las dos conformaciones, pero en el caso de las pirimidínicas el átomo de oxígeno ligado al C2 le impide adoptar la conformación *syn*, por tanto, solo existen en la configuración *anti*. Se representan estas formas isoméricas de los nucleótidos (Fig. 11.3).

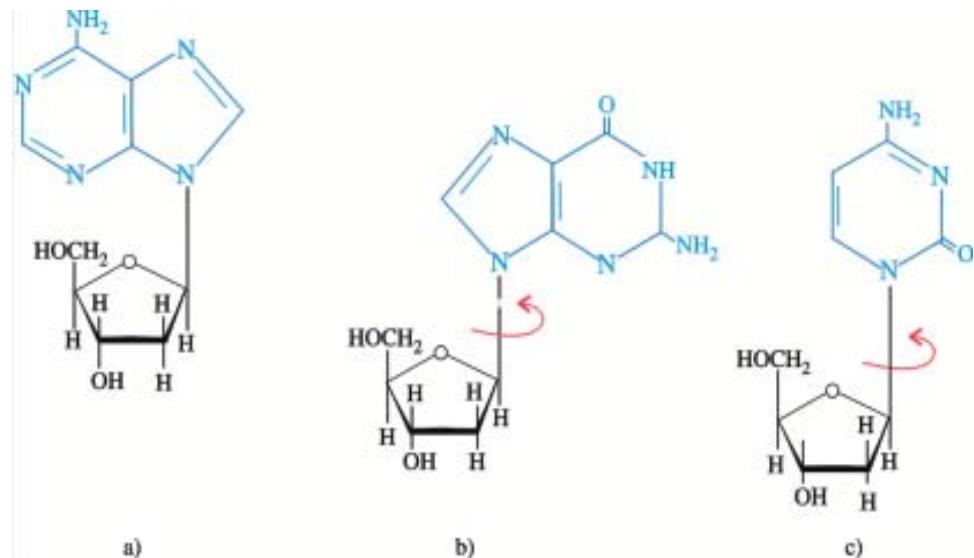


Fig. 11.3. Formas isoméricas de los nucleótidos. Se representan las conformaciones derivadas de la posición de la base y la pentosa alrededor del enlace N-glicosídico. En (a) la adenina en conformación *syn* y en (b) la guanina en posición *anti*. En (c) la citosina en la única conformación posible para ella, que es la *anti*. La saeta circular indica el giro de 180° dado por la base con respecto a la pentosa.

Conformación de la pentosa

De todas las conformaciones posibles de la desoxirribosa, la más frecuente en el ADN es la C2-endo.

La pentosa presente en la estructura de los ácidos nucleicos tiene una configuración D y se encuentra en la forma de su anómero β . Los cinco átomos que forman el anillo de la pentosa no se encuentran en el mismo plano, pues los sustituyentes de cada uno crean impedimentos estéricos que impiden la coplanaridad, lo cual obliga a que al menos uno de los átomos de carbono se encuentre fuera del plano. Si este átomo extraplanar está orientado hacia la posición del C5, se originan las formas *endo*, en tanto que si está hacia el lado contrario da lugar a las formas *exo*. En los ADN los carbonos que con más frecuencia se encuentran fuera del plano del anillo son el C2' y el C3', por lo cual se pueden originar cuatro conformaciones, a saber la C3'-endo, C2'-endo, C3'-exo y C2'-exo. El orden de frecuencia con que aparecen en eADN es C2'-endo > C3'-endo > C3'-exo > C2'-exo. Otras conformaciones de la pentosa no se han reportado en el ADN. La figura 11.4 muestra las diferentes conformaciones de la pentosa.

Relación pentosa-fosfato

En la estructura de los ácidos nucleicos las posiciones C3' y C5' están esterificadas en grupos fosforilos, dando lugar al enlace fosfodiéster. La conformación de la pentosa determina la orientación y separación de los grupos fosfatos unidos a C3' y C5'. Como se puede apreciar en la figura 11.5, en la forma C2'-endo, los grupos fosfatos se disponen a cada lado del plano de la pentosa y separados por una distancia de 0,7 nm, en tanto en la conformación C3'-endo, ambos grupos se localizan del mismo lado del plano del anillo y están separados por una distancia de solo 0,59 nm.

Estas relaciones espaciales influyen de manera notable en la estructura tridimensional de los ácidos nucleicos en general y de los ADN en particular.

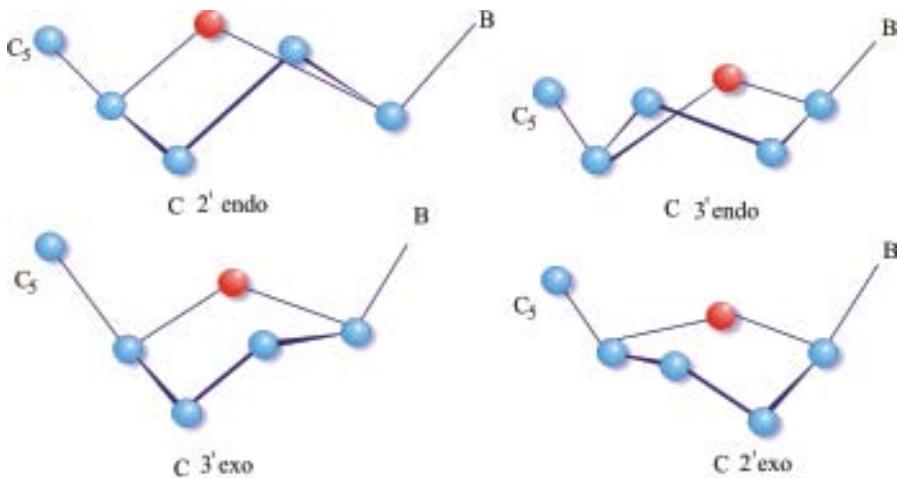


Fig. 11.4. Conformaciones de la pentosa. Se presentan las conformaciones de la pentosa que con mayor frecuencia aparecen en los ADN. Obsérvese cómo en las formas endo el carbono extraplanar está orientado en la misma posición que el C5.

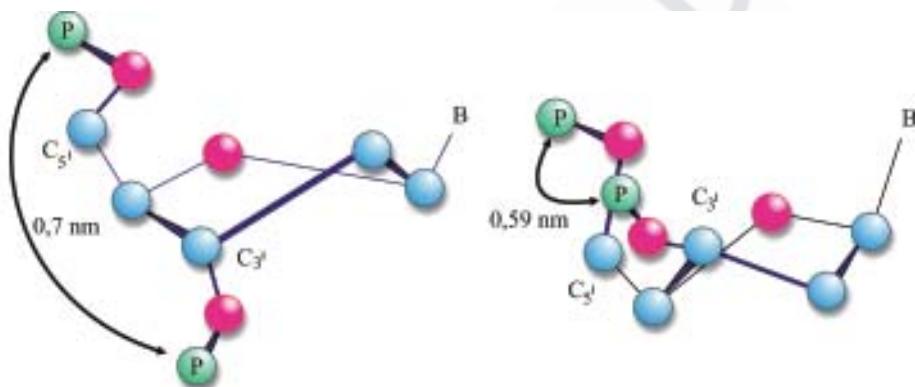


Fig. 11.5. Orientación de los grupos fosfato. La conformación de la pentosa orienta al grupo fosfato. En la forma C2'-endo, los grupos fosfato en C3' y C5' se orientan hacia lados distintos de la pentosa y están separados a una distancia de 0,7 nm, en tanto en la C3'-endo se ubican hacia el mismo lado, pero separados solo por 0,59 nm.

Estructura secundaria de los ADN

El modelo de Watson y Crick describe la estructura secundaria del ADN.

Cuando en 1953 Watson y Crick dieron a conocer el modelo molecular del ADN, resumieron en apenas una página de *Nature*, más de una década de trabajos de varios laboratorios y dieron explicación a numerosos resultados obtenidos previamente por otros grupos. Basado fundamentalmente en el método de difracción de rayos X, el modelo consta de las características siguientes:

1. La molécula está formada por dos cadenas poliméricas de desoxinucleótidos, enrolladas alrededor de un eje común con un giro hacia la derecha que adopta la forma de una doble hélice. Las cadenas enfrentadas son antiparalelas y se envuelven la una a la otra, de manera que para separarlas hay que desenrollar la hélice (Fig. 11.6).
2. Las bases nitrogenadas están orientadas hacia el interior de la hélice, en tanto el eje pentosa-fosfato está hacia el exterior. Cada base de una cadena se parea con una de la cadena opuesta, formando pares que se disponen casi perpendicularmente al eje de la hélice (Fig. 11.7).
3. El modelo ideal tiene 2 nm de diámetro con 10 pares de bases (pb) por cada vuelta de la hélice (n), lo que representa un ángulo de rotación de 36° entre pares de bases vecinos. Como las bases nitrogenadas presentan un espesor de Van der Waals de 0,34 nm (d), la hélice tiene un avance (p) de 3,40 nm por cada vuelta (Fig. 11.8).

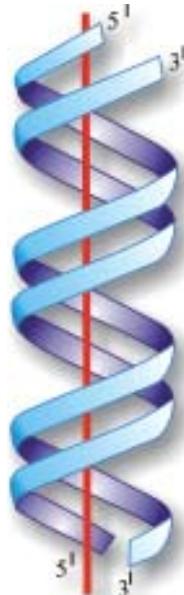


Fig. 11.6. Estructura secundaria del ADN. Esquema representativo del modelo de Watson y Crick. Las bandas azules representan el contorno del eje covalente principal, formado por la alternancia de desoxirribosa y fosfato. La línea roja vertical representa el eje de la hélice. Los números indican los extremos y se puede advertir que las cadenas son antiparalelas. Nótese que las dos hebras constituyen estructuras helicoidales derechas y al girar una sobre la otra no pueden separarse sin desenredar la hélice.

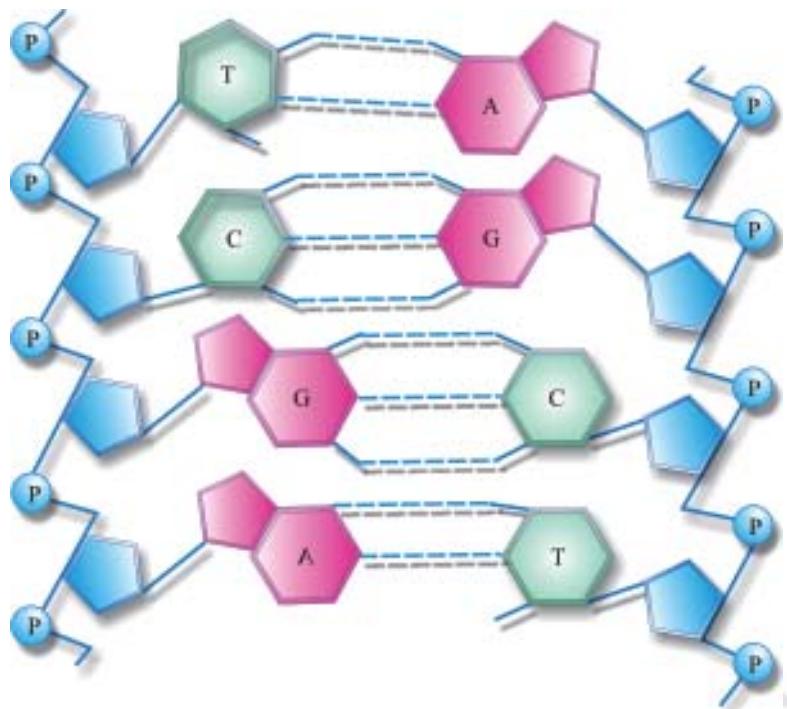


Fig. 11.7. Figura extendida del ADN. Se muestra un sector extendido de una molécula de ADN con las bases purínicas en rojo, las pirimidínicas en verde y el eje covalente principal de desoxirribosa y fosfato en azul. Observe la regularidad de la estructura que se logra con estos pares de bases, unidos por dos puentes de hidrógeno (líneas de puntos) si son adenina (A) y timina (T), así como por tres cuando son guanina (G) y citosina (C). La disposición del eje covalente principal no cambia con los distintos pares de bases.

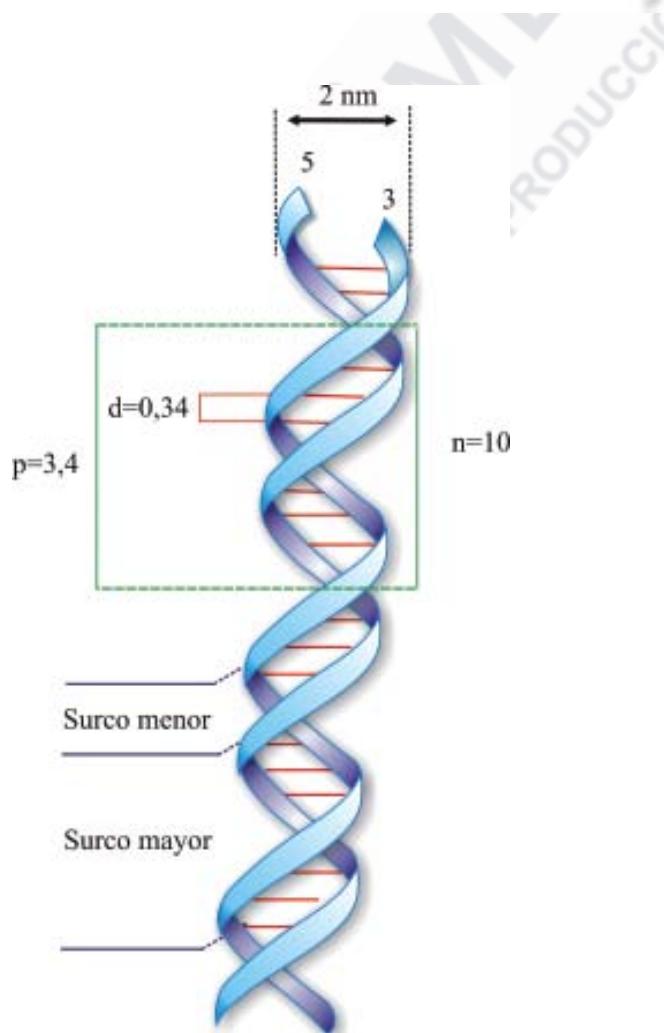


Fig. 11.8. Parámetros de la doble hélice. La representación es similar a la figura 11.6. Las líneas rojas horizontales representan los pares de bases separados a una distancia (d) de 0,34 nm. El valor de $n = 10$ y el de $p = 3,4$ nm. También se han señalado el surco mayor y el menor .

El hecho más sobresaliente de la estructura de Watson y Crick es que acomoda solo dos tipos de pares de bases, los formados por A y T, así como los de C y G son los llamados apareamientos de Watson y Crick (Fig. 11.9).

Esta especificidad de apareamiento tiene su origen en la geometría de los pares; estos pares de bases son intercambiables, o sea, se puede sustituir un par AT por otro CG o viceversa, sin alterar la posición del C1' en el eje pentosa fosfato. Tampoco la hélice se altera por invertir las bases de cada par es decir, de manera estructural, es lo mismo el par AT que el TA y también es igual el GC que el CG. Cualquier otro par de bases distorsionaría la hélice, pues requeriría una reorientación considerable del eje pentosa fosfato. Esta especificidad de apareamiento es el fundamento molecular de las reglas de Chargaff.

La superficie de la molécula de ADN está marcada por la existencia dedos surcos de diferente tamaño (Fig. 11.8). El origen de estos surcos está por una parte en el carácter asimétrico de la desoxirribosa y, por otra, porque en cada par de bases el borde superior es diferente al borde inferior. Si se traza una línea imaginaria del C1' –eje de la hélice– C1' se forman dos ángulos diferentes: uno menor que 180° que da origen al surco menor y otro mayor que 180°, el cual formará el surco mayor. Aunque el surco menor es más estrecho que el mayor, ambos son casi de igual profundidad, pues los bordes de los pares de bases quedan aproximadamente a la misma distancia de la superficie de un cilindro que contuviera la doble hélice. Esto es consecuencia de la posición del eje de la hélice que pasa aproximadamente por el centro del par de bases. Cuando los pares de bases se apilan para formar la hélice, las cadenas fosfatadas constituyen los lados de un surco mayor y un surco menor, enrollados alrededor de la hélice, y los bordes de las bases forman los fondos de los surcos. Estos surcos tienen una importancia especial en las interacciones del ADN con las proteínas.

El fondo de los surcos del ADN contiene una información valiosa para la interacción específica con proteínas.

La distribución de estos átomos depende del par de bases. Si se recorre el surco mayor en un par AT, en ese orden, encontramos un N (aceptor de H), un NH₂ (donador de H) y un O (aceptor de H), en un par GC primero un N (aceptor), después un O (aceptor) y por último un NH₂ (donador). Al invertirse el orden de las bases en el par el patrón de formación de puentes de hidrógeno cambia y ofrece entonces cuatro patrones diferentes para la interacción específica con proteínas.

Si se representa el grupo aceptor por A y el donador por D tendremos: A-D-A; A-A-D; A-D-A y D-A-A, por tanto, el fondo del surco mayor contiene una información dependiente de la secuencia, que puede ser leída directamente por otra macromolécula. Se intenta representar la distribución del patrón de puentes de hidrógeno en una secuencia específica del ADN (Fig. 11.10).

El surco menor es menos informativo, ya que los pares AT y TA solo tienen dos grupos aceptores, así como los GC y CG un donador entre dos aceptores que lo hace menos apropiado para la lectura, si se tiene en cuenta, además, que su anchura representa un obstáculo estérico para su interacción íntima con otras macromoléculas. No obstante, se conocen proteínas que se unen al ADN por el surco menor, para lo cual casi siempre provocan una curvatura de la doble hélice.

El modelo no impone ninguna limitación a la secuencia de bases de una cadena, siempre y cuando la otra cadena presente la base complementaria. El modelo así formulado sugiere que la información genética está codificada precisamente en la secuencia de las bases nitrogenadas del ADN. El modelo contiene en sí la explicación para el mecanismo de la replicación, pues el carácter complementario indica que durante el proceso de réplica cada una de las cadenas puede ser usada como un molde para dirigir la síntesis de la cadena opuesta.

Accidentes en la doble hélice

Las moléculas reales de ADN se apartan ligeramente del modelo de Watson y Crick.

En 1953 no era posible aún obtener cristales de ADN, y los estudios de difracción de rayos X se hicieron con fibras que contenían varias moléculas, por tanto, los patrones de difracción y los valores obtenidos para los parámetros de la estructura eran los promedios de los valores individuales. No fue hasta la década de los años 70 que se pudieron estudiar moléculas en estado cristalino.

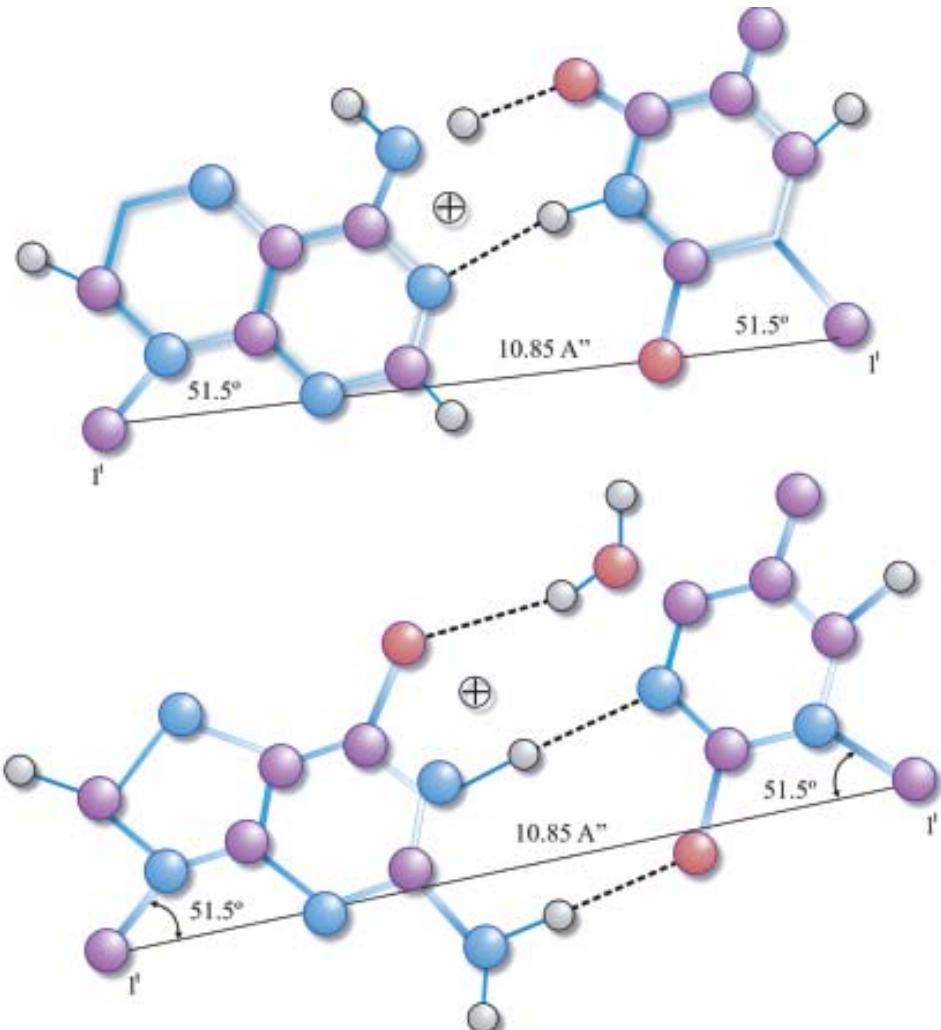


Fig. 11.9. Geometría de los pares de bases en el ADN. Arriba, el par de bases adenina timina y abajo, el par guanina citosina. La geometría de ambos pares es la misma, aunque las bases de cada par cambien de posición, pues su ubicación con respecto al C1 de la desoxirribosa es siempre la misma. El lado superior da hacia el surco mayor y el inferior hacia el surco menor. La cruz dentro del círculo indica la posición del eje de la hélice.

Richard Dickerson y Horace Drew aplicaron los rayos X al estudio del polímero d(CGCGAATTGC) y obtuvieron que el avance de la hélice era de 3,40 nm, cada vuelta contenía 10,1 pb y cada par estaba girado un ángulo de 35,9° con respecto a su vecino; estos valores muestran gran concordancia con los promedios antes obtenidos, pero cada par individualmente se apartaba del comportamiento promedio.

Por analogía con la geografía llamaremos accidentes a las desviaciones del ADN real en relación con el modelo descrito por Watson y Crick.

Los principales accidentes encontrados en el ADN son:

1. El ángulo de rotación entre los pares de bases es variable y puede tomar valores que van desde 28° hasta 42°.
2. El balanceo, o sea, la rotación del par de bases como un todo alrededor del eje mayor del par; este eje se define como una línea que pasa por el C8 de las purinas y el C6 de las pirimidinas. Cuando dos pares de bases rotan se forma un ángulo que, si se abre hacia el surco mayor es negativo y si lo hace hacia el menor es positivo (Fig.111a).
3. El alabeo, o sea, la rotación de una base con respecto a su pareja; se dice que el alabeo es positivo cuando se mira a lo largo del eje mayor del par de bases, y la base

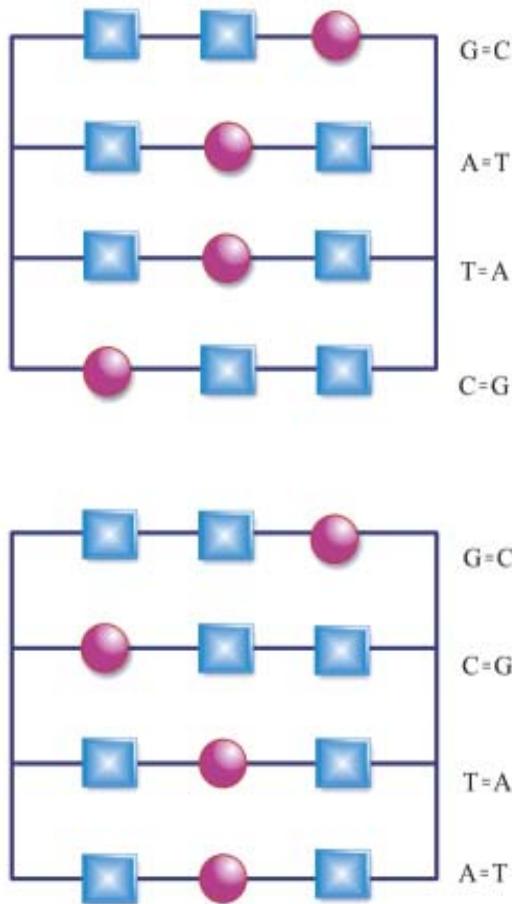


Fig. 11.10. Patrón de formación de puentes de hidrógeno. Se muestran dos segmentos de ADN de cuatro pares de bases cada uno, mirando hacia el surco mayor. Los cuadrados azules representan grupos aceptores para la formación de puentes de hidrógeno, y los círculos rojos, grupos donantes. Esta diferencia de patrones permite que otras macromoléculas, especialmente proteínas, puedan reconocer al ADN en secuencias específicas de bases.

más cercana al observador está girada en el sentido de las manecillas del reloj, y es negativo en caso contrario. Los estudios en cristales muestran que el alabeo es siempre positivo con un valor promedio de 12° . Esta rotación mejora el apilamiento de las bases en una cadena, pero aproxima demasiado las purinas de las cadenas opuestas, con lo cual se alteran otros parámetros estructurales (Fig. 11.11b).

4. La inclinación del par de bases con respecto al eje de la hélice se aparta aproximadamente 2° de la perpendicular (Fig. 11.11c). Un resumen de los principales accidentes de la doble hélice se presenta en la tabla 11.2.

Por otra parte el eje de la hélice no es recto, más bien va experimentando una inclinación que está en dependencia del contenido y la proximidad de los pares GC. Estas variaciones dependen de la secuencia de bases y crean una superficie irregular en la molécula de ADN que permite la unión de proteínas, capaces por ello de reconocer secuencias específicas del ADN. Esta unión ADN proteínas es un paso determinante en la realización y regulación de las funciones genéticas del ADN.

ADN Z

El ADN Z muestra la relación entre la secuencia de bases del ADN y su estructura tridimensional.

Uno de los ejemplos más sobresalientes de la relación entre la secuencia y la conformación del ADN fue el descubrimiento del ADN Z. Al estudiar la estructura cristalina del d(CGCGC) Andrew Wang y Alexander Rich observaron que se formaba una hélice con giro hacia la izquierda; esta hélice presenta un avance de 4,5 nm con 12 pb por vuelta, un surco menor profundo y el mayor apenas se distingue. La línea de unión de los grupos fosfatos forma un zig zag y de ahí la denominación de Z.

Fig. 11.11. Accidentes de la doble hélice. La figura resume las principales desviaciones de la posición de los pares de bases en ADN real en relación con el modelo ideal de Watson y Crick. En todos los casos, la molécula se observa por el surco mayor. En (a) se muestra el efecto del balanceo cuando el par de bases, como un todo, ha girado en torno a su eje mayor y el ángulo marcado por la saeta, es negativo, pues se abre hacia el surco mayor. En (b) aparece el efecto de alabeo que siempre es positivo. En (c) se presenta la inclinación del par de bases en relación con el eje de la hélice. La línea m en todos los casos representa el eje mayor del par de bases que, como se muestra en (b), pasa por el C6 de las pirimidinas y el C8 de las purinas.

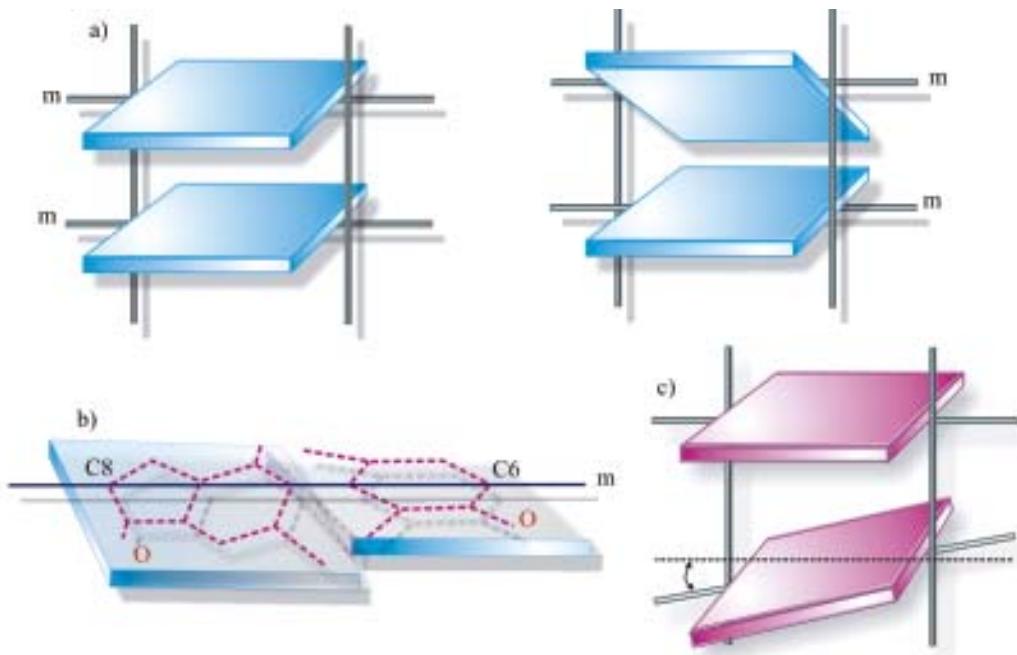


Tabla 11.2. Valores de las medias y desviaciones típicas observadas para los principales accidentes del ADN en sus tres tipos principales

Accidente	ADNA	ADNB	ADNZ
Rotación	$33,1 \pm 5,9$	$35,9 \pm 4,3$	$-51,3 \pm 1,6$ $-8,5 \pm 1,1$
Valor de "d"	$0,292 \pm 0,039$	$0,336 \pm 0,042$	$0,352 \pm 0,022$ $0,413 \pm 0,018$
Inclinación	$13,0 \pm 1,9$	$-2,0 \pm 4,6$	$8,8 \pm 0,7$
Alabeo	$15,4 \pm 6,2$	$11,7 \pm 4,8$	$4,4 \pm 2,8$
Balanceo	$5,9 \pm 4,7$	$-1,0 \pm 5,5$	$3,4 \pm 2,1$

Los valores del parámetro "d" están dados en nm, los de los otros accidentes en grados ($^{\circ}$). Para ADN Z el primer valor en los dos primeros accidentes corresponde al par G:C y el segundo al par C:G

Los pares de bases están rotados 180 ° en relación con el modelo de Watson y Crick, como se muestra en la figura 11.12. Esto hace que la unidad repetitiva sea un didesoxinucleótido en vez de un desoxinucleótido. Esta conformación se adopta cuando aparecen bases purínicas y pirimidínicas alternadas como en d(GC)_n; d(AC)_n o d(GT)_n (para n > 1).

Se ha especulado mucho acerca de la función biológica del ADN Z, pero su existencia *in vivo* no ha podido ser demostrada, solo hay algunas evidencias indirectas en el ADN de *E. coli*. Tal vez estas zonas no estén permanentemente en conformación Z y puede existir la posibilidad de transconformaciones entre los distintos tipos de ADN, según las condiciones del interior celular, lo que puede servir como base para algún mecanismo de regulación de las funciones del ADN.

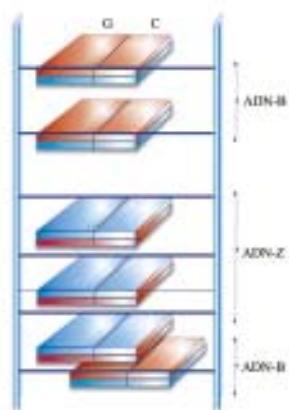


Fig. 11.12. El ADN Z. Se muestra el giro que realiza el par de bases GC cuando se encuentran consecutivos, lo cual da origen al llamado ADN Z. El par de bases está rotado 180° en relación con su posición en el ADN B.

Otras estructuras del ADN

La estructura tridimensional del ADN varía con cambios en las condiciones del ambiente.

La estructura helicoidal descrita por Watson y Crick se obtiene cuando se emplea el Na⁺ como contracatión, y la humedad es del 92 %. A esta hélice se le ha denominado ADN B.

Al reducir la humedad al 75 %, la forma B se transforma en A, que es también una doble hélice derecha, pero más ancha y aplana que la B. La hélice tiene un avance de 2,8 nm. Los pares de bases presentan una inclinación de 13 a 19° en relación con el eje de la hélice y, además, están desplazados hacia el exterior de manera que el eje, en forma de un cilindro hueco, queda ubicado en el surco mayor y no toca los pares de bases; de esta forma se origina un surco mayor profundo y un surco menor superficial. El ADN A presenta 10,9 pb por vuelta y un ángulo promedio de rotación de 33,1° con valores individuales de 16 a 44°; además, existe un balanceo sistemático que se abre hacia el surco menor (positivo) con valores de 6 ± 5°. En la tabla 11.3 se resumen los aspectos más relevantes de los tres tipos principales de ADN.

Tabla 11.3. Resumen de los parámetros estructurales principales en los tres tipos más frecuentes de ADN

Característica	A	B	Z
Tipo de hélice	Derecha	Derecha	Izquierda
Diámetro	2,6 nm	2,0 nm	1,8 nm
Valor de n	11	10	12
Rotación del par	33°	36°	60°
Paso o avance (p)	2,8 nm	3,4 nm	4,5 nm
Valor de d	0,26 nm	0,34 nm	0,37 nm
Inclinación	20°	6°	7°
Surco mayor	Estrecho y profundo	Ancho y profundo	Plano
Surco menor	Ancho y superficial	Estrecho y profundo	Estrecho y profundo
Forma del azúcar	C(3)-endo	C(2)-endo	Y = C(2)-endo R = (C3)-endo
Enlace glicosídico	Anti	Anti	Y = anti R = sin

R = purinas Y = pirimidinas.

Cuando la secuencia de bases en una cadena es complementaria a un sector que está cerca de la misma cadena, pueden originarse estructuras cruciformes por el apareamiento de las bases complementarias de la misma hebra. Estas estructuras cruciformes son de singular importancia para las funciones del ADN, ya que representan señales muy específicas para la interacción con otras moléculas, generalmente proteínas, que participan en los mecanismos de procesamiento de la información genética.

Estabilidad de la doble hélice

La estructura de la doble hélice se mantiene por interacciones débiles, fundamentalmente puentes de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas.

Varias son las fuerzas moleculares que mantienen la doble hélice del ADN, pero cada una contribuye de forma diferente. Como ya fue señalado, el enlace fosfodiéster es la fuerza fundamental para la formación del polímero y es la más fuerte de todas las interacciones presentes en la molécula; esto significa que es la más difícil de romper.

La disposición de las bases nitrogenadas en cada una de las hebras del ADN es casi perpendicular al eje pentosa fosfato, por tanto, los anillos de los heterociclos de las bases se disponen paralelos unos a otros, como una especie de empalizada o pila de monedas; en esa disposición los orbitales p de las bases forman interacciones de cierta fortaleza que contribuyen de manera decisiva a mantener la estructura helicoidal. El apareamiento de las dos cadenas ayuda a aumentar la estabilidad.

Al formarse la hélice los pares de bases se aproximan hasta una distancia de 0,34 nm que es el grosor de Van der Waals del par de bases; esta aproximación impide la penetración de moléculas pequeñas, especialmente el agua, entre los pares de bases, por lo cual a las fuerzas que tienden a formar empalizada se les denomina hidrofóbicas. El origen y la naturaleza de estas fuerzas hidrofóbicas en el ADN no están totalmente aclarados; aunque el nombre hidrofóbico no es el más adecuado para designar estas interacciones, la existencia de tales interacciones es indiscutible.

Las cadenas se mantienen unidas gracias a la formación de puentes de hidrógeno entre las bases de cada par. Los pares CG se mantienen unidos por tres puentes de hidrógeno, en tanto entre A y T solo se forman dos debido a que el anillo de A carece de sustituyente en C2 (Fig. 11.9). De esta situación se deriva que las moléculas de ADN serán más estables, mientras mayor sea su contenido en pares GC. Se debe recordar que esta característica es importante, como se verá en capítulos posteriores, para las funciones del ADN es necesario la separación de las dos hebras, lo cual será más fácil si en la zona que se debe separar abundan los pares AT.

No obstante, los puentes de hidrógeno contribuyen poco a la estabilidad de la hélice. Si a una solución acuosa de ADN se le añade etanol, la hélice se desestabiliza. El etanol aumenta la fortaleza de los puentes de hidrógeno pero debilita las interacciones hidrofóbicas, por tanto, son las interacciones hidrofóbicas y no los puentes de hidrógeno las que contribuyen en mayor medida a la estabilidad de la hélice.

ADN superenrollado

La molécula de ADN puede plegarse sobre sí misma para originar estructuras más compactas.

Cuando los extremos de la molécula de ADN no pueden rotar libremente, bien porque estén unidos por enlaces covalentes formando moléculas circulares, o estén asocia-

dos con proteínas, adquieren una conformación tridimensional superenrollada (Fig. 11.13). En esta estructura la doble hélice como un todo puede estar rotada hacia la derecha (superenrollado negativo) o hacia la izquierda (superenrollado positivo); mientras el superenrollado positivo favorece la formación de la hélice más compacta, el negativo favorece el desenrollamiento de la hélice y la separación de las dos hebras, que como ya fue señalado es necesario para las funciones del ADN.

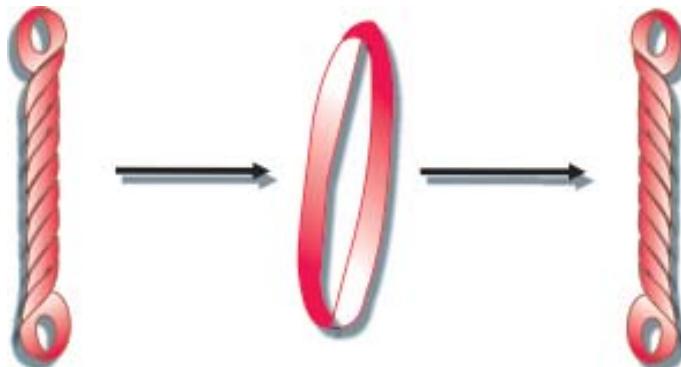


Fig. 11.13. ADN superenrollado. En el centro aparece una molécula de ADN circular, totalmente relajada. A la izquierda, el mismo ADN con superenrollamiento negativo, y a la derecha, con superenrollamiento positivo. Obsérvese que en el superenrollamiento el eje de la doble hélice se enrolla sobre sí, unas veces en sentido derecho y otras en sentido izquierdo.

El ADN bacteriano circular presenta un superenrollamiento negativo, en tanto el ADN de los cromosomas de eucariotas no parece estar superenrollado por su asociación con proteínas que controlan el plegamiento del ADN.

Las diferentes formas y grados de superenrollamiento del ADN se refieren como topoisómeros, y las enzimas que convierten unos en otros reciben el nombre de topoisomerasas. Los diferentes topoisómeros del ADN pueden ser separados por electroforesis en gel de agarosa, donde cada topoisómero tiene una movilidad diferente constituyendo bandas independientes. La molécula que muestre un mayor grado de superenrollamiento realizará los movimientos migratorios más rápidos por presentar una estructura más compacta.

Desnaturalización del ADN

La desnaturalización del ADN consiste en la separación de las dos hebras que puede lograrse mediante el calor.

Cuando una solución de ADN doble helicoidal se calienta por encima de una temperatura determinada, las dos cadenas se separan y las propiedades del ADN se alteran, este proceso se conoce como desnaturalización del ADN; de esas propiedades, la más útil para seguir el desarrollo del proceso es la absorción de luz ultravioleta.

Los anillos aromáticos absorben la luz ultravioleta con menor intensidad cuando están apilados en la doble hélice que cuando están libres en disolución; ese aumento de absorción luminosa, que puede llegar a ser hasta de 40 % en todas las longitudes de onda, recibe el nombre de efecto hipercrómico.

De acuerdo con la estructura de la doble hélice, la alteración de un sector de la molécula potencializa la desestabilización de un sector mayor , o sea, el proceso de desnaturalización tiene un carácter cooperativo; esto se evidencia porque el efecto hipercrómico ocurre en un rango estrecho de temperatura (Fig. 11.14).

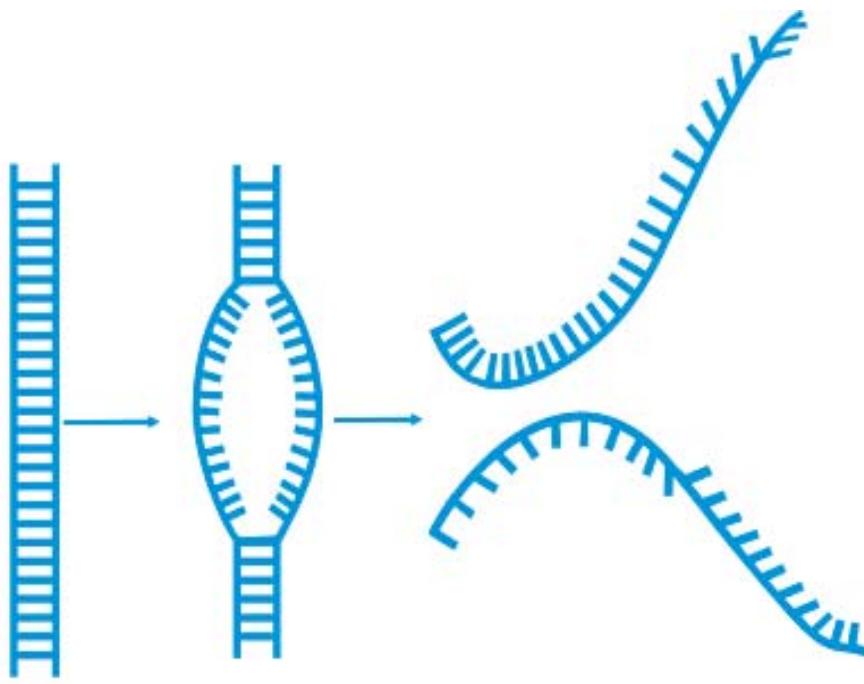


Fig. 11.14. Desnaturalización del ADN. Una doble hebra de ADN se calienta, y los pares de bases comienzan a separarse de forma cooperativa. Al final, las dos hebras están totalmente separadas. En eso consiste la desnaturalización del ADN.

Este fenómeno puede describirse como la fusión de un sólido monodimensional, las gráficas obtenidas del proceso se refieren como curvas de fusión y la temperatura de su punto medio se conoce como temperatura de fusión, que se simboliza por T_m . La estabilidad del ADN y, por tanto, su T_m dependen de varios factores como la naturaleza del solvente, el tipo y concentración de los iones, así como el valor del pH. Si estos factores se mantienen constantes y solo se varía el ADN, entonces T_m es una función lineal creciente del contenido de pares GC, lo que indica la mayor estabilidad de estos, unidos por tres puentes de hidrógeno, que de los pares AT unidos solo por dos.

Una vez que el ADN ha sido desnaturalizado se hace descender lentamente la temperatura hasta casi 25 °C por debajo de T_m , las dos cadenas vuelven a unirse por completo; este fenómeno recibe el nombre de renaturalización.

Este proceso de desnaturalización-renaturalización es el fundamento de las técnicas de hibridación, que permiten identificar secuencias específicas en el ADN, para ello se procede de la forma siguiente:

1. Se obtiene un polinucleótido marcado de forma radiactiva (usualmente con ^{32}P) que contiene la secuencia de bases específica de nuestro interés.
2. Se desnaturaliza el ADN problema y cuando las dos hebras están separadas se añade el polinucleótido que sirve de sonda.
3. Se procede entonces a la renaturalización; si el ADN contiene una secuencia de bases complementaria a la sonda se apareará con esta y la doble cadena podrá identificarse por la presencia del ^{32}P .
4. Pueden emplearse también como sonda, polirribonucleótidos; si la sonda es pequeña (100 nucleótidos) solo se apareará a un sector estrictamente complementario, pero si es muy grande pueden aparearse cadenas sin que exista la complementariedad perfecta. Estas sondas son útiles en la localización de secuencias de ADN parecidas (no exactamente iguales) a la sonda. La importancia de este procedimiento se verá más adelante.

Formas de presentación del ADN

El ADN puede adoptar diferentes formas en virus, procariotes, eucariotes y organitos subcelulares.

En este capítulo se ha presentado la estructura general de los ADN celulares, pero el ADN puede presentarse en otras formas con una estructura igual o diferente. En la tabla 11.4 se presenta una relación de ADN de diferentes orígenes, con su peso molecular.

Tabla 11.4. Tamaño del ADN de diferentes orígenes, tomando como referencia su peso molecular

Origen del ADN	Peso molecular
Plásmidos de <i>Escherichia coli</i>	$1,4 \cdot 10^6$
Virus del polioma	$3,2 \cdot 10^6$
Fago 186	$18,0 \cdot 10^6$
Fago T7	$25,0 \cdot 10^6$
Fago λ	$32,0 \cdot 10^6$
Plásmido F	$62,0 \cdot 10^6$
Fago T4	$106,0 \cdot 10^6$
<i>Mycoplasma hominis</i>	$5,3 \cdot 10^8$
Levaduras	$6,0 \cdot 10^8$
<i>Drosophila melanogaster</i>	$7,9 \cdot 10^{10}$
Humanos	$8,0 \cdot 10^{10}$

ADN virales

En los virus puede encontrarse ADN de una sola cadena, como ocurre en el M13, cuyos 6 408 nucleótidos forman una sola hebra circular, de manera similar ocurre en el virus φX174 donde también elADN es monofibrilar y circular con 5 386 nucleótidos.

Otros virus como los bacteriófagos (virus que infectan bacterias) o simplemente fagos de *E. coli* de la serieT presentan suADN bicatenario y lineal. El fagoT4 tiene una sola molécula lineal de ADN, de unos 166 000 pb, y en vez de citosina presenta la hidroximetilcitosina y el T7 contiene 39 930 pb, cuya secuencia ha sido determinada.

Plásmidos

Otra forma de presentación delADN son los plásmidos. Se trata de moléculas circulares de doble banda que se encuentran ubicadas en el citoplasma, especialmente de los organismos monocelulares, sean procariotes o eucariotes. Estos plásmidos tienen su replicación autónoma y suelen poseer genes importantes para la célula, por ejemplo, los plásmidos F que contiene el factor de fertilidad, los R que contienen genes que confieren resistencia a la acción de antibióticos y los Col que codifican toxinas que provocan la muerte de otros organismos.

Es bueno diferenciar dos tipos de plásmidos: los llamados de control estricto o de bajo número, estos existen en dos o tres copias por célula y su replicación ocurre simultánea con la del cromosoma bacteriano, segregándose en cantidades equivalentes a las células

hijas durante la división celular. Los plásmidos de control relajado o de alto número existen en decenas y su replicación es independiente del cromosoma bacteriano. Un fenómeno notable es que si se inhibe la síntesis de proteínas en la célula, el número de estos plásmidos se incrementa y puede llegar a cientos. Como se verá en el capítulo 35, esto tiene una importante implicación práctica.

ADN mitocondrial

En las células eucariontes existe además elADN mitocondrial (ADNmt), que como su nombre indica se localiza en este organito citoplasmático; constituye menos del 1 % del ADN celular y se presenta como una molécula circular duplohelicoidal, que en el ser humano tiene 16 569 pb. Algunas veces se presenta como varios círculos encadenados y en otras, como un gran círculo cerrado con dos moléculas unidas por enlace covalente en una forma tipo cabeza-cola. Su sensibilidad a la hidrólisis alcalina y a la acción de las ARNasas hacía suponer que al menos en algunos sitios contenía ribonucleótidos, lo cual fue comprobado más tarde.

Estos ribonucleótidos se encuentran en la zona que forma el origen de replicación y en otros sitios donde su función es desconocida. Las células humanas contienen unas 8 000 copias del ADNmt.

En el ADNmt se da un hecho singular , pues una de las hebras contiene la mayor proporción de las G y por eso se le denomina cadena pesada o H (*heavy*), mientras la otra contiene las C y por eso se nombra ligera o L(*light*); esto hace posible la separación de las cadenas por centrifugación en gradiente de densidad.

Otro hecho característico es la existencia de una pequeña zona de hebra triple, denominada lazo D. En esta zona la cadena H está desplazada (de ahí D) y a la cadena L se aparea un pequeño fragmento llamado ADN 7S por su coeficiente de sedimentación.

El descubrimiento de que alteraciones delADNmt pueden ser las causas de algunas enfermedades ha intensificado su estudio en los últimos años.

Cromosoma bacteriano

La mayoría de las bacterias presentan sus genes en una sola molécula de ADN, de doble hebra circular superenrollado. En *E coli* la longitud total del círculo es aproximadamente 1 300 μm , lo que es igual a la longitud de 50 diámetros bacterianos, por tanto, debe estar muy plegado si se toma en cuenta que la bacteria tiene un diámetro de 1 μm y una longitud de 3 μm .

Este ADN está asociado con ARN y proteínas, se presenta con una armazón central muy compactada de la cual irradian de 35 a 45 asas deADN superenrollado, lo cual hace que el corte transversal sea solo de 2 μm ; sus $3 \cdot 10^6$ pb le confieren un peso por partícula de $2 \cdot 10^9$.

Cromosoma eucarionte

Los cromosomas eucariontes constituyen la forma de presentación más compleja de los ADN, por ejemplo, un cromosoma de *Drosophila melanogaster* tiene un peso de partícula superior a 10^{10} y una longitud de 1,2 cm; como el ancho de la molécula es de $2 \cdot 10^{-7}$ cm, la relación longitud/anchura es de $6 \cdot 10^6$.

El ADN de las células eucariontes se encuentra fundamentalmente en el núcleo celular, donde está unido a proteínas, constituyendo asociaciones complejas de nucleoproteínas. El grado de “empaquetamiento” de esas nucleoproteínas varía sensiblemente durante el ciclo celular, muestran la forma más compacta en la metafase de la mitosis y la más relajada durante la interfase. A la forma que adopta en la interfase se le denomina cromatina y a la que adopta en la mitosis, cromosoma, aunque en muchas ocasiones estos dos nombres se emplean indistintamente. La estructura detallada de los cromosomas eucariontes se hará en el capítulo 23, dedicado al estudio del núcleo celular. En la tabla 11.5 se presentan el número de pares de bases y el contorno del ADN que contienen diferentes organismos por célula.

Tabla 11.5. Contenido de ADN de algunos organismos, de acuerdo con el número de pares de bases y la longitud de su contorno

Origen del ADN	Kilobases ^a	Contorno (μm) ^b
Fago λ	48,6	17
Fago T4	166	55
Polioma	5,1	1,7
<i>Mycoplasma hominis</i>	760	260
<i>Escherichia coli</i>	4 000	1 360
Levaduras ^c	13 500	4 600
Drosophila ^c	1 000	600
Humano ^c	900 000	9000

^a 1 kilobase = 1 000 pb.

^b Contorno de la molécula extendida con 0,34 nm de separación entre cada par de bases.

^c Del total del número haploide de cromosomas.

Métodos empleados en el estudio del ADN

Las propiedades del ADN han permitido diseñar procedimientos para su purificación y estudio.

Los métodos generales para el estudio de las macromoléculas fueron estudiados en el capítulo 9, aquí solo se hará referencia a algunas particularidades de esos métodos en el estudio de los ADN.

Obtención del ADN

Se procede a la ruptura de las células por los métodos habituales de homogeneización. Como el ADN está siempre asociado con proteínas, se debe proceder a desproteinizar el homogenato; si se quieren obtener moléculas de ADN de gran tamaño, se puede agitar suavemente la preparación en una mezcla de fenol y alcohol isoamílico, con lo cual las proteínas precipitan y pueden separarse por centrifugación; también puede usarse cloruro de guanidino, detergentes o enzimas proteolíticas como la pronasa.

Para eliminar los ARN se trata la mezcla con ribonucleasa. Para proteger al ADN de las desoxinucleasas se añade EDTA (ácido etilendiamino tetraacético), que secuestra los metales necesarios para la acción de las nucleasas.

Todo el material de vidrio del laboratorio debe ser esterilizado en autoclave, lo cual implica trabajar con guantes plásticos. De todas formas la manipulación del ADN es mucho más fácil que la de las proteínas.

Separación de los ADN

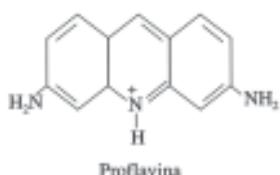
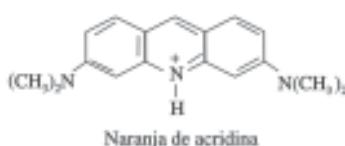
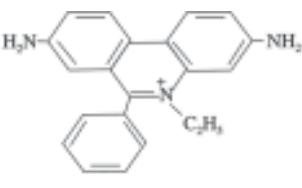
Los métodos más aplicados con este propósito son la cromatografía, la electroforesis y la ultracentrifugación.

El soporte cromatográfico más útil en la separación del ADN es la hidroxiapatita, a la cual el ADN de doble cadena se une con más fuerza que cualquier otra molécula. Cuando la mezcla que contiene el ADN se deposita sobre una columna de hidroxiapatita, esta se lava con una solución *buffer* fosfato de baja concentración, que arrastra preferentemente los ácidos ribonucleicos y las proteínas. Al aumentar paulatinamente la concentración del *buffer* se produce la separación del ADN.

En la electroforesis se aprovecha la característica polianiónica del ADN, que hace que estas moléculas se muevan hacia el ánodo, impulsadas por el campo eléctrico. La movilidad de las moléculas varía inversamente con su masa molecular y directamente con su carga. Los geles de poliacrilamida son útiles para separar moléculas de bajo peso, hasta aproximadamente 2 000 pb. Para moléculas mayores es necesario el empleo de geles de agarosa, con los cuales pueden separarse fragmentos de hasta 100 000 pb, con una concentración de agarosa de 0,1 %. Para localizar las moléculas el gel se tiñe con bromuro de etidio, proflavina o naranja de acridina.

Estas son moléculas aromáticas planas que se intercalan entre los pares de bases y exhiben fluorescencia cuando estos son iluminados con luz ultravioleta.

La ultracentrifugación también es útil en la separación de los ADN. Una variante del método general descrito en el capítulo 9 permite separar los ADN por su composición; para ello la centrifugación se realiza en un gradiente de CsCl, en esas condiciones el ADN se moverá hasta que su densidad coincida con la del medio; como la densidad del ADN es una función de su contenido en GC, moléculas con diferente composición se equilibrarán en diferentes posiciones y pueden obtenerse con el sencillo procedimiento de perforar el fondo del tubo y recoger pequeñas alícuotas de la solución.



Localización de ADN específicos

El método de transferencia de ADN permite localizar segmentos con secuencias de bases específicas.

Si conocemos la secuencia de bases nitrogenadas de un ADN podemos conocer si este se encuentra en una célula determinada, según el método de transferencia del ADN (*Southern blot*).

El método de transferencia del ADN aprovecha la valiosa propiedad de la nitrocelulosa, de unir tenazmente los ADN monocatenarios, pero no el bicatenario. Después de la electroforesis en gel del ADN bicatenario, este se sumerge en una solución de NaOH 0,5 M que lo convierte en monocatenario y se cubre con una lámina de nitrocelulosa, que a su vez se recubre de varias capas de papel grueso absorbente y se presiona con una placa de presión. Esta presión hace que el líquido fluya del gel y lo obliga a pasar a través de la nitrocelulosa, donde el ADN monocatenario queda retenido en la misma posición que ocupaba en el gel; este paso puede acompañarse de electroforesis para ser más rápido, en un proceso conocido como electrotransferencia.

Después de secar al vacío el filtro de nitrocelulosa a 80°C, que fija el ADN en su lugar, el filtro se humedece con una cantidad mínima de una solución que contiene ARN o ADN monocatenario, marcado de forma radiactiva y cuya secuencia es complementaria a la del ADN buscado; esta es la sonda. El filtro humedecido se mantiene a una temperatura de renaturalización para permitir la hibridación entre la sonda y el ADN, se lava para eliminar la sonda no unida, se seca y se recubre con una placa fotográfica para la autorradiografía. La posición del ADN buscado se indica por la zona velada en la película. Así se puede detectar y aislar un ADN de interés. Como se trata de fragmentos grandes de polinucleótidos complementarios, la hibri-

dación se produce eficientemente, aun cuando existan pequeñas zonas de no apareamiento (Fig. 11.15).

Estructura general de los ARN

Los ARN están formados por una sola cadena polinucleotídicaAl igual que elADN, los ARN se forman por la polimerización de unidades más simples, denominadas ribonucleótidos o sencillamente nucleótidos. Los ribonucleótidos contienen como pentosa la ribosa en vez de la desoxirribosa. Las bases nitrogenadas purínicas son las mismas que las delADN, pero entre las pirimidínicas losARN contienen por lo general uracilo en vez de timina. Aun cuando la ribosa presenta un grupo hidroxilo en C2', en losARN el enlace fosfodiéster se establece entre el C3' de un nucleótido y el C5' del vecino al igual que en ADN, esto hace que también en losARN se describa una dirección o polaridad que al igual que en el ADN es de 5' → 3'. Sin embargo, la composición de bases de los ARN es más heterogénea que la del ADN, pues en estos existen numerosas bases modificadas que en algunos tipos de ARN llegan a representar hasta el 10 % del total de bases de la molécula. La modificación más frecuente es la adición a las bases típicas de grupos metilos, pero también pueden existir otros como el acetilo, isopentenilo, etcétera.

Una situación especial se presenta con la seudouridina que en muchos casos se menciona como una base rara, lo cual no es cierto. La seudouridina es un nucleótido anómalo, pues en él la base nitrogenada es el uracilo pero está unida a la ribosa por un enlace a través del C6 y no del N1, como en los nucleótidos normales. La seudouridina se representa por la letra griega psi (ψ). Algunas especies moleculares de ARN contienen timidina, que se refiere como ribotimidina.

La presencia del C2' -OH hace que los ARN sean susceptibles a la hidrólisis alcalina, pues la reacción requiere la formación de un intermediario fosfodiéster cíclico entre C2' y C3' que no es posible formar en los desoxinucleótidos delADN.

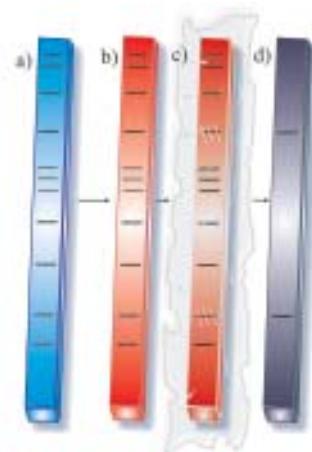
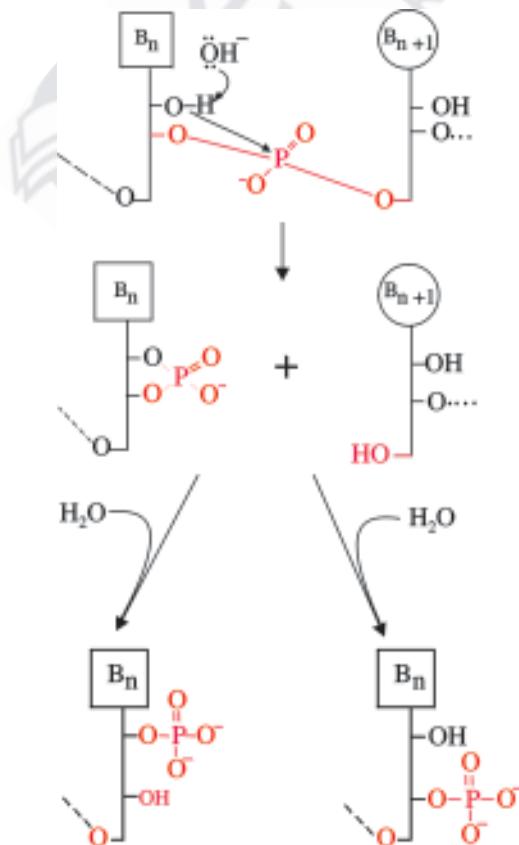


Fig. 11.15. Localización de ADN específicos. (a) Lámina del gel donde se ha realizado la electroforesis de diferentes fragmentos de ADN. (b) Los fragmentos de ADN previamente desnaturizados se transfieren a un filtro de nitrocelulosa donde las cadenas monofibrilares se adhieren con fuerza. (c) El filtro se sumerge en una solución que contiene la sonda y se deja el tiempo necesario para la hibridación, después se lava para eliminar el exceso de sonda, se seca y se recubre con una placa fotográfica. (d) Al revelar la placa se tiene la localización exacta del fragmento de ADN buscado.

Esta propiedad permite la separación de los monómeros del ADN y el ARN de la forma siguiente:

1. Se extraen los ácidos nucleicos de la célula. La preparación se somete a una hidrólisis alcalina que solo afecta al ARN.
2. Se somete a centrifugación de forma que el ADN de peso molecular elevado sedimente y los ribonucleótidos se mantengan en solución.
3. Se decanta la solución, el precipitado resuspende y entonces se somete a una hidrólisis ácida, con lo cual se obtendrán los desoxinucleótidos.

Los ARN presentan gran heterogeneidad en su tamaño. Los hay tan pequeños, con apenas 80 nucleótidos, hasta moléculas gigantes de varios miles de bases, es por ello que las propiedades físicas que dependen del peso, tamaño y forma de las moléculas también son muy variables en los ARN.

En los ARN la cadena polinucleotídica puede plegarse sobre sí misma para formar un grupo de estructuras básicas que se combinan en la forma total de las moléculas.

Aunque a diferencia de los ADN, los ARN están constituidos por una sola cadena polinucleotídica, esta no adopta una forma fibrilar sino que se pliega sobre sí, y en sectores donde las bases son complementarias forman estructuras duplohelicoidales. Estas maneras de apareamiento pueden ser descritas por la combinación de varias estructuras sencillas que pueden considerarse como los elementos estructurales de los ARN.

Como se puede observar en la figura 11.16a, la estructura más sencilla es la horquilla que contiene dos elementos estructurales: una zona de apareamiento, a veces llamada tallo y otra zona ensanchada no apareada, en ocasiones denominada asa. Para formar la horquilla la cadena debe variar su dirección en 180 °. Dos horquillas o más pueden combinarse una a continuación de la otra, con segmentos conectores de mayor o menor longitud (Fig. 11.16b).

Otra forma de combinación viene dada por la formación de asas internas, en este caso una gran horquilla contiene en el tallo zonas con apareamiento y sin él, estas últimas son las asas internas, como puede observarse en la figura 11.16c.

Por último las horquillas pueden interactuar con un sector externo; para ello algunas bases de asas se aparean con bases de otras zonas cercanas o lejanas y forman los llamados seudonudos. Como consecuencia la cadena debe girar en el espacio, lo que contribuye a la formación de estructuras terciarias, lo cual se ilustra en la figura 11.16d.

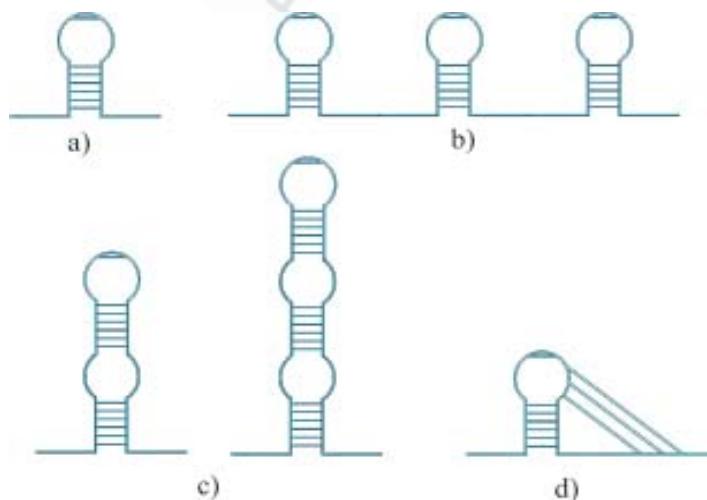


Fig. 11.16. Estructuras básicas de los ARN. (a) Estructura en horquilla con una zona apareada (tallo) y una no apareada (asa). (b) Combinación de secuencias de varias horquillas. (c) Una misma horquilla con la formación de asas internas. (d) Las bases de un asa se aparean con zonas fuera de la horquilla, constituyendo seudonudos para la cual la cadena debe doblarse, por lo que esta estructura es importante en la formación de la estructura terciaria de los ARN.

Los seudonudos pueden contribuir a la formación de la estructura terciaria de los ARN (Fig. 11.17).

Las zonas apareadas son parecidas alADN-A, pues la presencia del oxígeno en C2' impone limitaciones estéricas que no le permiten adquirir la forma B. Es bueno señalar que el apareamiento de bases no es tan estricto como en el ADN, por ejemplo, es frecuente encontrarse pares GU e incluso GG. En algunos de estos pares atípicos (Fig. 11.18) cada par posee una geometría particular que se aparta en gran medida de la de los pares de bases del ADN.

En los ARN existe un número considerable de estructuras helicoidales, aun en ausencia de apareamiento de bases; esto se debe a las intensas fuerzas de “empalizado” entre las bases A, G y C. Estas fuerzas son mucho más importantes que los puentes de hidrógeno en la formación de interacciones i ntermoleculares e intramoleculares y ac- túan limitando las posibles conformaciones de losARN.

Al igual que en elADN la distancia limitada del eje pentosa fosfato y el enlace β -N-glicosídico, formando un ángulo casi perpendicular, impiden que las bases se coloquen directamente una sobre otra. En las dobles hélices las bases forman ángulos de rotación de 35° y la hélice contiene de 10 a 1 pb por vuelta. En las cadenas simples el ángulo es de 60° y cada vuelta contiene seis bases. Estos plegamientos con el máximo grado de apareamiento de bases se pueden representar sobre un plano y se refieren como la estructura secundaria de los ARN.

Esas conformaciones helicoidales permiten un mejor apareamiento con otras moléculas de ARN o ADN, que también presenten estructuras “empalizadas” y sus bases sean complementarias, pues son importantes en los mecanismos de expresión de la información genética.

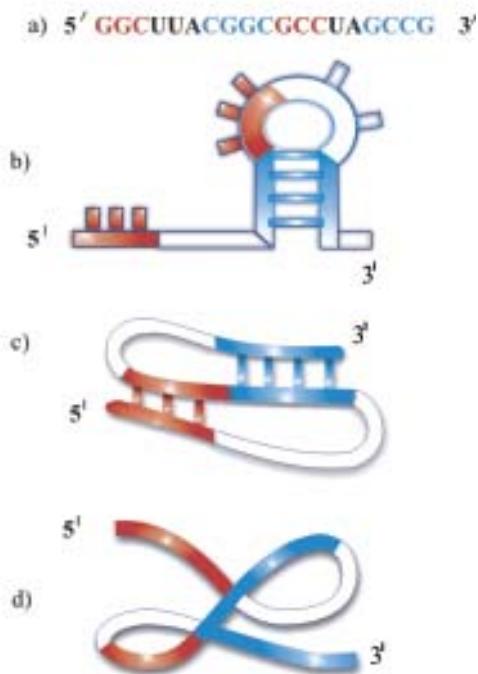


Fig. 11.17. Los seudonudos en la estructura terciaria. En (a) se representa un fragmento de una cadena de ARN. En (b), cómo esta cadena da origen a una horquilla con su tallo y aza, pero por fuera de ella hay un sector complementario a las bases del aza. El apareamiento de estos dos sectores puede originar una estructura como la mostrada en (c), formada por dos lazos, pero que aún se mantienen en el mismo plano o, por el contrario, formar la estructura representada en (d), que ya no puede contenerse en el plano. Esta última organización es la que contribuye a la formación de la estructura terciaria de los ARN.

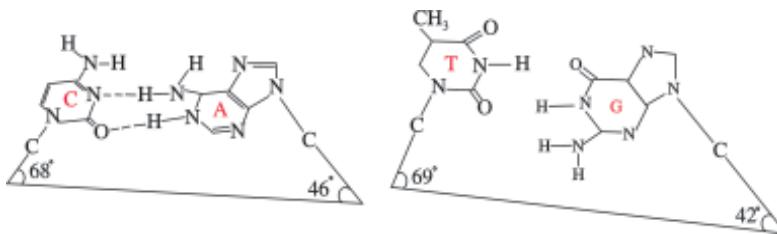


Fig. 11.18. Apareamiento de bases en los ARN. Se muestran los pares de bases CA y TG, donde puede observarse que la geometría de estos se aparta considerablemente de los apareamientos típicos del ADN. Los ángulos constituidos por el N de la base y el C1 son diferentes en cada caso, por lo cual no pueden acomodarse en una doble hélice como la del ADN.

La estructura tridimensional de los ARN se conoce como su estructura terciaria. Los estudios en este campo solo han dado resultados en algunos tipos de ARN de pequeño tamaño. En moléculas grandes los resultados aún se esperan; sin embargo, en los ya conocidos se ha puesto de manifiesto que la estructura terciaria depende del establecimiento de interacciones entre las bases y la ribosa en unas ocasiones, así como con los grupos fosfato en otras.

En las células existen tres tipos principales de ARN que se distinguen tanto estructural como funcionalmente. Tomando como criterio su participación en la síntesis de proteínas se han denominado ARN de transferencia (ARNt), ARN ribosomal (ARNr) y ARN mensajero (ARNm). Se estudiará cada uno de ellos por separado y después con menos detalles otros ARN celulares.

ARN de transferencia

Todos los ARN de transferencia presentan una estructura tridimensional similar, pues realizan la misma función.

Los ARNt constituyen una familia de especies moleculares cuya función es la de transportar los aminoácidos hacia los ribosomas durante la síntesis de proteínas, por lo que deben existir tantos ARNt como aminoácidos diferentes contengan las proteínas; todos ellos presentan regularidades estructurales que permiten generalizar una estructura relacionada con su función.

Estructura primaria. Los ARNt son polinucleótidos pequeños que contienen de 60 a 95 nucleótidos, aunque la mayoría tiene 76. Lo más sobresaliente en su composición de bases es la presencia de numerosas bases modificadas que llegan a constituir hasta el 20 % de la molécula. La razón de esta elevada proporción se desconoce, pero pudiera de alguna manera contribuir a la formación de estructuras tridimensionales, unas veces en función favorable y otras impidiendo la formación de interacciones entre las bases.

El estudio de la secuencia de bases de ARNt fue realizado por primera vez en 1965 por Robert Holley, en el ARNt de la alanina procedente de levaduras. Para este trabajo Holley tuvo que vencer numerosas dificultades técnicas, pero a partir de él se ha desarrollado una tecnología que permite realizar ese trabajo en pocos días, lo cual ha hecho que ya se conozca la secuencia de bases de más de 300 ARNt de diferentes especies.

El estudio comparativo de estas secuencias ha permitido llegar a conclusiones importantes. En todos ellos existen 13 bases invariantes, es decir todos tienen la misma base en posiciones equivalentes y hay ocho bases semiinvariantes, o sea, en posiciones

equivalentes siempre hay una purina o una pirimidina. En el extremo 3' siempre aparece el trío CCA.

Estructura secundaria. Holley estableció la estructura secundaria del ARNt de la alanina y observó que el grado máximo de apareamiento se lograba cuando la cadena polinucleotídica se representaba en forma de una hoja de trébol (Fig. 11.19).

También supuso que si todos los ARNt cumplían la misma función, debían poseer estructuras muy similares, lo cual ha sido confirmado posteriormente con el estudio de numerosos ARNt.

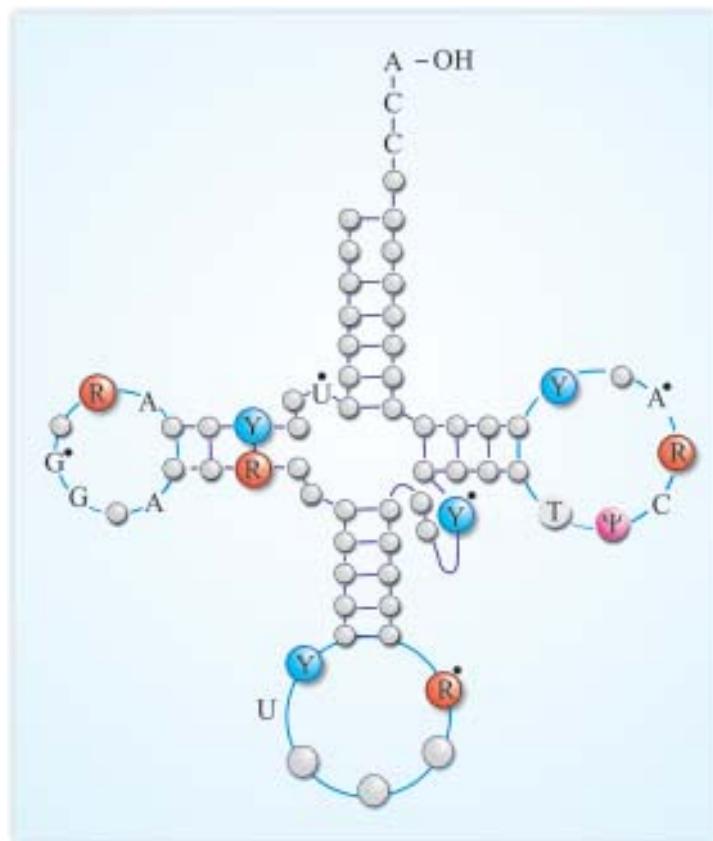


Fig. 11.19. Estructura generalizada de los ARNt. La estructura en hoja de trébol de los ARNt. Las zonas apareadas se presentan con el número de pares típicos de cada asa. Las bases conservadas se presentan con sus iniciales. Las posiciones semiconservadas se representan por R para las purinas y Y para las piro-pirimidinas; y se representa la pseudo-uridina. Las bases del anticodon aparecen sombreadas.

Según el modelo, la cadena se pliega formando cuatro sectores de apareamiento de bases llamados tallos, tres de esos tallos terminan en zonas ensanchadas no apareadas, llamadas asas. Un tallo y su asa correspondiente forman un brazo; cada brazo tiene una disposición y longitud características. Existe un quinto brazo que es variable en su longitud y composición, este hace que el número de nucleótidos en los distintos ARNt varíe de 60 a 95.

Una estructura generalizada de los ARNt debe contener los elementos siguientes, derivados del análisis comparativo de las moléculas estudiadas:

1. El extremo 5' contiene un grupo fosfato y el extremo 3' termina con la secuencia CCA que no está apareada.
2. Las secuencias inmediatas a los extremos forman un tallo que incluye 7 pb, entre ellos el G-U. Este es el tallo aminoacídico o aceptor

3. Existen tres brazos constantes que, siguiendo la molécula en dirección 5' → 3', son los siguientes: el brazo D, formado por un tallo de 4 o 5 pb y un asa con dihidrouridina; el brazo anticodon constituido por un tallo de 5 pb y el asa contiene el triplete anticodon; el brazo TψC, que está formado por un tallo de 5 pb y el asa contiene la secuencia invariante ribotimidina (T), seudouridina (ψ) y citosina (C); a esto debe sumarse el brazo variable ubicado entre el del anticodon y el TψC, que puede contener de 3 a 21 nucleótidos con un tallo de hasta 7 pb.

Cuando se habla de posiciones equivalentes se hace referencia a la localización en la estructura secundaria y no en la primaria, pues esta última puede variar con la longitud del brazo variable, por ejemplo, la ribotimidina siempre se encuentra al inicio del asa TψC, independiente de su localización en la estructura primaria.

Como se puede observar en la figura 1-1.19 casi todas las bases invariantes y semiinvariantes aparecen localizadas en las asas.

Estructura terciaria. Después de numerosos esfuerzos infructuosos por determinar la estructura tridimensional de los ARNt, en 1974 Alexander Rich y SungHou Kim, por una parte, y Aaron Klug por otra, mediante estudios de difracción de rayos X, lograron dilucidar la estructura del ARNt de fenilalanina de levadura, con una resolución de 0,25 nm. Los resultados mostraron que la molécula adopta la forma de una letra L invertida (Γ); el lado vertical se forma por el brazo D y el anticodon, en tanto el lado horizontal lo constituyen el brazo TψC y el tallo aceptor. En ambos lados la molécula forma una doble hélice similar al ADN A, pero con apareamientos menos estrictos. Cada lado tiene una longitud de 6 nm y un ancho de 2 a 2,5 nm. Los dos extremos de la L, formados por el anticodon y el CCA del acceptor, están separados unos 7,6 nm (Fig. 11.20).

La estructura se mantiene gracias a numerosas interacciones que se establecen entre sus componentes. Una proporción elevada de las bases participa en la formación



Fig. 11.20. Estructura terciaria de los ARNt. Las moléculas de los ARNt adoptan en el espacio una estructura que recuerda a una letra L invertida. En rojo se representa el asa del anticodon. En azul, el asa TψC, y en verde, el asa de la dihidrouridina. Los pares de bases no siempre son del tipo Watson y Crick, además, las bases pueden interactuar con las ribosas y los fosfatos.

de empalizados, otras forman pares de bases cruzados, que por lo general no son del tipo Watson y Crick. La mayoría de las bases involucradas en estas interacciones son las invariantes o semiinvariantes. También participan en la estabilidad de las moléculas puentes de hidrógeno entre las bases y grupos fosfatos, en unos casos y en otros con el C2'-OH de la ribosa.

El hecho de que la estructura se establece principalmente por las bases invariantes y semiinvariantes sugiere que todos los ARNt tienen la misma estructura tridimensional. En el capítulo 30 se verá que esta forma tridimensional de ARN se adapta perfectamente a su función de transferir aminoácidos a los ribosomas durante la síntesis de proteínas.

ARN ribosomal

Los ARN ribosomales (ARNr) forman parte de la estructura de los ribosomas y contribuyen a la función de estos organitos.

El ARNr se encuentra formando parte de los ribosomas, donde está muy relacionado con proteínas. Como se verá con más detalles en el capítulo 29, estas partículas citoplasmáticas pueden disociarse en dos subunidades desiguales, la mayor denominada L (*large*) y la menor S (*small*).

El ARNr representa del 50 al 60 % del peso de la partícula y cada subunidad contiene moléculas de ARN que le son características. En los procariotes estas moléculas se refieren de acuerdo con su coeficiente de sedimentación como ARNr de 5, 16 y 23 S, lo cual significa que contienen alrededor de 120, 1 540 y 2 900 nucleótidos respectivamente. En los eucariotes estas especies principales se refieren como de 5, 18 y 28 S, y existe una adicional de 5,8 S que contiene unos 160 nucleótidos. Por lo general la subunidad menor solo contiene una especie molecular (16 o 18 S), mientras las otras se encuentran en la mayor. A continuación se revisarán los aspectos más sobresalientes de sus estructuras.

Estructura primaria. Al igual que los ARNt, los ARNr presentan bases modificadas, pero en menor proporción, pues apenas da cuenta del 1 % del total de bases. La modificación más frecuente es la metilación, aunque pueden haber otras. Las bases modificadas están por lo general agrupadas en pequeños sectores de la estructura primaria. A diferencia de los ARNt, los ARNr presentan grupos metilos en el C2'-OH de la ribosa y estas modificaciones se encuentran muy distribuidas en la molécula.

El análisis comparativo de la secuencia de bases de los ARNr de diferentes especies ha mostrado un elevado grado de conservación evolutiva. Existen secuencias de 10 a 20 nucleótidos que son esencialmente invariantes en todas las especies estudiadas; esto sugiere que dichas secuencias están involucradas en las funciones de los ARNr y no en la estructura. Se ha comprobado que las secuencias conservadas se localizan hacia la superficie del ribosoma, lo cual apoya su carácter funcional.

Estructura secundaria. Con el conocimiento de la estructura primaria, así como diferentes aproximaciones experimentales y teóricas, se han construido modelos de estructuras secundarias de los tipos principales de ARNr. Estos modelos contemplan el establecimiento del mayor número de bases apareadas y “empalizadas” con lo cual disminuye considerablemente el contenido energético de la molécula. No obstante, se debe tener presente que estas moléculas existen en asociación con proteínas, y es posible

que esas interacciones influyan en la estructura de los ARNr. Por otra parte, la estructura terciaria que aún es desconocida puede implicar la existencia de otro tipo de interacciones que podrían contribuir a la estabilidad de la molécula en mayor grado que las secundarias.

ARN mensajero

Los ARN mensajeros (ARNm) transfieren la información genética desde el ADN hacia los ribosomas durante el proceso de expresión de la información genética.

Poco se sabe de las estructuras de orden superior de los ARNm de eucariotes, esto se debe, en parte, a que la cantidad de ARNm específicos en la célula es muy baja, lo cual dificulta su purificación y por otra, al igual que los ARNr, se encuentran en el citoplasma en compleja unión con proteínas. Los ARNm suelen ser moléculas con metabolismo inestable, o sea, son degradados con rapidez, de ahí que presenten un tiempo de vida media muy corto, en comparación con los ARNr y los ARNt.

Algunos detalles estructurales son característicos de los ARNm de los eucariotes. Todos presentan modificado el extremo 5' por la adición de un nucleótido de 7-metil-guanina mediante un enlace fosfoanídrido, esta estructura recibe el nombre de casquete y suele abreviarse por su equivalente en inglés *cap*; en ocasiones la estructura se completa con la metilación del C2'-OH del primer nucleótido (*cap 1*) y del segundo (*cap 2*). Otra característica importante se observa hacia el extremo 3' donde muchos ARNm presentan una larga cola de poliadenina, poli(A), que puede tener más de 200 nucleótidos. La modificación en 5' parece estar relacionada con la unión del ARNm al ribosoma, en tanto la de 3' parece incrementar la estabilidad metabólica. La estructura de los ARNm será tratada con más detalles en el capítulo 27.

En su proceso de síntesis el ARNm se forma de moléculas mucho mayores, que se encuentran en el núcleo y han recibido el nombre de ARN heterogéneo nuclear (ARNhn). El ARNhn ya presenta el *cap* y la cola de poli(A) y se va acortando por un proceso de maduración que también se estudiará en el capítulo 27.

ARN pequeños

Son moléculas de ARN que contienen de 90 a 400 nucleótidos, de una elevada estabilidad metabólica, y están presentes en las células por decenas de miles de copias cada una; pueden estar localizados en el núcleo y se les denomina ARN pequeños nucleares (ARNsn, del inglés *small nuclear*) o en el citoplasma como ARN pequeños citoplasmáticos (ARNsc, del inglés *small cytoplasmic*).

El subtipo más conocido está formado por seis especies moleculares diferentes, todas con un elevado contenido en uridina, por lo que se les ha denominado como ARN-U y se designan del U1 al U6. Todos los ARN-U presentan modificado el extremo 5' con una estructura tipo *cap*, que del U1 al U5 es la trimetilguanina, pero en el U6 es diferente. Los ARNsn se presentan asociados con más de 10 proteínas diferentes, formando partículas de ribonucleoproteínas (RNPs) que participan en el proceso de maduración de los ARNhn para originar los ARNm y del preARNr.

Los ARNsc se presentan en tres tipos, denominados Y1, Y2 y Y3, y al contrario de los U se encuentran en el citoplasma. Entre los ARNsc merece la pena destacar el ARN 7SL, que se encuentra unido a seis proteínas, formando las partículas de reconocimiento del péptido señal (SRP) que participa en la translocación de las pro-

teínas, las que deben ser procesadas en el retículo endoplasmático rugoso. Este ARN está formado por aproximadamente 300 nucleótidos y tiene tanto hacia el extremo 5' como hacia el 3' una secuencia de tipo Alu, llamada así por ser el sitio reconocido por la enzima de restricción Alu I (capítulo 26). La zona central, constituida por 150 nucleótidos, recibe el nombre de dominio S. Esta molécula se encuentra plegada como lo demuestra el hecho de que el tratamiento con nucleasas da lugar a la formación de dos subpartículas, una que contiene el dominio S y la otra los extremos. La función de las SRP será estudiada con más detalle en el capítulo 30.

Métodos empleados para el estudio de los ARN

También las propiedades de los ARN han permitido el diseño de procedimientos para su purificación y estudio.

Para la obtención de los ARN se procede de forma similar que con el ADN. Después de la ruptura y homogeneización celular se puede hacer una centrifugación en diferentes velocidades (fraccionamiento celular) para separar núcleo, ribosomas y citoplasma soluble.

Los tratamientos con proteasas y ADNasa, así como el empleo de inhibidores de ARNasa, también se utilizan, pues estas enzimas son muy activas en el citoplasma. Con el uso de la centrifugación en gradiente de densidad, la cromatografía y la electroforesis, combinadas de forma adecuada, se pueden obtener preparaciones de un elevado grado de pureza.

La purificación de los ARNm de eucariotas se hizo algo más simple a partir del conocimiento de la cola de poli(A), pues esto lo hace ideal para la técnica de cromatografía de afinidad. Con este objetivo, para preparar la columna al soporte sólido se le une previamente, y de forma covalente, un fragmento de poli(U); cuando la mezcla se deposita en la superficie superior de la columna, se forman apareamientos entre el poli(U) del soporte y el poli(A) del ARNm; con una buena combinación de solventes se logra arrastrar primero las especies no unidas y al final el ARNm.

Para la localización de ARNm específicos puede aplicarse una técnica de transferencia en filtros de nitrocelulosa, como ya fue descrito para el ADN, y después localizarlo con una sonda radiactiva o fluorescente.

Como todos los métodos de purificación, los de ARN exigen una gran imaginación y un conocimiento adecuado de las características estructurales específicas de la o las moléculas buscadas.

ARN como material genético

Algunos virus bacterianos –fagos– poseen ARN como material genético, entre estos los fagos de *E. coli* R17, MS-2, Q β, que tienen un ARN de cadena simple, formando estructuras compactas debido a la presencia de interacciones débiles intracatenarias. En estos virus el ARN cumple dos funciones: una, servir de material genético y otra, sirve como ARNm y dirige la síntesis ribosomal de las proteínas virales.

Por su parte el fago φ6 de *Pseudomonas phaseolica* posee tres ARN de doble hebra, con un peso molecular de 2,3; 3,1 y 5 · 10⁶ cada uno. El virus también contiene la enzima capaz de procesar el ARN, pues esa función no puede realizarla el hospedero.

Solo se conoce un plásmido, constituido por ARN de doble cadena, con un peso molecular de $1,5 \cdot 10^6$ y que forma parte de la llamada partícula “asesina” en levaduras, pues codifica una sustancia de elevada toxicidad.

También los virus de las células eucariontes superiores pueden presentar ARN como material genético. El ARN puede ser de dos tipos: el positivo (+), si también puede funcionar como ARNm, y el negativo (-), si no puede. Algunos virus eucariontes tienen ARN bifibrilar. Un caso interesante es el de los retrovirus, por lo general contienen dos moléculas idénticas (o casi idénticas) de ARN monofibrilar, que gracias a la acción de una enzima viral es usada para la formación de uADN bifibrilar –de ahí el nombre de retrovirus – a este grupo pertenece el virus causante del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (sida).

Resumen

Los ácidos nucleicos constituyen las macromoléculas biológicas más importantes después de las proteínas, pues están relacionadas con las propiedades hereditarias de los seres vivos.

La estructura física del gen es la molécula del ácido desoxirribonucleico (ADN); esta se forma por la polimerización de moléculas más simples, llamadas desoxinucleótidos, cuyas bases nitrogenadas pueden ser del grupo de las purinas, como la adenina y la guanina, o del grupo de las pirimidinas, como la citosina y la timina. Los desoxinucleótidos se unen mediante el enlace fosfodiéster que une el hidroxilo de la posición C3' de uno de ellos con la C5' del vecino. Los extremos de la cadena polimérica son diferentes y por eso se dice que presentan polaridad 5' → 3'.

La estructura espacial del ADN se describe mediante el modelo de Watson y Crick. La molécula está formada por dos hebras antiparalelas, con las bases nitrogenadas hacia el interior y el eje pentosa-fosfato hacia el exterior. Las bases constituyen pares complementarios A con T y G con C, unidos por puentes de hidrógeno, dos en el primer caso y tres en el segundo. El “empalizado” de las bases se mantiene por interacciones hidrofóbicas que son las fuerzas fundamentales en el mantenimiento de la estructura. A lo largo de la molécula del ADN existen numerosas irregularidades que dependen de la secuencia, como la inclinación del par de bases con respecto al eje y los efectos de alabeo y balanceo que crean patrones espaciales de formación de puentes de hidrógeno y permiten la interacción específica del ADN con otras macromoléculas. Cuando los extremos de las cadenas de ADN no pueden rotar libremente, como en los casos de ADN circular, la molécula puede adoptar formas topológicas diferentes, denominadas topoisómeros.

El ADN puede desnaturalizarse mediante el calentamiento por encima de la temperatura de fusión T_m , y renaturalizarse al bajar la temperatura lentamente, lo que ha dado lugar a los métodos de hibridación.

Para estudiar el ADN se precisa extraerlo de la célula, rompiendo esta y separándolo de las proteínas; después puede ser purificado utilizando una amplia variedad de métodos como la cromatografía, la electroforesis y la centrifugación. Las técnicas de transferencia permiten localizar ADN específicos.

Los ADN se pueden presentar en forma de una sola cadena, como en los virus.

Las moléculas independientes del cromosoma, como en el caso de los plásmidos o del ADN mitocondrial, son de doble hebra.

Los *ácidos ribonucleicos* (ARN) son productos génicos primarios, lo que equivale a decir que su estructura está determinada directamente por el ADN. Constituyen un grupo heterogéneo de macromoléculas tanto desde el punto de vista estructural como funcional. En general sus funciones están vinculadas con los mecanismos de expresión de la información genética.

Los ARN están formados por una sola cadena de polinucleótidos, enlazados mediante uniones fosfodiéster 5'-3'. Su composición de bases es menos regular que la del ADN, y entre las pirimidinas prevalece el uracilo, en vez de la timina. La pentosa que contiene es la ribosa, cuyo C2'-OH impone limitaciones a su estructura tridimensional y los hace susceptibles a la hidrólisis alcalina.

La cadena única de los ARN se pliega sobre sí, formando zonas de bases apareadas, separadas por zonas no apareadas (las asas), que pueden ser internas o terminales. Las interacciones de “empalizado”, en primer término, y los puentes de hidrógeno, en segundo, contribuyen a estabilizar esa estructura secundaria. De la estructura terciaria poco se sabe.

En las células hay varios tipos de ARN: ARNt, ARNr, ARNm y ARN pequeños. Los ARNt contienen alrededor de 76 nucleótidos con casi el 20 % de sus bases modificadas. Todos presentan una estructura secundaria similar que se ajusta al modelo de la hoja de trébol. La estructura terciaria adopta la forma de una letra L invertida. Los ARNr presentan una estructura más compleja, pues algunos pueden tener más de 2 000 nucleótidos. Presentan una menor proporción de bases modificadas que los ARNt, pero la ribosa está metilada en gran número; su estructura secundaria sigue los patrones expuestos y la terciaria se desconoce. La estructura de los ARNm es más heterogénea y, en relación con el metabolismo, es el menos estable de todos los ARN. Presenta un casquete en el extremo 5' y una cola de poli(A) en el 3' y está unido a proteínas formando ribonucleopartículas mensajeras. Desde el punto de vista bioquímico deriva del ARN heterogéneo nuclear. Los ARN pequeños constituyen varios grupos, los más conocidos son los pequeños nucleares tipo U, que participan en la transformación del ARN hn en ARNm y los pequeños citoplasmáticos tipo Y, que al parecer intervienen en la síntesis de proteínas de secreción.

Los ARN pueden presentarse como el material genético en algunos virus, que en ocasiones adopta una estructura duplohelicoidal. Existe un plásmido de levadura constituido por ARN, aunque todos los demás contienen ADN.

Ejercicios

1. ¿Por qué se afirma que el ADN contiene toda la información necesaria para la transmisión de los caracteres hereditarios? ¿Cómo contiene esa información?
2. A un estudiante se le entrega una solución que contiene un fragmento de ADN de rata, de una longitud de 250 pb, y se le pide que determine la composición de bases del fragmento. Al llegar al laboratorio le informan que solo tienen disponibles los métodos para la determinación de adenina. ¿Cree usted que el estudiante pueda cumplir exitosamente la tarea encomendada?
3. Un posgraduado determina la composición de bases de un ADN y obtiene los resultados siguientes: A = 23 %, G = 30 %, T = 28 % y C = 19 %. ¿Qué tipo de organismo está estudiando el posgraduado?

4. Escriba la fórmula de los pares de bases A-T y C-G. Infiera por qué el primero se mantiene por dos puentes de hidrógeno y el segundo por tres.
5. Se sabe que las proteínas pA y pB se unen al ADN por el surco mayor. Estudios refinados demuestran que mientras pA se une al ADN por la secuencia CAATG, la pB lo hace por TGCCA. ¿Cómo pueden estas proteínas distinguir una secuencia de otra?
6. A dos estudiantes se les encomienda la tarea de analizar el ADN de dos organismos diferentes, digamos pX23 y pY21. Los alumnos extraen elADN y lo cortan en fragmentos de aproximadamente igual longitud.Al centrifugarlos en un gradiente de CsCl, el ADN del pX23 se concentra en una banda única. Por su parte elADN del pY21 se distribuye en tres bandas, una grande y dos pequeñas. ¿Cuáles son las características de la composición de estos ADN que pudieran explicar los resultados?
7. ¿Por qué cree usted que losARN pueden desarrollar un número mayor de funciones que los ADN?
8. Si usted tuviera que mencionar una función única para losARN ¿cuál seleccionaría?
9. Un estudiante determinó la composición debases de unARN y obtuvo los resultados siguientes: A = 21 %, G = 29 %, T = 21 % y C = 29 %. ¿A qué tipo de organismo pertenecía ese ARN?
10. ¿Cuál es la función que pueden desempeñar en los ARN las modificaciones que se producen en las bases nitrogenadas y en la ribosa?
11. ¿Por qué cree usted que todos losARNt presentan una estructura terciaria similar, si sus secuencias de bases no son exactamente iguales?
12. Si a usted se le encarga la tarea de purificar un ARNt específico ¿cuál pudiera ser un procedimiento importante para llevar al éxito su encomienda?
13. ¿Por qué cree usted que durante la evolución los organismos más avanzados utilizan como material genético el ADN y no el ARN?



Capítulo
12

Proteínas

En casi todos los procesos que ocurren en las células están presentes las proteínas (del griego *proteios*, que significa primero o más importante). Entre las macromoléculas, estas son las ejecutoras; el ácido desoxirribonucleico (ADN) es la memoria que contiene la información genética y los ácidos ribonucleicos (ARN) son las macromoléculas descodificadoras, ya que son capaces de convertir la información codificada en los ácidos nucleicos en la información secuencial de las proteínas.

Existen miles de proteínas diferentes, cada una con función específica. A cualquier nivel que nos refiramos, una determinada estructura permite una función determinada y las proteínas son un ejemplo conspicuo; por ello, se torna importante e imprescindible el estudio de la estructura de las proteínas, lo que permitirá comprender su diversidad funcional, la relación estructura-función y sus propiedades más relevantes.

En este contexto, dada sus importancias biológica y biomédica, no podemos dejar de hacer referencia a los péptidos.

Péptidos y proteínas

Los péptidos y las proteínas son polímeros (del griego *poli*, muchos y *meros*, parte) de aminoácidos unidos por enlace peptídico.

Cada aminoácido que forma parte de una cadena peptídica se le denomina residuo, pues ha perdido un átomo de hidrógeno de su grupo amino y una porción hidroxilo de su grupo carboxilo, o uno de los dos si ocupan los extremos de la cadena.

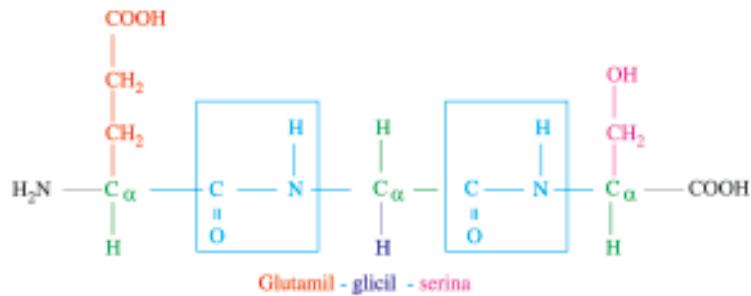
Se denominan *oligopéptidos* cuando contienen de dos a siete residuos de aminoácidos; polipéptidos cuando su peso molecular es menor que 5 000 D, y proteínas cuando su peso molecular es mayor que 5 000 D.

En el caso de los oligopéptidos se puede especificar el número exacto de residuos de aminoácidos que contiene, anteponiendo los prefijos: di-, tri-, tetra-, penta-, hexa-, o hepta-, a la palabra péptido. El dipéptido contiene dos residuos de aminoácidos, el tripéptido tres y así sucesivamente.

Estructura de los péptidos

Como el enlace peptídico se establece entre el grupo α -carboxilo de un aminoácido y el grupo α -amino del siguiente, los residuos de los extremos tendrán: uno, el grupo

amino no comprometido en el enlace, y el otro, el carboxilo. Por convenio, el residuo aminoacídico que tiene el grupo amino libre (N-terminal) suele escribirse a la izquierda y el que posee el grupo carboxilo libre (C-terminal), a la derecha.



Los péptidos están constituidos por un eje covalente donde se alternan de forma monótona el carbono α y el enlace peptídico, por lo que quedan proyectadas por fuera de este eje covalente las cadenas laterales de los residuos aminoacídicos. Algunos ejemplos de péptidos se muestran a continuación:

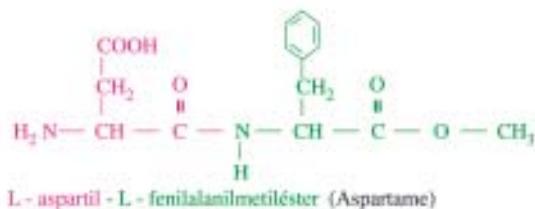
Arg — Pro — Pro — Gli — Fen — Ser — Pro — Fen — Arg
Bradiquinina

Cis — Tir — Iso — Gln — Asp — Cis — Pro — Leu — Gli — NH₂
Oxitocina

Tir — Gli — Gli — Fen — Met
Encefalina

D — Fen —> L — Leu —> L — Orn —> L — Val —> L — Pro
L — Pro —<— L — Val —<— L — Orn —<— L — Leu —<— D — Fen

Gramicidina S

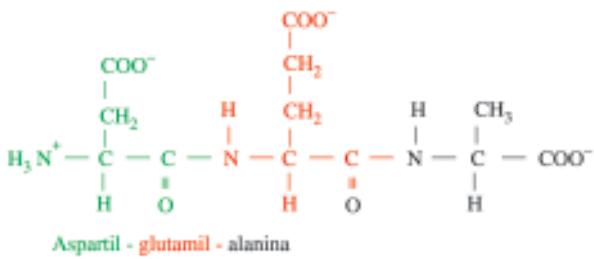


La conformación de los polipéptidos queda estabilizada por interacciones débiles. Su actividad solo está favorecida cuando adquieren conformaciones específicas.

Ionización. Los grupos que se encuentran ionizados a pH fisiológico son α -amino y el α -carboxilo terminales, así como los grupos de las cadenas laterales de los residuos de aminoácidos básicos y ácidos.

No obstante, las constantes de ionización de estos grupos serán diferentes a las de los aminoácidos libres, pues estarán bajo la influencia de los grupos que les rodean.

Se puede predecir el comportamiento ácido-base y la carga eléctrica de un péptido a partir de sus grupos α -amino y α -carboxilo libres, y de la naturaleza y número de los grupos ionizables de sus cadenas laterales (Fig. 12.1).



pH = 7

Funciones biológicas

Los péptidos cumplen variadas e importantes funciones. En la tabla 12.1 se relacionan algunos ejemplos.

Tabla 12.1. Oligopéptidos y péptidos que cumplen funciones notables

Oligopéptidos y polipéptidos	R _{a.a}	Origen	Función
Hormona liberadora de tirotropina	3	Hipotálamo	Hormona que estimula la liberación de la hormona tirotropina
Glutatión	3	Casi todas las células	Defensa contra agentes oxidantes
Encefalina	5	Sistema nervioso central	Control del dolor, induce analgesia
Oxitocina	9	Hipófisis posterior	Hormona que estimula las contracciones uterinas
Bradiquinina	9	Riñón	Acción vasodilatadora potente
Gramicidina S	10	Bacteria	Antibiótico <i>Bacillus brevis</i>
Glucagón	29	Páncreas	Hormona hiperglicemiante
Corticotropina	39	Hipófisis	Hormona que estimula anteriorla corteza suprarrenal
Peptidoglicanas	Variable	Células bacterianas	Confiere rigidez y resistencia a la envoltura celular bacteriana

R_{a.a}: Total de residuos aminoacídicos.

Importancia biomédica

Numerosos oligopéptidos sirven como neurotransmisores en los centros nerviosos del encéfalo; otros son hormonas liberadoras mediante las cuales el hipotálamo gobierna la función de la hipófisis; otros son hormonas producidas en el tracto gastrointestinal; además, otros oligopéptidos operan en los mecanismos involucrados en las vías sensoriales del dolor, presión, calor o en la inducción del sueño, por ejemplo, la sustancia P:

Arg — Pro — Lis — Pro — Gln — Gln — Fen — Fen — Gli — Leu — Met — NH₂

distribuida en el cerebro, la médula espinal y el sistema nervioso periférico, parece ser el neurotransmisor usado por las neuronas sensoriales eferentes de la médula dorsal, involucrado en los mecanismos del dolor, presión y calor

La sustancia P está presente en el tracto gastrointestinal, en células especializadas endocrinas y en los plexos nerviosos, provocando vasodilatación y estimulación de la motilidad. En la enfermedad de Corea de Huntington, caracterizada por movimientos

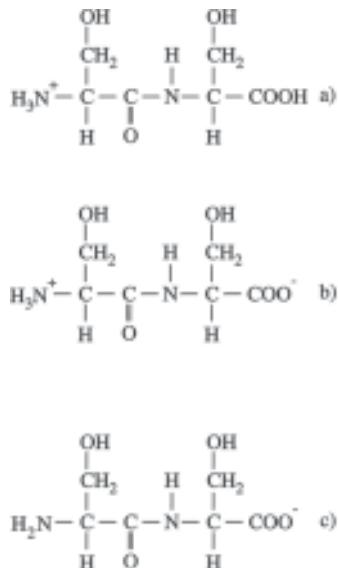


Fig. 12.1. Dipéptido serilserina. (a) Disuelto en una solución que tiene pH < 3 se encuentra en su forma catiónica. (b) Representación de su forma isoelectrica. (c) Disuelto en una solución que tiene pH > 10 se encuentra en su forma aniónica. Serina pK₁ = 2,21 pK₂ = 9,15.

involuntarios breves y deterioro progresivo de las funciones neurales superiores, este es uno de los neuropeptídos cuya concentración está disminuida.

Muchos péptidos pueden utilizarse con fines terapéuticos por ser antibióticos o agentes antitumorales.

Entre los antibióticos se encuentran la valinomicina y la gramicidina. La bleomicina es un péptido que se encuentra entre los agentes antitumorales.

Proteínas

Las proteínas son grandes polímeros, cuyo peso molecular abarca el rango entre 5 000 y millones, que adoptan variadas estructuras en el espacio, que posibilitan sus funciones.

Clasificación de las proteínas

Debido a la diversidad estructural y funcional de las proteínas y a las propiedades físico-químicas que presentan, existen diversos criterios para clasificarlas.

Por su forma. Pueden clasificarse en globulares y fibrosas. Las globulares son proteínas cuya estructura tridimensional es esferoidal. La razón de sus ejes axiales es menor que 10 y generalmente no exceden de tres a cuatro. Son proteínas globulares la mioglobina, la hemoglobina, las proteínas plasmáticas, numerosas enzimas y las histonas.

Las fibrosas son proteínas cuya estructura tridimensional es alargada, se conoce que la razón entre sus ejes axiales es mayor que 10.

Por su solubilidad. Pueden clasificarse en insolubles, solubles y poco solubles. Las insolubles presentan una estructura muy “empaquetada”, que les permite constituir los diferentes tipos de fibra, aquí se encuentran todas las proteínas fibrosas; también incluye las proteínas globulares, que forman parte de las membranas celulares, en las cuales su grado de insolubilidad se corresponde con la profundidad de inmersión en la bicapa lipídica. Esto es consecuencia de la cantidad de cadenas laterales de residuos de aminoácidos apolares que se proyectan desde su superficie e interactúan con la porción apolar de los lípidos mediante el establecimiento de uniones hidrofóbicas.

Las solubles presentan una estructura espacial globular, donde se proyectan, emergiendo de su superficie, las cadenas laterales de residuos de aminoácidos polares, que establecen interacciones no covalentes con las moléculas de agua, que permiten mantenerse en solución, aquí se encuentran casi todas las proteínas globulares.

Las poco solubles o solubles en soluciones de sales neutras, como el cloruro de sodio; las globulinas son un ejemplo de estas proteínas.

Por su composición química. Pueden clasificarse en simples y conjugadas. Las simples están constituidas solo por aminoácidos. Las conjugadas tienen unido a las proteínas un grupo prostético, que no es proteico, estas se subclasifican sobre la base de ese grupo (Tabla 12.2).

Por su función. Se pueden agrupar en siete tipos de funciones generales (Tabla 12.3).

Estructura primaria

La estructura primaria de las proteínas se define como el orden o la secuencia de sus L- α -aminoácidos unidos mediante enlaces peptídicos (Fig. 12.2).

Tabla 12.2. Proteínas conjugadas

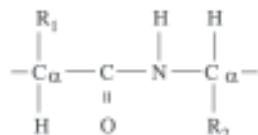
Clase	Grupo prostético	Ejemplo
Lipoproteínas	Lípidos	β -lipoproteína de la sangre
Glicoproteínas	Glúcidos	El receptor de insulina
Fosfoproteínas	Grupos fosfato	Glucógeno fosforilasa a
Hemoproteínas	Hemo	Citocromo C
Flavoproteínas	Flavín-nucleótidos	NADH-deshidrogenasa
Metaloproteínas	Hierro	Catalasa
	Zinc	Alcohol deshidrogenasa
	Calcio	Calmodulina
	Molibdeno	Dinitrogenasa
	Cobre	Citocromo oxidasa
	Manganoso	Ribonucleótido reductasa
	Potasio	Pirúvico quinasa
	Selenio	Glutatión peroxidasa
	Níquel	Ureasa

Tabla 12.3. Clasificación de las proteínas, según la función biológica que realizan

Tipo	Ejemplos	Función
Enzimas	Telomerasa	Regula la longitud de los telómeros
	Óxido nítrico sintasa	Interviene en los procesos de memoria y aprendizaje
Transporte	Albúmina	Transporta moléculas insolubles a través del plasma sanguíneo
	Ceruloplasmina	Transporta cobre en el plasma sanguíneo
Reserva	Ferritina	Reserva de hierro
	Actina y miosina	Actúan en el sistema contráctil del músculo esquelético
Contráctiles	Tubulina	Forman los microtúbulos, posibilitando su movimiento
	Elastina	Confiere elasticidad a los ligamentos, al desplazarse en las direcciones de un plano
Estructurales	Conexina	Interviene en el control del crecimiento y la diferenciación
	Inmunoglobulinas	Participan en la respuesta inmunológica
Defensa	Trombina	Enzima que participa en el mecanismo de la coagulación sanguínea
	p53	Controla el ciclo celular
Reguladoras	MDM 2	Activa la muerte celular programada
		Regula la actividad de la proteína p53

Este nivel estructural, codificado genéticamente, se conoce cuando se sabe el número, la estructura o identidad y el orden de todos sus residuos de aminoácidos, constituye la estructura básica de las proteínas. Al analizarlo en detalle se distinguen un componente estructural común para todas las proteínas y otro específico para cada una de estas.

Componente estructural común. Es el eje covalente monótono y homogéneo, donde se alternan el carbono α y el grupo peptídico. Entre dos carbonos α se pueden distinguir tres tipos de enlaces covalentes, el que se establece entre el carbono α y el carbono carbonilo, el enlace peptídico y el que se establece entre el N-amídico y el carbono α .



Este polímero presenta las cadenas laterales de los residuos aminoacídicos por fuera del eje covalente monótono, por lo que no interfieren en su estabilidad. Este eje covalente común a todas las proteínas solo difiere (de proteína a proteína) en el número total de residuos de aminoácidos que lo componen; su estabilidad queda demostrada ante proteínas como la enzima glutámico deshidrogenasa integrada por 8 300 residuos de aminoácidos, y ante las condiciones extremas que se requieren para hidrolizar el enlace peptídico; para ello hay que utilizar ácidos concentrados o álcalis diluidos hirviéntes durante varias horas.

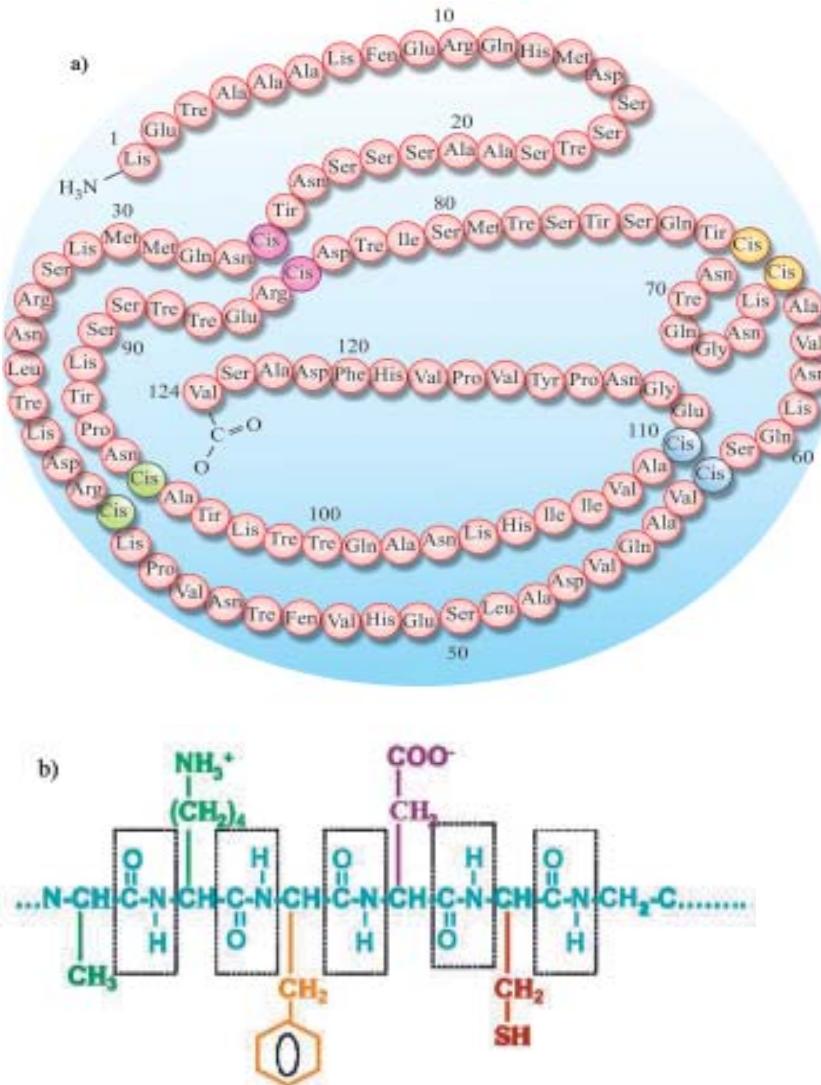


Fig. 12.2. (a) Secuencia de aminoácidos de la ribonucleasa bovina. (b) Representación de la estructura primaria de un segmento de proteína. En el centro (en azul) la parte monótona de la molécula; en colores diferentes la porción variable. Enmarcados en cuadros, los grupos peptídicos.

Componente estructural específico. En todas las especies, las proteínas se forman a partir del mismo conjunto , integrado por unos 20 L- α -aminoácidos. Estos aminoácidos son diferentes debido a la estructura de sus cadenas laterales, que les confieren propiedades fisico-químicas específicas. La identidad, la cantidad Tabla 12.4 y el orden de los residuos de aminoácidos que las constituyen es lo que determina la estructura primaria y la individualidad de las proteínas.

Es esta secuencia de aminoácidos la que va a determinar su estructura tridimensional y, por ende, su función.

Información secuencial. La información secuencial de las proteínas radica en el orden que tienen los aminoácidos en su estructura primaria y es única para cada proteína (capítulo 9).

Tabla 12.4. Composición de aminoácidos de tres proteínas

Aminoácidos	Número de residuos de aminoácidos por molécula de proteína		
	Citocromo C (humano)	α -caseína (bovina)	Ferredoxina (de espinacas)
Alanina	6	9	9
Arginina	2	6	1
Asparagina	5	8	2
Aspártico	3	7	11
Cisteína	2	0	5
Glutamina	2	14	4
Glutámico	8	25	9
Glicina	13	9	6
Histidina	3	5	1
Isoleucina	8	11	4
Leucina	6	17	8
Lisina	18	14	4
Metionina	3	5	0
Fenilalanina	3	8	2
Prolina	4	17	4
Serina	2	16	7
Treonina	7	5	8
Triptófano	1	2	1
Tirosina	5	10	4
Valina	3	11	7
Total	104	199	97

Se conoce que algunas proteínas de diferentes especies, con funciones iguales, tienen secuencias de aminoácidos semejantes; que muchas enfermedades se producen por la alteración del orden o secuencia de los aminoácidos (capítulo 76), y que la localización celular, la modificación química o la vida media de las proteínas están determinadas por ciertas secuencias de aminoácidos que sirven de señal.

Organización tridimensional

Se denomina **conformación** a la disposición espacial que adoptan los átomos de una molécula. Cada proteína tiene varias conformaciones posibles, por lo que puede pasar de una a otra por transconformación; durante este proceso no ocurre la ruptura de enlaces covalentes, por lo que la transconformación puede ser el resultado de la rotación alrededor de enlaces simples.

La conformación que generalmente predomina es la que posee la menor energía libre de Gibbs (G) en el momento que se adopta.

Se denomina **proteína nativa** cuando esta macromolécula posee la estructura espacial que le permite funcionar. El estudio de la organización espacial de las proteínas incluye los niveles secundario, terciario y cuaternario.

Resulta conveniente comenzar el estudio de la estructura tridimensional de las proteínas resaltando que:

1. Viene determinada por su secuencia de aminoácidos, por lo que está codificada genéticamente.
2. Es única o casi única para cada proteína.

3. Está estabilizada por interacciones débiles o no covalentes y por el puente disulfuro que es un enlace covalente.
4. La función depende de su estructura tridimensional.

Estructura secundaria

De la estructura primaria recordemos que los carbonos α de aminoácidos adyacentes se encuentran separados por tres enlaces covalentes, ordenados así: $C_{\alpha}-C-N-C_{\alpha}$.

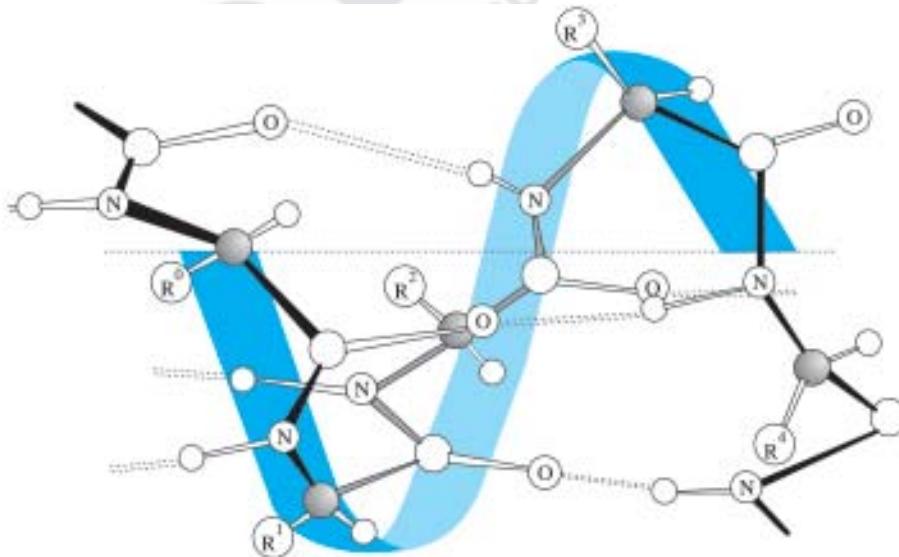
Los giros alrededor de los enlaces simples permiten la formación de estructuras secundarias.

Se conoce por nivel de organización secundario (estructura secundaria) el ordenamiento regular que adoptan sectores de la cadena peptídica a lo largo de un eje, debido a la interacción de los grupos carbonílicos y amídicos con formación de puentes de hidrógeno; las principales son la α -hélice y la conformación β .

α -hélice. La α -hélice es una disposición regular de la cadena polipeptídica, con predominio del eje longitudinal está estabilizada por puentes de hidrógeno intracatenarios que se establecen entre los elementos del enlace peptídico.

El eje covalente se encuentra enrollado de forma compacta alrededor del eje longitudinal de la molécula, constituyendo una hélice. Las cadenas laterales de los residuos de aminoácidos se proyectan por fuera del eje covalente helicoidal; cada giro de hélice ocupa 0,56 nm del eje longitudinal e incluye 3,6 aminoácidos.

Esta estructura está estabilizada por el máximo de puentes de hidrógeno intracatenarios, que se establecen entre el átomo de hidrógeno que está unido al nitrógeno amídico y el átomo de oxígeno carbonílico del cuarto aminoácido con respecto a este, por lo que cada vuelta sucesiva de la α -hélice queda unida a las vueltas adyacentes. Los puentes de hidrógeno están orientados en paralelo al eje longitudinal de la molécula.



Como se verá a continuación, la estabilidad de la α -hélice se afecta por diversos factores que determinan que cada segmento helicoidal abarque una pequeña extensión de más o menos 10 residuos de aminoácidos como promedio.

La estabilidad de la α -hélice puede verse afectada por:

1. *La repulsión (o atracción) electrostática entre residuos de aminoácidos*, cuyas cadenas laterales presenten cargas eléctricas iguales o diferentes, a pH fisiológico (Fig. 12.3), por ejemplo, muchos residuos de aminoácidos polares iónicos contiguos impedirían la formación de la α -hélice en ese segmento.
2. *Volumen de los grupos adyacentes*. El tamaño y la forma de algunos grupos de la cadena lateral de los residuos de aminoácidos impiden la formación o desestabilizan la α -hélice, por ejemplo, la cercanía de los residuos de asparagina, serina, treonina y leucina.
3. *Interacciones entre cadenas laterales de aminoácidos, separadas por tres o cuatro residuos*. Cuando existen aminoácidos básicos y ácidos separados por tres o cuatro residuos se establecen entre estos interacciones iónicas que inestabilizan la α -hélice, lo mismo ocurre en el caso de los aminoácidos aromáticos al establecerse entre estos interacciones hidrofóbicas.
4. *Presencia de residuos de prolina*. La prolina es un aminoácido cíclico; el átomo de nitrógeno forma parte de un anillo rígido, por lo que no existe rotación alrededor del enlace N-C _{α} ; tampoco dispone del átomo de hidrógeno del nitrógeno amídico para formar puentes de hidrógeno.
5. *Interacción entre aminoácidos en los extremos de la α -hélice y el dipolo eléctrico inherente a esta estructura*. Cada enlace peptídico es un pequeño dipolo eléctrico, donde el oxígeno carbonílico tiene carga parcial negativa y el nitrógeno amida, carga parcial positiva.

En la α -hélice los puentes de hidrógeno que se establecen entre el oxígeno carbonílico y el hidrógeno del nitrógeno amídico forman también un dipolo eléctrico.

La magnitud de ambos dipolos eléctricos es aditiva, en la dirección de los puentes de hidrógeno de la hélice, de esta forma el momento dipolar neto aumenta con la longitud de esta.

Como los cuatro residuos de aminoácidos, situados a continuación de cada extremo de la hélice, no participan a plenitud de sus puentes de hidrógeno, esto trae como consecuencia que las cargas parciales positivas del dipolo de la hélice radiquen en los grupos aminos cercanos al extremo amino-terminal, y que las cargas parciales negativas del dipolo de la hélice radiquen en los grupos carbonilos cercanos al extremo carboxilo-terminal (Fig. 12.4).

Con frecuencia existen residuos de aminoácidos básicos que se encuentran cerca del extremo carboxilo-terminal, contribuyendo a la estabilización de la carga negativa del dipolo de la hélice; si por el contrario, fueren residuos de aminoácidos ácidos, su interacción sería desestabilizante. Una consideración opuesta puede ser válida para el extremo amino-terminal.

Conformación β . Es la disposición regular de las cadenas polipeptídicas con predominio del eje longitudinal y estabilizada por puentes de hidrógeno intercatenarios, que se establecen entre los elementos del enlace peptídico.

En la conformación β las cadenas polipeptídicas se disponen en zig-zag, por lo que a esta estructura se le denomina cadena plegada (Fig. 12.5).

Cada cadena presenta una torción derecha ostensible, como consecuencia de interacciones entre los carbonos asimétricos de los residuos de L- α -aminoácidos (Fig. 12.6).

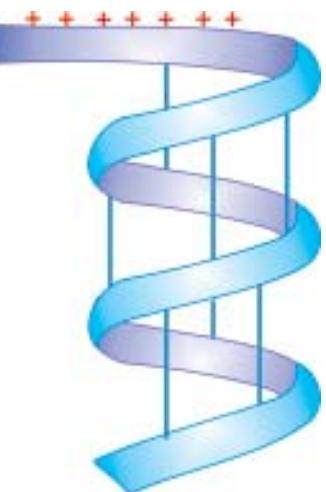


Fig. 12.3. Desestabilización de la α -hélice. Los segmentos de cadena polipeptídica con varios residuos de aminoácidos básicos consecutivos, desestabilizan la α -hélice como consecuencia de la repulsión de las cadenas laterales con carga positiva (en rojo).

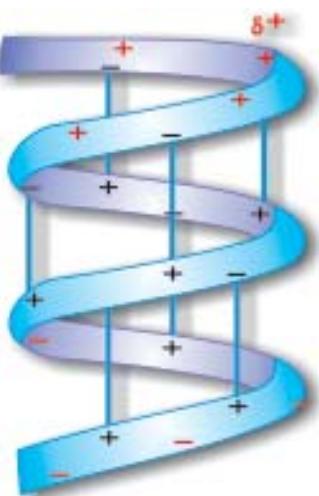


Fig. 12.4. Dipolo eléctrico global de la α -hélice. El dipolo eléctrico de los enlaces peptídicos se transmite a lo largo de la α -hélice, a través de las interacciones por puentes de hidrógeno. Los constituyentes amino y carbonilo de cada enlace peptídico se indican mediante los símbolos + y -. Los grupos amino y carbonilo, no enlazados por puentes de hidrógeno y situados cerca de los extremos de la α -hélice, se muestran en rojo.

Fig. 12.5. Sector de una cadena polipeptídica en cadena plegada. Se observa la disposición en zigzag de las cadenas polipeptídicas. Las cadenas laterales de los residuos de aminoácidos (en azul claro) se proyectan por encima y por debajo del plano que contiene los ejes covalentes. Las líneas discontinuas indican los puentes de hidrógeno.

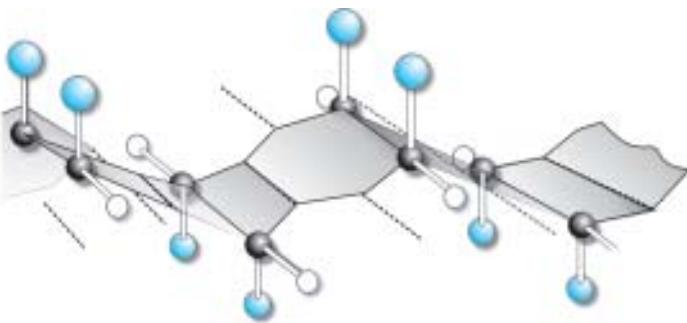


Fig. 12.6. Cadenas α . El giro a la derecha de las cadenas α es más estable.

La disposición en zigzag permite que se establezca el máximo de puentes de hidrógeno, los que unen a cada cadena con las adyacentes, al interactuar los oxígenos carbonílicos con los hidrógenos amídicos (Figs. 12.7 y 12.8).

Las cadenas laterales de los residuos de aminoácidos se proyectan por encima y por debajo del plano que ocupan los ejes covalentes de las cadenas polipeptídicas, de esta manera no interfieren con la estabilidad de la estructura (Fig. 12.5).

La hoja plegada β puede ser paralela (Fig. 12.7), si las cadenas polipeptídicas tienen la misma dirección (enfrentan los mismos extremos terminales) o antiparalelas (Fig. 12.8), en caso contrario.

En la hoja plegada paralela los puentes de hidrógeno se establecen de forma oblicua y alternan la dirección, con respecto al eje longitudinal de cada cadena polipeptídica, por lo que son más débiles con respecto a los puentes de hidrógeno de las antiparalelas, que se establecen de forma perpendicular a los ejes de cada cadena y, por ende, quedan paralelos entre sí (Figs. 12.7 y 12.8).

En las proteínas globulares con frecuencia la hoja plegada β se estructura a partir de sectores de una misma cadena polipeptídica.

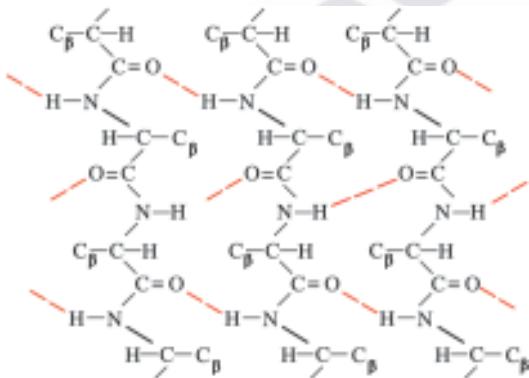


Fig. 12.7. Hoja plegada paralela. Las cadenas corren en el mismo sentido. Los puentes de hidrógeno se establecen en dirección oblicua al eje longitudinal de cada cadena.

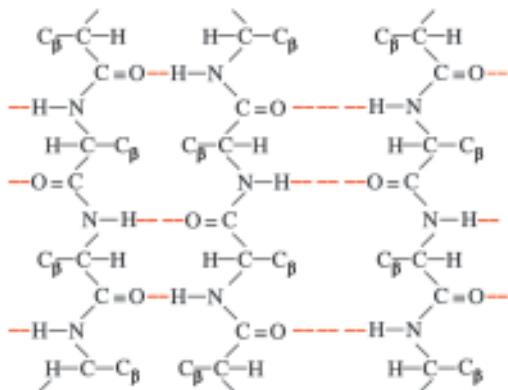


Fig. 12.8. Hoja plegada antiparalela. Las cadenas adyacentes corren en sentido contrario. Los puentes de hidrógeno se establecen de forma perpendicular al eje longitudinal de cada cadena.

La hoja plegada antiparalela puede formarse cuando se enfrenten dos o más sectores alejados de la misma cadena o cuando una cadena cambie abruptamente de dirección. En este último caso, el sector que las conecta se conoce como giro o codo β (Fig. 12.9).

El giro o codo β forma un giro cerrado de aproximadamente 180° , en el que están involucrados cuatro residuos de aminoácidos; queda estabilizado por puentes de hidrógeno entre el primero y el cuarto residuos. En su secuencia contiene glicina por ser un residuo pequeño o prolina, que determina que el enlace peptídico donde participa su nitrógeno pueda tomar la configuración cis, lo que propicia el giro cerrado (Fig. 12.10).

La formación de una hoja plegada paralela requiere de cinco sectores o más. La conexión entre dos de estos se establece mediante un segmento de cadena polipeptídica que cruza por encima del plano que ocupa la hoja plegada, orientado hacia la derecha. En ninguna proteína se ha observado que el segmento polipeptídico conector tome la conformación hacia la izquierda (Fig. 12.11).

Es más frecuente la formación de estructuras secundarias, constituidas solo por hojas plegadas paralelas o solo por antiparalelas, con respecto a las que contienen ambos tipos, no obstante, algunas proteínas como la anhidrasa carbónica poseen las dos.



Fig. 12.9. El giro β conecta a las cadenas antiparalelas.

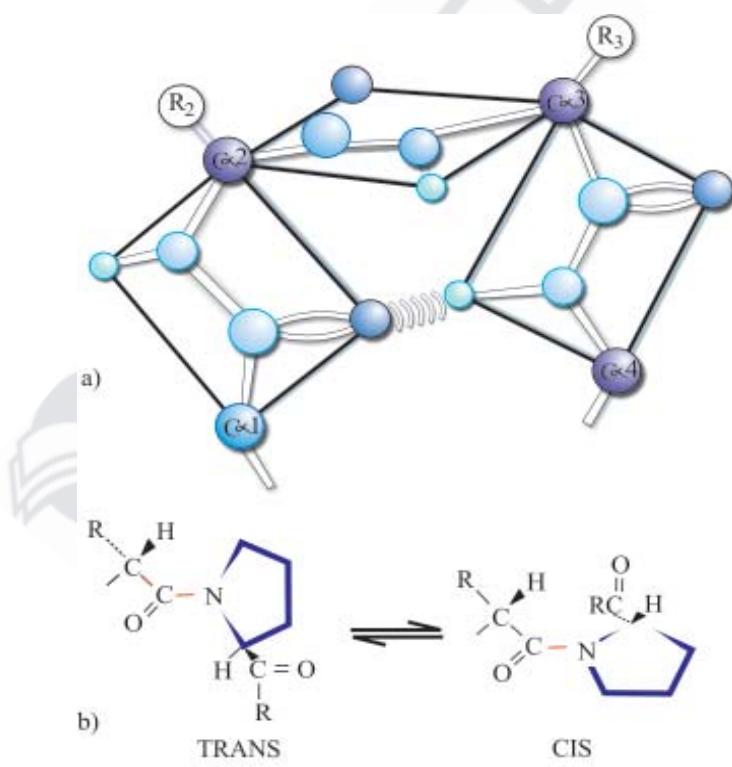


Fig. 12.10. Estructura del giro β . (a) Obsérvese el puente de hidrógeno entre el oxígeno carbonílico del primer residuo y el hidrógeno amídico del cuarto. (b) Isómeros trans y cis de un enlace peptídico con el nitrógeno de la prolina.

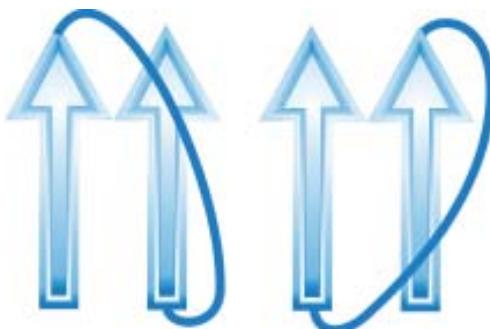


Fig. 12.11. Sector conector de cadenas paralelas β . El segmento polipeptídico que conecta las cadenas paralelas presenta un giro hacia la derecha. No se observa ningún sector conector con giro hacia la izquierda.

Estructura terciaria

Es la disposición tridimensional de las cadenas polipeptídicas estabilizadas por interacciones débiles, que se establecen entre las cadenas laterales de los residuos de aminoácidos y por el enlace covalente por puente disulfuro. Las interacciones débiles pueden ser: uniones salinas o iónicas, fuerzas de Van der Waals, puentes de hidrógeno y uniones hidrofóbicas, según la identidad de los aminoácidos cuyas cadenas laterales se enfrenten.

En las proteínas globulares, residuos de aminoácidos que ocupan posiciones alejadas en los niveles primario y secundario pueden interactuar cuando la proteína está plegada (Fig. 12.2a). Determinados aminoácidos como: prolina, treonina, serina y glicina propician en la cadena polipeptídica la formación de giros durante el plegamiento, con una determinada dirección y ángulo; estos giros o lazos son estructuras irregulares, extendidas o plegadas.

Como modelo para el estudio de la estructura terciaria de las proteínas globulares usaremos la mioglobina (Fig. 12.12). Esta proteína es un polímero de 153 aminoácidos.

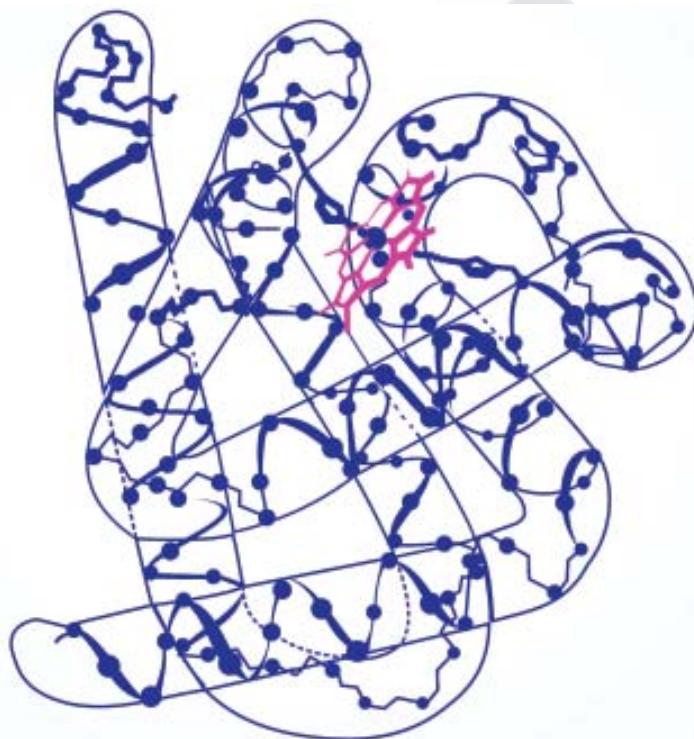


Fig. 12.12. Representación esquemática de la estructura tridimensional de la mioglobina. El grupo hemo se representa en rojo.

Su estructura terciaria está formada por ocho sectores de α -hélice (80 %), de los cuales el sector más largo tiene 23 residuos de aminoácidos y el más corto, siete. La continuidad de esta estructura secundaria en α -hélice está afectada por la presencia de un residuo de prolina en cuatro sectores diferentes y por los residuos de serina, treonina y asparagina, en otros. Por estos sectores se pliega la molécula; al acercarse los ocho segmentos, relativamente rectos, de α -hélice, se aproximan residuos de aminoácidos que antes estaban distantes y sus cadenas laterales pueden interactuar.

Aquellos que poseen cadena lateral apolar se disponen hacia el interior de la molécula de mioglobina e interactúan mediante uniones hidrofóbicas; este denso núcleo hidrofóbico es característico de las proteínas que poseen forma espacial globular o esférica. Como el “empaquetamiento” es muy compacto, las cadenas laterales apolares están muy cerca-

nas y las fuerzas de Van der Waals que se establecen potencian significativamente la acción estabilizante de las uniones hidrofóbicas.

Todas las cadenas laterales de residuos de aminoácidos polares se encuentran en la superficie externa de la molécula, excepto dos de estas.

El plegamiento que adopta la mioglobina es una de las muchas posibilidades. Existen otras proteínas en cuyo nivel terciario se incluyen sectores de α -hélice o de conformación β (Tabla 12.5).

Tabla 12.5. Características estructurales y funcionales de algunas proteínas con nivel estructural funcional terciario

Proteína	R	H	C	S	Función
Mioglobina	153	80	0	0	Almacena y transporta oxígeno en las células musculares
Citocromo C	104	39	0	0	Transporta electrones en la cadena respiratoria mitocondrial
Lisozima	129	40	12	4	Enzima que interviene en la ruptura de los polisacáridos de la pared celular de algunas bacterias
Ribonucleasa	124	26	35	4	Enzima que interviene en la digestión de los ácidos ribonucleicos
Quimotripsina	247	14	45	5	Enzima que interviene en la digestión de las proteínas
Carboxipeptidasa	307	38	17	0	Enzima que interviene en la digestión de los oligopéptidos

R: total de residuos de aminoácidos. H: % de residuos en α -hélice. C: % de residuos en conformación β . S: total de puentes disulfuro.

Modelos estructurales terciarios comunes. En el nivel terciario de numerosas proteínas globulares, no en las fibrosas, existe una serie de regularidades en su plegamiento que son comunes; puede ser que dichas regularidades confieran a este nivel un grado no habitual de estabilización o flexibilidad estructural o ambos.

Las estructuras secundarias principales α -hélice y conformación β , forman estructuras mixtas, las que se consideran un nivel estructural intermedio de transición entre los niveles secundario y terciario, conocidas como estructuras supersecundarias o motivos, que tienen significado estructural y funcional. Entre estas se encuentran:

- $\beta\text{-}\beta$, integrada por dos cadenas plegadas; presenta dos variantes. Si las cadenas adyacentes son antiparalelas están conectadas por un extremo mediante un giro β (Fig. 12.13 a). Si son paralelas, la conexión es hacia la derecha (Fig. 12.13 b).
- *Bucle $\beta\alpha\beta$* , la conexión hacia la derecha entre las cadenas plegadas β paralelas contiene una α -hélice (Fig. 12.13 c).
- *Barril β* , ocho cadenas están orientadas de forma tal que dibujan la superficie de un cilindro, aquí se observa la tendencia a la torsión de cada cadena (Fig. 12.13 d).
- *Motivo de la silla*, está formado por cinco cadenas β paralelas, ligeramente torcidas, que se relacionan en el centro (Fig. 12.13 e).
- *Llave griega*, está constituida por cuatro cadenas antiparalelas entre sí, conectadas la primera con la segunda, la segunda con la tercera y la primera con la cuarta mediante giros β (Fig. 12.13 f).

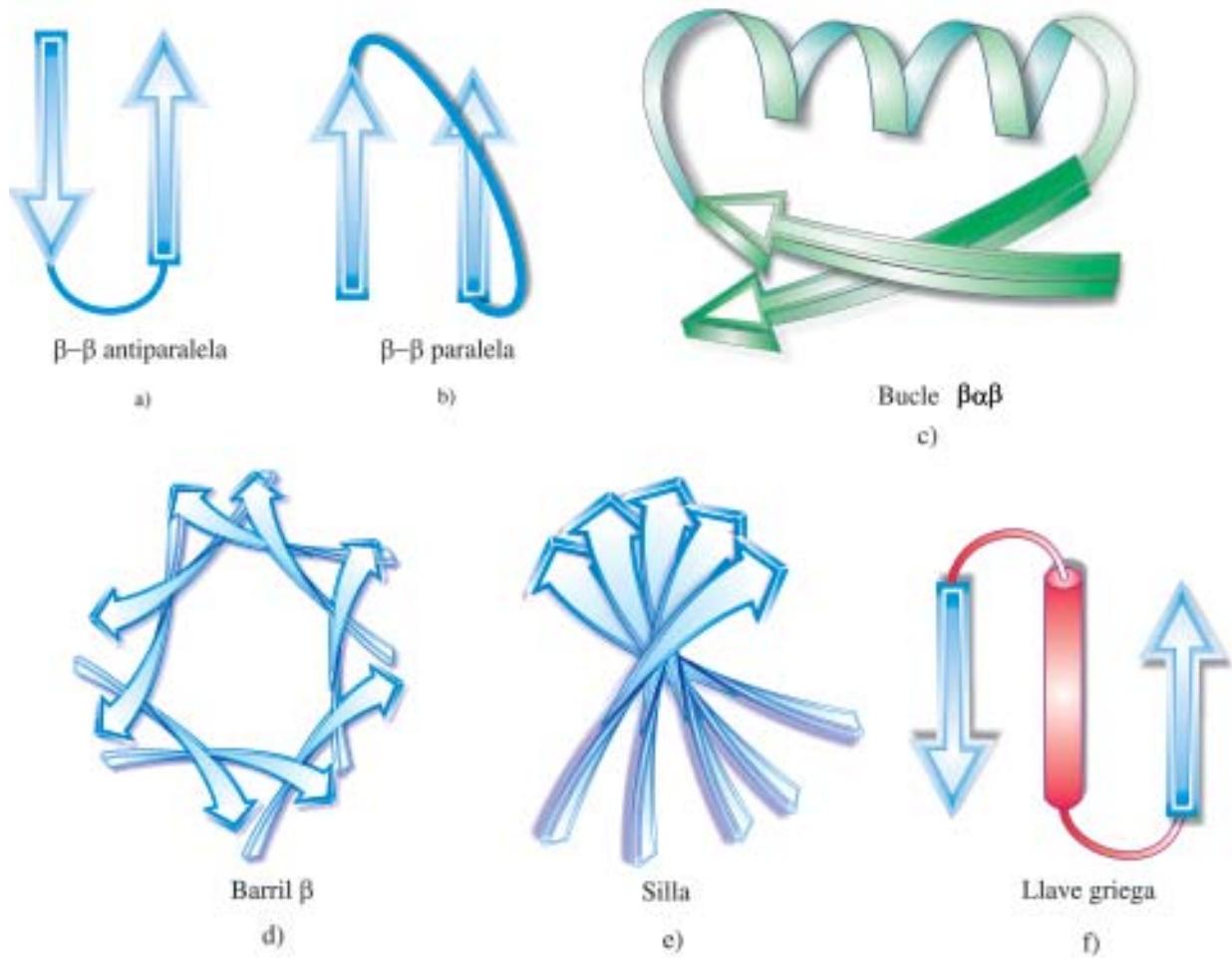


Fig. 12.13. Estructuras supersecundarias o motivos. El motivo $\beta\alpha\beta$ puede estar formado por: (a) cadenas antiparalelas o (b) cadenas paralelas. (c) El bucle $\beta\alpha\beta$ tiene una región donde se producen las interacciones hidrofóbicas estabilizadoras, que aparece sombreada en gris (d). El barril β y (e) la silla forman el núcleo estable de muchas estructuras. (f) La llave griega es una unidad repetitiva que se encuentra con frecuencia en las proteínas globulares.

Estos motivos supersecundarios, al participar en unidades repetidas aun mayores, dan lugar a diferentes estructuras terciarias. Así, cuando dos motivos $\beta\alpha\beta$ se solapan, originan la unidad $\beta\alpha\beta\alpha\beta$. En muchas enzimas se ha demostrado que esta unidad se encuentra formando un sitio de unión para los nucleótidos.

En muchas proteínas que enlazan dinucleótidos, se combinan dos unidades $\beta\alpha\beta\alpha\beta$ para formar un motivo alternativo, conocido como enlazantes de dinucleótidos.

Muchas otras enzimas poseen una conformación terciaria en barril α/β , resultante de una estructura en barril β conectada mediante α -hélices. La disposición de las cadenas plegadas β al formar el barril es importante, ya que posibilita que se cree el núcleo central hidrofóbico. El extremo del barril está relacionado con el sitio funcional o el centro activo de determinadas enzimas.

Existen otras regularidades o motivos como son: el haz de cuatro hélices (Fig. 12.14a) y “emparedado” $\beta\beta$ (Fig. 12.14b).

Con frecuencia las estructuras secundarias y supersecundarias de las proteínas se organizan en zonas conectadas por el eje covalente, que han sido llamadas **dominios**. Cada dominio puede incluir entre 40 y 400 residuos de aminoácidos y tener funciones específicas diferentes.

Dinámica del plegamiento. La célula de la *Escherichia coli* puede sintetizar una molécula de proteína completa y biológicamente activa, de 100 residuos de aminoácidos en 5 s a 37 °C; si se plegara espontáneamente, formándose al azar todas las conformaciones posibles, hasta llegar a la biológicamente activa, se necesitarían 10^0 años.

Es obvio que el plegamiento de una proteína hasta adquirir su estructura tridimensional biológicamente activa, no es un proceso al azar.

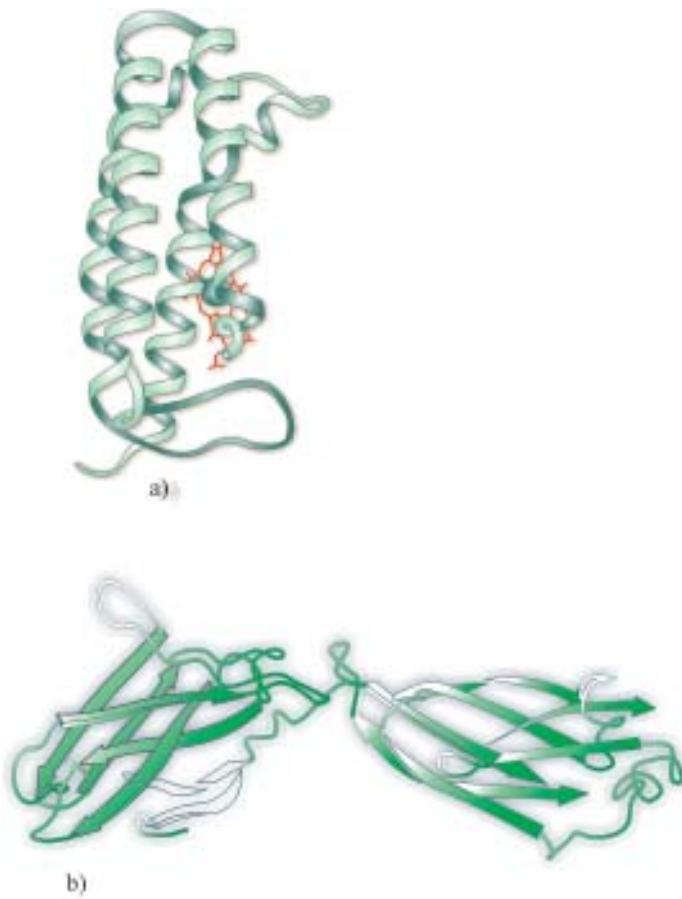


Fig. 12.14. Representación esquemática de algunas regularidades estructurales presentes en el nivel terciario. (a) El haz de cuatro hélices, aquí puede observarse en el citocromo C. Las hélices adoptan una ligera inclinación que da lugar a un bolsillo interior, que a menudo contiene un sitio de fijación para metales u otros cofactores esenciales para la función biológica. (b) El “emparedado” β - β se observa en el dominio V₂ de las inmunoglobulinas. Al formar las hojas plegadas una estructura cruzada se crea un bolsillo hidrofóbico interior que suele ser un sitio de unión de una molécula planar e hidrofóbica.

En uno de los modelos propuestos para explicar la dinámica del plegamiento, se considera que el proceso se produce siguiendo el orden de los niveles estructurales descritos; en otros se plantea que va ocurriendo de manera alternativa (Fig. 12.15) la formación de los niveles secundarios y terciarios, y que está priorizada la formación del núcleo hidrofóbico del nivel terciario. Se pasaría por el nivel intermedio de superenrollamiento secundario antes de llegar a la estructura terciaria, que en las proteínas grandes estaría integrada por varios sectores de estructura secundaria, lo cual permite que por encima del núcleo hidrofóbico queden segmentos integrados por residuos de aminoácidos polares. Estos residuos proyectan sus cadenas laterales hacia la superficie externa, por lo que estas pueden interactuar con el agua y mantener la molécula en solución.

Cuando las proteínas son pequeñas es difícil que presenten un núcleo hidrofóbico, por lo cual el número potencial de interacciones débiles que podrían estabilizar la estructura tridimensional disminuye. A la estabilización contribuyen los puentes disulfuros. Existen proteínas que para su funcionamiento requieren la unión covalente de una molécula no proteica, denominada grupo prostético, este último también contribuye a la estabilización de la estructura espacial.

Proteínas “chaperonas” o fijadoras de cadenas polipeptídicas. El plegamiento espontáneo y correcto que se describió con anterioridad no se cumple en todas las proteínas. Existen proteínas que asisten a otras para que alcancen su estructura tridimensional funcional, después de lo cual se separan de estas, por lo que han sido denominadas proteínas “chaperonas” o fijadoras de cadenas polipeptídicas.

Las “chaperonas” pequeñas son las primeras que se unen a la cadena peptídica en crecimiento, previniendo el plegamiento prematuro (Fig. 12.6).

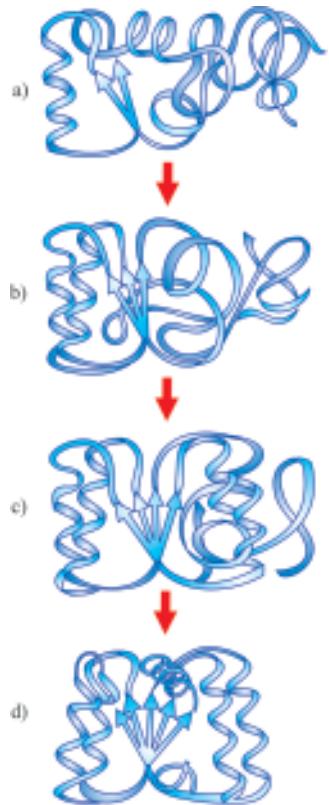


Fig. 12.15. Dinámica del plegamiento. Una posible vía sería la formación alternativa de los niveles secundario y terciario. (a) Se forma un núcleo estable. (b) y (c). Alrededor de un núcleo se van definiendo de forma alterna las otras regiones, primero sus estructuras secundarias y después las terciarias. (d) Queda estructurado el nivel terciario.

Las “chaperonas” grandes se unen después a las cadenas polipeptídicas, crean un microambiente que permite el plegamiento correcto de la cadena polipeptídica e impiden la agregación con otras cadenas. Una vez que la proteína asistida ha adquirido su estructura espacial funcional, las proteínas “chaperonas” se disocian. Esta disociación frecuentemente está asociada con la hidrólisis del ATP.

Las proteínas “chaperonas” también pueden actuar como guía en el plegamiento de algunos polipéptidos.

Estructura cuaternaria

Se denomina estructura cuaternaria al nivel estructural de las proteínas, constituido por dos o más cadenas polipeptídicas, idénticas o diferentes en estructura, generalmente en número par, unidas por las mismas interacciones que mantienen la estructura terciaria. Cada una de estas cadenas polipeptídicas reciben indistintamente los nombres de monómeros o subunidades, y el conjunto forma la proteína oligomérica. En algunas proteínas este nivel se establece de manera espontánea, pero otras requieren la participación de ciertas proteínas, conocidas como “chaperonas”.

La hemoglobina (Fig. 12.17) es una proteína oligomérica, constituida por cuatro cadenas polipeptídicas, denominadas globinas, iguales dos a dos ($\alpha_2\beta_2$); cada subunidad α posee 141 aminoácidos, cada β 146 y cada globina tiene unido un grupo prostético hemo.

Para poder realizar cada una de sus múltiples funciones, requiere de la integridad de su estructura cuaternaria. Esta organización espacial es mucho más compleja y posibilita que esta molécula pueda realizar más funciones que la mioglobina.

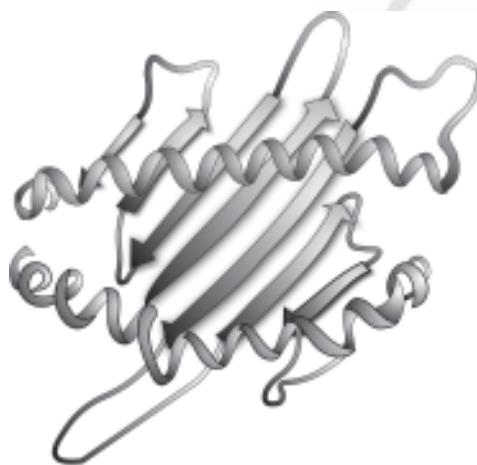


Fig. 12.16. Esquema de las proteínas “chaperonas”. Las pequeñas previenen el plegamiento prematuro, se unen a las proteínas en crecimiento. Las proteínas “chaperonas” grandes actúan como guías en el plegamiento de las proteínas.



Fig. 12.17. Estructura cuaternaria de la hemoglobina. Las cadenas α aparecen en rosado pálido. Las cadenas β en rosado oscuro y los grupos hemo en rojo.

Relación estructura-función de las proteínas

La estructura covalente de las proteínas posee un carácter informacional secuencial, que determina la estructura tridimensional biológicamente activa, terciaria o cuaternaria, según la proteína. La función se ejerce mediante el reconocimiento molecular el cual se establece en virtud de la disposición espacial de las cadenas laterales de determinados residuos de aminoácidos; por tanto, el nivel estructural terciario o cuaternario posee un carácter informacional-conformacional, que permite el funcionamiento de la proteína.

Desnaturalización

La presencia de determinados agentes físicos o químicos provoca la ruptura de algunas interacciones no covalentes y si está presente la de los puentes disulfuros, con ello se produce en mayor o menor grado la pérdida de la estructura tridimensional de la proteína y por ende su función. Este fenómeno se conoce como desnaturalización (Fig. 12.18a).

Resulta oportuno precisar que la desnaturalización no afecta los enlaces peptídicos, por lo que se mantiene el nivel primario.

Cuando solo se pretende desnaturalizar una proteína, el tratamiento tiene que ser relativamente suave. Los disolventes orgánicos miscibles en agua como el alcohol y la acetona, la urea y los detergentes, actúan fundamentalmente destruyendo las uniones hidrofóbicas que estabilizaban el núcleo de las proteínas globulares.

Las variaciones extremas de pH producen cambios en la carga eléctrica de los grupos ionizables de las cadenas laterales de los residuos de aminoácidos expuestos hacia la superficie, cambiando la carga neta de las proteínas, con lo que aparecen repulsiones electrostáticas, también resultan afectados los puentes de hidrógeno. El aumento de la temperatura destruye las interacciones débiles en su conjunto por aumento de la energía cinética.

Según el grado de desorganización de la estructura tridimensional de la proteína, que ocasiona el agente desnaturalizante, este proceso puede ser reversible cuando se eliminan los agentes causales, lo que se conoce como renaturalización (Fig. 12.18b).

Proteínas alostéricas

Las proteínas alostéricas (del griego, *allos*: otros, *stereos*: espacio) son aquellas que tienen uno o varios sitios alostéricos, por donde se une un determinado ligando o efecto. La unión entre un ligando específico y su sitio alostérico se realiza mediante el reconocimiento molecular y el establecimiento de interacciones débiles y es muy específico.

Existen proteínas alostéricas a las que pueden unirse diferentes ligandos; los sitios de unión son generalmente diferentes para cada uno de estos. En dichos sitios con frecuencia existen cadenas laterales de residuos aminoacídicos apolares que propician un microambiente hidrofóbico, favorable al reconocimiento molecular y al establecimiento de las interacciones débiles.

En las proteínas alostéricas existen, al menos, dos conformaciones, que presentan afinidades diferentes por la molécula con que deben interactuar, estas son la tensa T de baja afinidad y la relajada R de alta afinidad (capítulo 17).

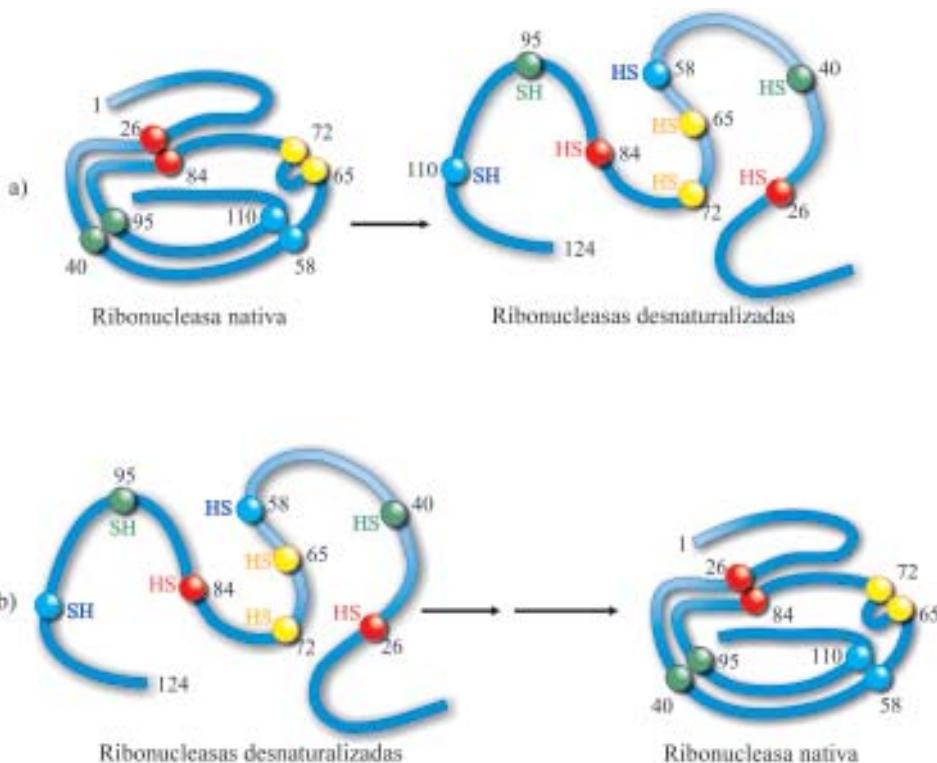


Fig. 12.18. a) Desnaturalización de la ribonucleasa. Cuando se trata la ribonucleasa con β -mercaptopetanol en urea 8 M se reducen los puentes disulfuro, se rompen las interacciones débiles, pierde su estructura nativa terciaria y con ello su actividad enzimática. Aparecen en el mismo color los residuos de cisteína involucrados en los puentes disulfuro. b) Renaturalización de la ribonucleasa. Cuando se eliminan por diálisis la urea y el β -mercaptopetanol, poco a poco se establecen de nuevo las interacciones débiles y los puentes disulfuro (estos últimos son oxidados por el oxígeno presente en el aire atmosférico), se recupera la estructura nativa y con ello la actividad catalítica.

La hemoglobina es una proteína alostérica que puede transportar hasta cuatro moléculas de oxígeno, una por cada subunidad. La unión de la primera molécula de oxígeno a cualquiera de los cuatro sitios de fijación es más difícil que las siguientes, pues implica la ruptura de un número mayor de interacciones iónicas que incluyen aquellas en las que participan los carboxilos terminales de cada globina (Fig. 12.19). La ruptura de estas interacciones provoca una rotación de 15° de un par de subunidades α/β con respecto al otro, aproximándose. Esta transconformación incrementa casi 500 veces la afinidad por el oxígeno de los tres grupos hemo restantes. La segunda, tercera y cuarta moléculas de oxígeno se van uniendo a las subunidades con afinidades crecientes.

La conformación T de la hemoglobina, que predomina cuando está desoxigenada, tiene baja afinidad por el oxígeno y la conformación R, que predomina cuando está oxigenada, tiene elevada afinidad por el oxígeno. El ácido 2,3 bisfosfoglicérico es un ligando o efector alostérico, que se une a la hemoglobina desoxigenada por la cavidad central que existe entre las cuatro subunidades, estabilizando el estado T. El oxígeno liberado en los tejidos será utilizado como agente oxidante final de la cadena transportadora de electrones durante la respiración celular (capítulo 39).

Propiedades fisicoquímicas de las proteínas

Las propiedades fisicoquímicas de las proteínas son consecuencias principalmente de su gran tamaño y de la presencia de grupos ionizables.

Debido a su gran tamaño forman sistemas coloidales cuando se encuentran dispersas en medios acuosos. No dializan, o sea, no pueden difundir a través de las membranas.

Fisiológicamente, las proteínas al no difundir a través de las membranas biológicas crean una presión osmótica, que en este caso particular se denomina oncótica, la que contribuye a la distribución del agua y los electrólitos entre las células y el medio extracelular.

La presencia de grupos ionizables en determinados residuos aminoacídicos explica las propiedades eléctricas de las proteínas.

Estos grupos son los extremos amino y carboxilo terminal, así como todos los ionizables de las cadenas laterales de los residuos aminoacídicos. La carga eléctrica resultante de las proteínas dependerá del predominio de cargas negativas o positivas, lo cual, a su vez, está determinado por el pH del medio. Al valor del pH, al cual las proteínas presentan carga resultante o neta cero y no se desplazan en un campo eléctrico se le denomina punto isoeléctrico (PI) (Tabla 12.6).

En el laboratorio, al variar el pH del medio de disolución, se puede cambiar la carga eléctrica de las proteínas y con ello también su solubilidad. Esta es la base de muchas técnicas de separación de proteínas; su empleo adecuado permite obtener proteínas con elevado grado de pureza y disponer de ellas para su uso médico, las investigaciones y su comercialización.

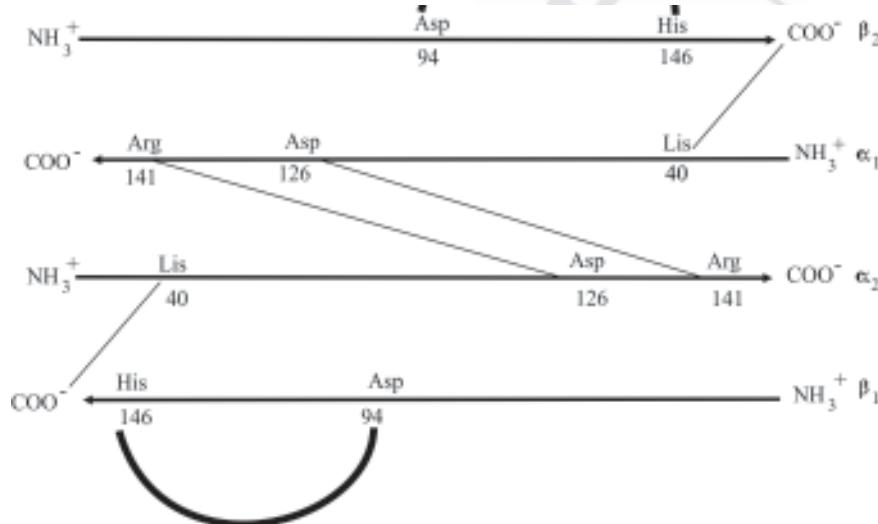


Fig. 12.19. La hemoglobina, una proteína alostérica. Enlaces salinos entre las diferentes subunidades de la desoxihemoglobina. La fijación de la primera molécula de oxígeno es más difícil, pues implica la ruptura de mayor cantidad de uniones salinas. Las otras se van uniendo con más facilidad, a medida que el número de uniones salinas destruidas crece.

Tabla 12.6. Puntos isoeléctricos de algunas proteínas

Proteína	PI
Pepsina	< 1,0
Ovoalbúmina	4,6
Ureasa	5,1
Fibrinógeno	5,5
Catalasa	5,6
Hemoglobina	6,8
Somatotropina	6,9
Ribonucleasa	9,6
Citocromo C	10,6
Lisozima	11,0

Electroforesis

Se denomina electroforesis al método de separación de moléculas, basado en su desplazamiento en un campo eléctrico.

Por este método se pueden separar proteínas que presenten cargas eléctricas diferentes, pues realizarán sus movimientos migratorios a polos opuestos, o que presenten la misma carga, pero cuantitativamente diferente. En este último caso, se desplazarán más rápido y, por tanto, avanzarán más las que presenten un número mayor de cargas eléctricas (Fig. 12.20).

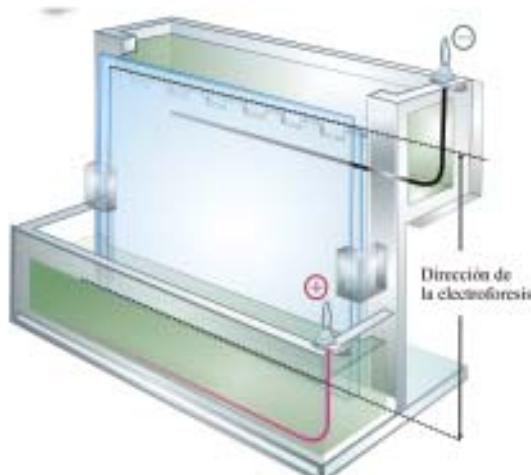


Fig. 12.20. Electroforesis. Las proteínas se trasladan a través del gel cuando se conecta el campo eléctrico.

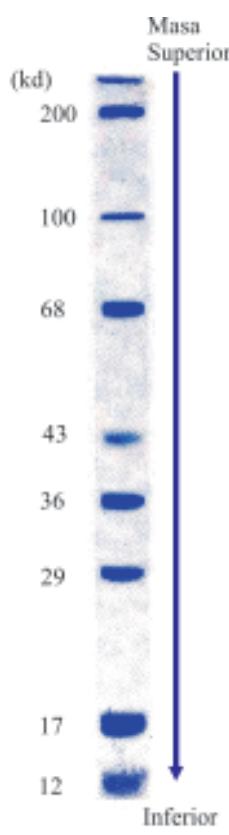


Fig. 12.21. Visualización de las proteínas después de una corrida electroforética. Las proteínas más pequeñas se sitúan cerca del extremo inferior del gel.

Con frecuencia se utilizan como soportes el acetato de celulosa, el papel de filtro y los geles de poliacrilamida, pues retardan el desplazamiento de las proteínas en forma aproximadamente proporcional a su masa molecular. En el caso de los geles de poliacrilamida, las diferentes muestras se colocan en pequeñas depresiones, que se realizan en la parte superior del gel. En el primer pocillo se coloca una mezcla de proteínas cuyo patrón de desplazamiento sea conocido.

La corrida se realiza a un pH determinado y durante el tiempo suficiente, que permita que las diferencias por desplazamiento se manifiesten. Al terminar la electroforesis, se visualizan las proteínas cuando se añade un colorante como el azul Coomassie, que no se fija al gel, pero sí a las proteínas (Fig. 12.21).

Aspectos estructurales de algunas proteínas fibrosas

En el caso de las proteínas fibrosas se analiza la estructura de la α -queratina. De la colágena, su estructura secundaria, pues el resto de su estructura y de la elastina se estudian en el capítulo 68.

α -queratinas

Existen 30 variantes de α -queratina en los mamíferos, ricas en residuos hidrofóbicos de fenilalanina, isoleucina, valina, metionina y alanina. Las del tipo I integran una familia de relativa acidez, mientras que las del tipo II son una familia de relativa basicidad. En el pelo, la estructura de las α -queratinas es dimérica (Fig. 12.22a). Aquí dos α -hélices, una del tipo I y la otra del tipo II se entrecruzan apretadas con giro hacia la izquierda, formando en sus extremos N-terminal y C-terminal dominios de estructura globular poco caracte-

terizados. Esta es la unidad que da origen a la estructura tridimensional superior que está estabilizada por múltiples puentes disulfuro intercatenarios. Los protofilamentos, estructura cuaternaria, están formados por dos hileras antiparalelas de dímeros asociados cabeza-cola (Fig. 12.22b).

La dimerización del protofilamento forma la protofibrilla. Cuatro protofibrillas constituyen una microfibrilla, que tiene aproximadamente 80 Å de ancho y se encuentran cementadas por una proteína de la matriz amorfa que posee un elevado contenido de azufre (Fig. 12.22c). A partir de aquí la formación de las estructuras de orden superior es poco conocida; se sabe que las constituyen las macrofibrillas. Los haces de macrofibrillas de aproximadamente 2 000 Å de diámetro, forman la fibra del cabello.

Triple hélice o tropocolágena

Al contener la estructura primaria de cada hélice 35 % de glicina, 11 % de alanina y 2% de prolina e hidroxiprolina, permite el enrollamiento hacia la derecha de las hélices. La secuencia de aminoácidos equivale a la repetición de un tripéptido del tipo **gli-X-pro o gli-X-hip**, donde X puede ser cualquier aminoácido. Cada hélice que conforma la triple hélice es única, pues presentan giros hacia la izquierda y tienen tres residuos de aminoácido por vuelta. Las tres hélices se trenzan, por lo que cada tercer residuo de cada cadena polipeptídica pasa a través del centro de la triple hélice, que es tan apretado, que solo la cadena lateral de los residuos de glicina ajusta en ese espacio tan pequeño. Los grupos peptídicos están girados de manera tal, que el hidrógeno amídico de cada glicina forma un puente de hidrógeno con el oxígeno carbonílico del residuo aminoacídico X de la cadena vecina (Fig. 12.23).

Los residuos de prolina e hidroxiprolina, voluminosos y relativamente inflexibles, confieren rigidez a todo este ensamblaje.

Como las cadenas polipeptídicas de la triple hélice presentan giros hacia la izquierda pero se enlazan a la derecha, son prácticamente incomprimibles. Cuando sobre esta se ejerce una fuerza tensional longitudinal se convierte en una fuerza de compresión lateral que es más fácil de soportar.



Fig. 12.23. Estructura de la triple hélice o tropocolágena. La secuencia de aminoácidos de cada hélice permite el compacto enrollamiento de las tres hélices, lo que otorga a esta proteína su elevada resistencia a la tensión.



Fig. 12.22. La α -queratina. La hélice (a) da lugar a las protofibrillas. (b) Estas a las micro-fibrillas (c) que finalmente forman los haces de macrofibrillas.

Esta estructura, que solo se encuentra en la colágena, confiere a esta proteína la elevada resistencia a la tensión, sin capacidad de estiramiento que la caracteriza.

Resumen

Las proteínas diferentes que posee el hombre están involucradas en casi todas las funciones que se llevan a cabo en el organismo. Veinte L- α -aminoácidos diferentes están presentes en los péptidos y proteínas, en cantidades variables y en un orden específico, aportando información secuencial. La polimerización de los aminoácidos mediante enlace peptídico determina la estructura primaria, donde el eje covalente homogéneo se establece entre dos carbonos α mediante tres enlaces covalentes. Las cadenas laterales de los residuos de los aminoácidos quedan por fuera del eje covalente.

La organización tridimensional de la proteína queda determinada por los niveles secundario, terciario y cuaternario. El nivel secundario tiene dos formas principales, la α -hélice y la cadena plegada β , estabilizadas por puentes de hidrógeno que se establecen entre los elementos del grupo peptídico. La α -hélice presenta giro derecho; 3,6 residuos de aminoácidos por espira, y los puentes de hidrógeno unen las espiras entre sí. En la conformación β las cadenas polipeptídicas se disponen en forma paralela o antiparalela, los puentes de hidrógeno son intercatenarios.

La estructura terciaria se debe al plegamiento o “empaqueamiento” de la o las estructuras secundarias y supersecundarias, generalmente en forma de dominios. Se encuentra estabilizada por interacciones no covalentes: uniones iónicas o salinas, puente de hidrógeno, uniones hidrofóbicas y fuerzas de Van der Waals, que se producen por la interacción de las cadenas laterales de los residuos aminoacídicos, ayudan a esta estabilización los puentes disulfuro. En muchas proteínas globulares existe un nivel transicional antes del terciario, denominado superenrollamiento secundario.

El nivel cuaternario está integrado por dos o más cadenas polipeptídicas idénticas o diferentes en estructura, casi siempre en número par, unidas por interacciones no covalentes.

Si la estructura espacial de las proteínas depende de su secuencia de aminoácidos existirá una relación composición-secuencia-conformación, que determinará la información conformacional y esta el reconocimiento molecular.

La desnaturación se produce por la exposición de las proteínas ante agentes físicos o químicos que provocan la ruptura de las interacciones débiles, incluso los puentes covalentes disulfuro, se pierde la organización tridimensional y como consecuencia la función. La pérdida del nivel primario no es por desnaturación, sino por hidrólisis.

Las proteínas alostéricas poseen sitios por donde se une específicamente el ligando. La unión produce una transconformación en la proteína, hacia la forma de mayor o menor afinidad por determinada molécula, que influye de una forma determinante en su función.

Las proteínas pueden clasificarse según su forma, solubilidad, composición química o función.

Sus propiedades físico-químicas dependen de su gran tamaño y de la presencia de grupos ionizables.

La importancia de las proteínas es relevante, pues no existe una función que el ser humano sea capaz de realizar donde no estén presentes.

Ejercicios

1. Establezca las semejanzas y las diferencias entre polipéptidos y proteínas.
2. Explique la estructura covalente de las proteínas.
3. Establezca las semejanzas y las diferencias entre las estructuras secundarias principales.
4. Explique la estructura terciaria de las proteínas globulares.
5. Realice un estudio comparativo estructural y funcional entre mioglobina y hemoglobina.
6. Explique porqué mecanismo se pueden desnaturalizar las proteínas, por los agentes siguientes: urea, ácido clorhídrico, temperatura a 60°C y el mercaptoetanol.
7. Explique la importancia funcional de las proteínas “chaperonas”.
8. A un paciente con sospecha de padecer drepanocitosis (*sicklemia*), usted le indica una electroforesis de hemoglobina, con vistas a establecer el diagnóstico definitivo. Fundamente el motivo de esa indicación.
9. Demuestre que en la hemoglobina se cumplen los principios de organización de las macromoléculas.
10. Argumente si puede separarse la albúmina de las globulinas mediante un método basado en su solubilidad.
11. Explique la importancia de la variabilidad estructural de las proteínas.
12. Los lípidos de las membranas biológicas se organizan en bicapas. La parte polar se orienta hacia la superficie y hacia dentro queda la parte apolar . Existen proteínas globulares membranales que se relacionan con la parte apolar de los lípidos. Proponga un modelo de estructura terciaria para ese tipo de proteínas que explique esa posibilidad.

Capítulo
13

Estructura de los lípidos

Los lípidos constituyen un conjunto grande y heterogéneo de compuestos químicos de gran importancia biológica, cuya mayor regularidad estructural consiste en poseer un elevado contenido de ácidos grasos o de cadenas hidrocarbonadas, formadas por la unión de unidades de tipo isoprenoide.

La elevada proporción en componentes apolares confiere a estas sustancias otra regularidad: poseer escasa solubilidad en agua y, en cambio, ser solubles en solventes orgánicos (apolares), como el benceno, el éter y la acetona, entre otros. Esta última propiedad se utilizó para separar estos compuestos de otras biomoléculas, e incluso se ha empleado como fundamento conceptual en su definición.

En este capítulo se estudiarán las características estructurales y las principales propiedades de los lípidos de mayor interés biológico.

Concepto y clasificación

Los lípidos son componentes de los tejidos biológicos que se pueden extraer mediante el uso de solventes orgánicos; estas sustancias no forman macromoléculas, no obstante, pueden agruparse entre sí y con otras biomoléculas para formar los lípidos complejos.

Los lípidos se pueden clasificar de forma variada, en dependencia del criterio empleado; se dividen en: simples, si en su composición intervienen solo el carbono, el hidrógeno y el oxígeno; compuestos, si incluye además nitrógeno, fósforo y azufre. Es posible también clasificarlos en saponificables o complejos y no saponificables o simples, sobre la base de que por hidrólisis alcalina originen o no sales con acción detergente (los jabones) respectivamente; ello se debe a que los complejos contienen ácidos grasos y los simples no.

Emplearemos la clasificación que agrupa a estas biomoléculas según su similitud estructural, por su mayor idoneidad didáctica. Se consideran siete grupos:

1. Ácidos grasos.
2. Ceras.
3. Acilgliceroles (también conocidos como acilglicerídos o glicéridos).
4. Fosfátidos de glicerina (o fosfoglicéridos).
5. Esfingolípidos.
6. Terpenos.
7. Esteroides.

En otras clasificaciones aparecen los terpenos y esteroides en un grupo denominado lípidos isoprenoides.

Función biológica

La gran diversidad de estos compuestos se corresponde con las variadas funciones que desempeñan, las cuales poseen trascendencia para la célula y el organismo en su conjunto:

1. Almacenamiento de energía. Los triacilgliceroles constituyen la forma de almacenamiento de energía en el tejido adiposo, de hecho, la mayor disponibilidad de energía almacenada en un organismo es precisamente de esta manera.
2. Componentes de membrana. Los fosfátidos de glicerina, los esfingolípidos y el colesterol se encuentran formando parte de las diferentes membranas biológicas.
3. Otras funciones. Los triacilgliceroles (o triglicéridos) del tejido adiposo constituyen un medio aislante térmico, que preserva de la pérdida de calor al individuo. Estos lípidos acumulados alrededor de algunos órganos ofrecen un medio apropiado para su sostén y protección ante traumatismos físicos. Por otra parte, algunos lípidos (de naturaleza esteroidea) son hormonas, compuestos que participan en la regulación de la actividad metabólica y fisiológica del organismo; otros derivados de ácidos grasos poliinsaturados presentan una importante actividad fisiológica y farmacológica como: prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos, entre otros. Además, otros lípidos son vitaminas (como la vitamina A o retinol, las naftoquinonas antihemorrágicas o vitaminas K, entre otras). Otros, como las sales biliares, funcionan como poderosos detergentes biológicos. Se realizará el estudio de la estructura, las propiedades y las funciones de cada grupo por separado.

Ácidos grasos

Son ácidos carboxílicos que en su inmensa mayoría no existen libres en la materia viva, sino que forman parte de los lípidos complejos. Los ácidos grasos son mono-carboxílicos, poseen una cadena hidrocarbonada apolar de longitud variable, que casi siempre es abierta y no ramificada.

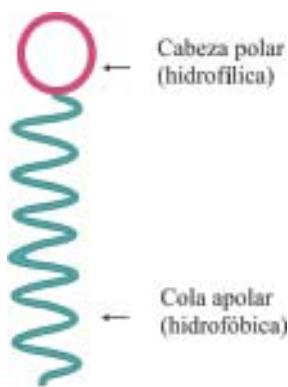


Los ácidos grasos son compuestos anfipáticos, o sea, poseen una porción polar y una apolar en la molécula. Su porción polar (el grupo carboxilo ionizado, COO^-) interactúa con el agua y otros solventes polares, en tanto la cadena apolar hidrocarbonada no interactuará con el agua y sí con solventes orgánicos u otros compuestos apolares. El carácter anfipático de los ácidos grasos es el fundamento de su acción detergente.

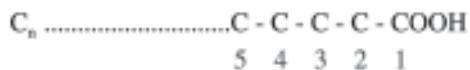
Los ácidos grasos presentes en los seres vivos poseen en su mayoría un número par de átomos de carbono que, como se estudiará en su metabolismo, se explica por los mecanismos de biosíntesis de estos compuestos. Son ácidos débiles y sus valores de pK están alrededor de cinco.

La nomenclatura de los ácidos grasos sigue la misma regla que se vio en el capítulo 5 para los ácidos orgánicos, aunque son más conocidos por su nombre trivial.

Los ácidos grasos pueden ser saturados (si solo poseen enlaces simples en su cadena hidrocarbonada), insaturados (si poseen algún doble enlace en su cadena hidrocarbonada) o sustituidos, si algún átomo de hidrógeno ha sido reemplazado por cualquier grupo químico.



La numeración de los carbonos en los ácidos grasos se hace a partir del carbono carboxílico que será el número 1:



En ocasiones los carbonos se nombran con las letras del alfabeto griego, a partir del carbono número dos: alfa (α), beta (β), gamma (γ), etc.; el carbono terminal se representa por la letra omega (ω).

Ácidos grasos saturados. Como se señaló anteriormente, son aquellos que no presentan dobles enlaces en su cadena carbonada.

Los ácidos grasos saturados más abundantes en los lípidos naturales son el palmitico (C_{16}), el mirístico (C_{14}) y el esteárico (C_{18}) (Tabla 13.1).

$\text{CH}_3\text{-COOH}$	$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$
ácido acético (etanoico)	ácido butírico (butanoico)
$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_{14}\text{-COOH}$	$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_{16}\text{-COOH}$
ácido palmitico (hexadecanoico)	ácido esteárico (octadecanoico)

Tabla 13.1. Ácidos grasos saturados más frecuentes en la naturaleza y de mayor importancia biológica

Fórmula semidesarrollada	Nombre sistemático	Nombre trivial
$\text{CH}_3\text{-COOH}$	Etanoico	Acético
$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-COOH}$	Propanoico	Propiónico
$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_2\text{-COOH}$	n-butanoico	Butírico
$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_3\text{-COOH}$	n-pentanoico	Valérico
$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_4\text{-COOH}$	n-hexanoico	Caproico
$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_{10}\text{-COOH}$	n-dodecanoico	Laúrico
$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_{12}\text{-COOH}$	n-tetradecanoico	Mirístico
$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_{14}\text{-COOH}$	n-hexadecanoico	Palmítico
$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_{16}\text{-COOH}$	n-octadecanoico	Esteárico

Ácidos grasos insaturados. Los ácidos grasos insaturados pueden presentar uno o más dobles enlaces. Al numerar los carbonos que participan en el doble enlace solo se hace referencia al que posee la numeración menor; a este número se le suele anteponer la letra griega delta mayúscula (Δ), que indica la presencia de una insaturación. Los

dobles enlaces también se especifican por su localización a partir del número del carbono donde se ubica el primer doble enlace, pero contando a partir del extremo CH₃ de la cadena hidrocarbonada (carbono ω). Más adelante veremos cómo esta clasificación se emplea para establecer las series de los ácidos grasos poliinsaturados.

Ácido palmitoleico (9 hexadecenoico, ω 7)



10 9

Ácido linoleico (9-12 octadecadienoico, ω 6)



13 12 10 9

Las representaciones abreviadas más empleadas de la estructura general de los ácidos grasos omiten el símbolo del carbono, pero incluyen el número que corresponde con el total de estos átomos en la molécula, la cantidad de insaturaciones y las posiciones de estas en la cadena. Veamos dos de estas variantes para los mismos ácidos grasos:

18:0 18:0 ácido graso de 18 átomos de carbono, saturado.

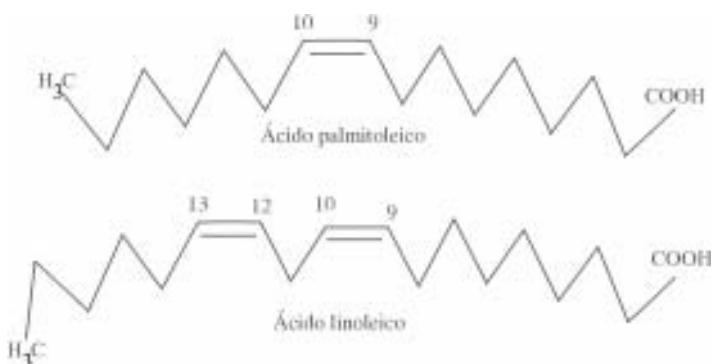
16:1(9) 16^Δ9 ácido graso de 16 átomos de carbono, insaturado en carbono 9.

18:3(9, 12, 15) 18^{Δ9-12-15} ácido graso de 18 átomos de carbono, insaturado en carbonos 9, 12 y 15.

Los ácidos grasos insaturados, encontrados en los tejidos animales terrestres, se caracterizan por poseer en su mayoría, los dobles enlaces a partir del carbono 9. De existir varios dobles enlaces, estos se disponen en forma no conjugada, o sea, con un grupo CH₂ entre las insaturaciones. Otra peculiaridad estructural de estos ácidos grasos es que de los dos isómeros geométricos posibles, predomina la configuración cis (Fig. 13.1). Como puede apreciarse, la configuración cis favorece el plegamiento de la cadena, aproximando los grupos terminales, lo cual se debe a las hibridaciones sp² de los carbonos en los dobles enlaces.



Fig. 13.1. Modelo espacial del ácido oleico ($\text{C}_{18}\Delta^9$), isómero cis. El doble enlace produce un acodamiento en su cadena hidrocarbonada.



Los ácidos grasos insaturados pueden ser monoinsaturados, si poseen un único doble enlace (monoetenoide); poliinsaturados, si contienen dos o más dobles enlaces (polietenoide) e icosanoides, que son ácidos grasos poliinsaturados, derivados de icosapolienoicos (C_{20}).

Los ácidos grasos poliinsaturados se han clasificado en tres series o familias, teniendo en cuenta que los dobles enlaces adicionales se añaden solo entre el átomo de carbono donde se localiza el primer doble enlace (a partir del carbono ω) y el carbono del grupo COOH, por ello las tres series son $\omega 9$, $\omega 6$ y $\omega 3$.

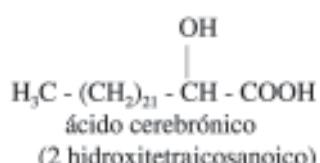
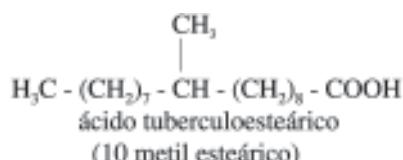
En la tabla 13.2 se relacionan los ácidos insaturados más importantes para el ser humano.

Tabla 13.2. Ácidos grasos insaturados de mayor significación biológica

Número de átomos de carbono y posición de los dobles enlaces	Nombre sistemático y trivial	Ubicación del 1er. doble enlace a partir del extremo CH_3 , carbono ω
16:1 (9)	Palmitoleico (9 hexadecenoico)	$\omega 7$
18:1 (9)	Oleico (9 octadecamoenoico)	$\omega 9$
18:2 (9, 12)	Linoleico (9-12 octadecadienoico)	$\omega 6$
18:3 (9, 12, 15)	Linolénico (9-12-15 octadecatrienoico)	$\omega 3$
18:3 (6, 9, 12)	γ -linolénico (6, 9, 12 octadecatrienoico)	$\omega 6$
20:3 (8, 11, 14)	Dihomo- γ -linolénico (8, 11, 14 icosatrienoico)	$\omega 6$
20:4 (5, 8, 11, 14)	Araquidónico (5, 8, 11, 14 icosatetraenoico)	$\omega 6$
20:5 (5, 8, 11, 14, 17)	5, 8, 11, 14, 17 icosapentaenoico (EPA)	$\omega 3$

Algunos de los componentes derivados de los ácidos icosapolienoicos presentan importantes funciones biológicas y serán tratados al final de este capítulo.

Ácidos grasos sustituidos. Los ácidos grasos sustituidos contienen en su cadena algún grupo químico que reemplaza a un hidrógeno de la cadena hidrocarbonada, son ejemplos los ácidos cerebrónico y tuberculoesteárico.



Propiedades físicas de los ácidos grasos

Las propiedades físicas de los ácidos grasos están muy vinculadas a la presencia del grupo carboxilo, por un lado, y a su cadena hidrocarbonada en cuanto a su longitud, grado de saturación y presencia de sustituyentes, por otro lado.

Los puntos de fusión y ebullición de los ácidos grasos saturados aumentan al aumentar la longitud de su cadena hidrocarbonada, y en los insaturados, ambos puntos disminuyen al aumentar el grado de insaturación en estos, de manera que a temperatura ambiente y en climas tropicales todos los ácidos insaturados son líquidos, al igual que los saturados con menos de 10 átomos de carbono y el resto son sólidos.

En cuanto a la solubilidad, los ácidos grasos de cadena corta son más solubles en agua por la influencia de su grupo carboxilo polar; pero en la medida que aumenta el tamaño de la cadena hidrocarbonada, esta solubilidad decrece hasta hacerse prácticamente nula. La presencia de insaturaciones incrementa también la solubilidad de los ácidos grasos en solventes polares, debido a la interacción de los enlaces pi(π) con las moléculas del disolvente.

Todo lo contrario sucede cuando analizamos la solubilidad de los ácidos grasos en los solventes apolares. Los saturados aumentan su solubilidad en los solventes orgánicos al aumentar la longitud de la cadena hidrocarbonada, y en los insaturados la solubilidad en estos compuestos disminuye con el grado de insaturación.

Propiedades químicas de los ácidos grasos

La longitud de la cadena apenas modifica el pK de estos ácidos, el cual es de aproximadamente cinco para casi todos ellos.

Por su grupo carboxilo los ácidos grasos pueden reaccionar con grupos hidroxilos (OH) y originar ésteres carboxílicos (capítulo 5). Este tipo de enlace se encuentra en los lípidos complejos y mediante él es que se unen los ácidos grasos al glicerol en los acilgliceroles y en los fosfátidos de glicerina.

El grupo carboxilo puede también reaccionar con un grupo amino y formar un enlace amida (capítulo 5); este enlace une el ácido graso al esfingol en los esfingolípidos.



Con metales activos e hidróxidos los ácidos grasos originan sales:

Las sales de aniones de ácidos grasos superiores con metales alcalinos, como el sodio y el potasio, son solubles en agua; poseen carácter anfipático y son tensoactivas (disminuyen la tensión superficial), como consecuencia presentan acción detergente. Esta función detergente no es privativa de este tipo de lípidos, más adelante la encontraremos también en las sales formadas con los ácidos biliares y en otro tipo de lípidos.

Si se adiciona una grasa a un medio acuoso y se deja en reposo, se observan las dos fases separadas (agua: aceite); si se provoca una agitación mecánica (suministro de energía), se forman gotículas pequeñas de grasa en dispersión en la fase acuosa (una emulsión), pero esta emulsión formada es termodinámicamente inestable y, si cesa la agitación, la tendencia de tales gotículas es la coalescencia y separación de nuevo en las dos fases. Sin embargo, si a este mismo sistema se le adiciona un detergente, se logra que la emulsión formada se estabilice; esto se explica porque la cola apolar hidrofóbica y por ende la lipofílica de cada molécula de jabón interactúa con las vecinas, mientras que su cabeza polar interactúa con el medio acuoso y originan las micelas (Fig. 13.2). En

cada micela la carga negativa de los COO^- estará dispuesta hacia la superficie, lo que resulta una repulsión electrostática entre estas (todas con carga negativa), lo que impedirá la coalescencia y explica la detergencia.

El ser humano es capaz de sintetizar los ácidos grasos que requiere, con excepción de tres de ellos: el linoleico, el linolénico y el araquidónico, por tal motivo son conocidos como ácidos grasos esenciales, ya que se precisa de su ingestión en la dieta. Los ácidos grasos son fuentes de energía importantes para el ser humano.

La presencia de dobles enlaces en los ácidos grasos permite que intervengan en reacciones de hidrogenación, halogenación y oxidación:

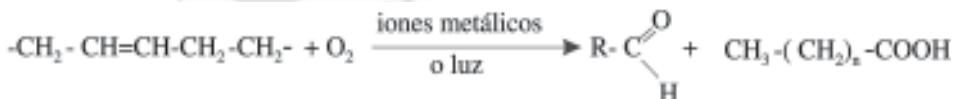
- 1. Reacciones de hidrogenación.** Estas reacciones permiten la conversión de ácidos grasos insaturados en sus homólogos saturados, por la adición de átomos de hidrógeno.



- 2. Reacciones de halogenación.** Las moléculas de halógenos pueden romper catalíticamente los dobles enlaces y dar lugar a los dihalogenuros correspondientes.



- 3. Reacciones de oxidación.** Los ácidos grasos poliinsaturados reaccionan con el O_2 espontáneamente y se inicia una cadena de reacciones autocatalizadas que produce algunos radicales libres como intermediarios, y aldehídos, hidroxiácidos, así como otros compuestos de cadena corta, como productos finales. Algunos de estos productos finales poseen un olor característico, que les confiere el hedor a rancio a las grasas. Las membranas biológicas formadas por diferentes tipos de lípidos que contienen ácidos grasos poliinsaturados son muy sensibles al estrés oxidativo.



Ceras

Son los lípidos que se forman por esterificación de ácidos grasos de cadena larga con determinados alcoholes monohidroxilados o con esteroles.

Las ceras más importantes para el ser humano son aquellas que se forman por la esterificación de ácidos grasos con el colesterol (ésteres de colesterol) y que trataremos al estudiar los esteroides.

Acilgliceroles

Los acilgliceroles (conocidos antes como glicéridos) son ésteres del glicerol con los ácidos grasos.

En dependencia del número de ácidos grasos esterificados pueden ser: monoacilgliceroles, diacilgliceroles o triacilgliceroles (o grasas neutras, antes conocidos como triglicéridos).

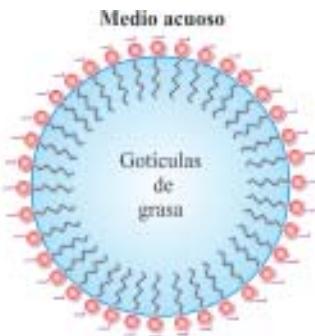
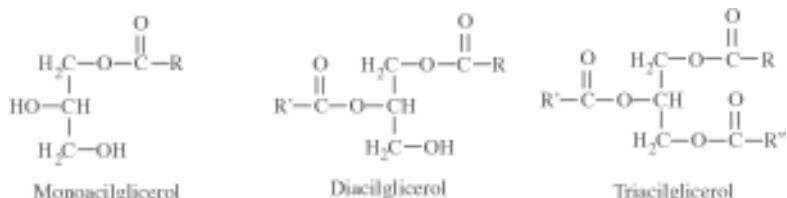


Fig. 13.2. Efecto de un jabón sobre la estabilización de una emulsión de grasas. Los jabones forman esferas, la porción hidrofóbica queda en el centro y rodeada de la porción polar con carga negativa, lo que impide la coalescencia de las gotículas de grasa.



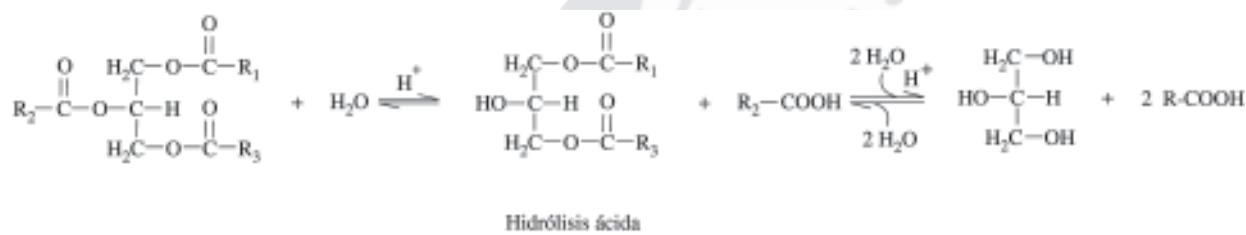
Glicerol o glicerina



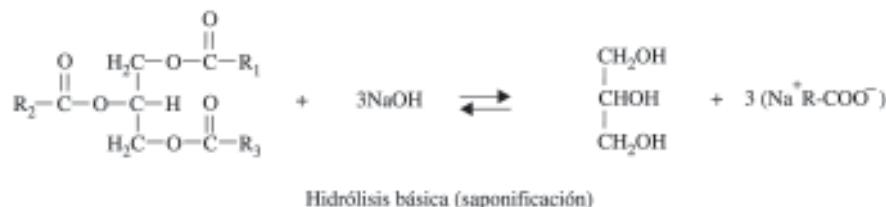
Los acilgliceroles más importantes para el ser humano son los triacilgliceroles; los mono y diacilgliceroles son intermediarios del metabolismo de esta clase de lípidos. Los triacilgliceroles son los lípidos más abundantes en la naturaleza, constituyen una fuente importante de energía para el organismo y la forma de almacenamiento de energía en el tejido adiposo.

Los acilgliceroles, por sus características estructurales son moléculas apolares. Sus propiedades físicas dependen del tipo de ácidos grasos esterificados. Los triacilgliceroles, cuyos ácidos grasos son de cadena larga y saturados, son sólidos a temperatura ambiente (mantecas), en tanto que, si sus ácidos grasos son saturados de cadena corta (menos de 10 carbonos) o insaturados, son líquidos a temperatura ambiente (aceites).

Por hidrólisis en medio ácido los acilgliceroles dan glicerol y ácidos grasos:



y glicerol y sales de sus ácidos (jabones), si el medio es alcalino, una reacción conocida como saponificación:



Los acilgliceroles pueden, si contienen ácidos grasos insaturados, reaccionar con hidrógeno, halógenos u oxígeno, reacciones que fueron estudiadas al tratar los ácidos grasos insaturados.

Funciones de los triacilgliceroles. Las funciones de los triacilgliceroles son:

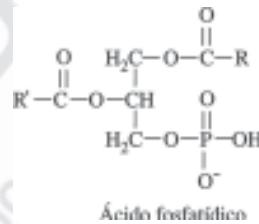
1. Constituyen una reserva energética.
2. Actúan como fuente de energía.
3. Intervienen en la regulación térmica del organismo.
4. Actúan como sostén de órganos.
5. Intervienen en la protección contra traumatismos físicos.

Fosfátidos de glicerina o glicerofosfátidos

Los fosfátidos de glicerina o de glicerol son lípidos complejos, saponificables y que poseen estructura anfipática. Están formados por glicerol, uno o dos residuos de ácidos grasos y un grupo fosfato, además, pueden contener en dependencia del tipo otros compuestos.

Los fosfátidos de glicerina pueden ser:

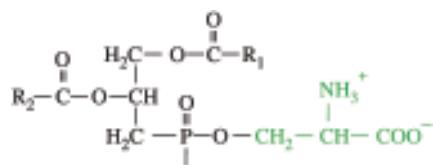
- Ácidos fosfatídicos.
- Fosfatidilserinas (serín-cefalinas).
- Fosfatidiletanolaminas (etanolamín-cefalinas).
- Fosfatidilcolina (lecitinas).
- Fosfatidilinositoles (inositolfosfátidos).
- Fosfatidilgliceroles y difosfatidilgliceroles (cardiolipinas).
- Plasmalógenos.



Ácidos fosfatídicos. La base estructural de la mayoría de los fosfátidos de glicerina es el ácido fosfatídico; este último apenas se encuentra en forma libre en los tejidos animales, aunque constituye la estructura básica del resto de los fosfátidos de glicerina, y metabólicamente es el precursor de su síntesis e incluso un intermedio de la síntesis de los triacilgliceroles. Tiene esterificado al glicerol 2 ácidos grasos, uno de estos casi siempre insaturado, y un grupo fosfato. Estos compuestos, al igual que todos sus derivados, presentan isomería óptica, ya que poseen asimetría molecular. La variedad más frecuente en los fosfátidos naturales es la L, que se representa con el residuo del ácido graso del carbono 2 (o β) hacia la izquierda y el grupo fosfato en el carbono 3 (o α).

Al unírsele al ácido fosfatídico la serina, la etanolamina, la colina y el inositol originan los fosfátidos de glicerina correspondientes.

Fosfatidilserinas. En estos lípidos el ácido fosfatídico se une a la L-serina por esterificación del hidroxilo de la cadena lateral de este aminoácido con el grupo fosfato.



Fosfatidilserinas

Fosfatidiletanolaminas. El sustituyente básico es el alcohol etanolamina. La etanolamina se forma por descarboxilación de la serina, junto con las fosfatidilserinas constituyen el grupo de las cefalinas.

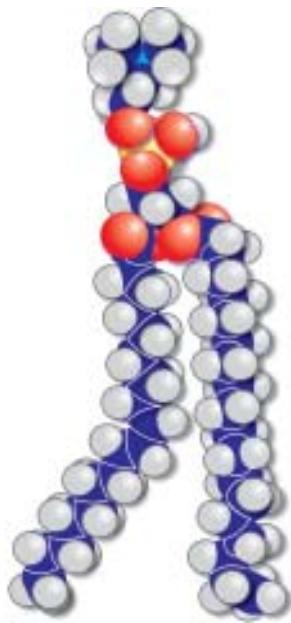
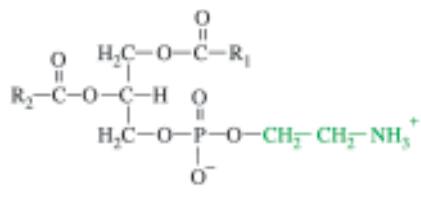
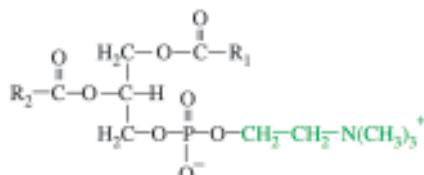


Fig. 13.3. Modelo espacial de una molécula de fosfatidilcolina.



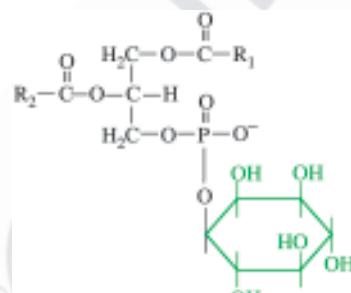
Fosfatidiletanolaminas

Fosfatidilcolinas. La base nitrogenada colina se une al ácido fosfórico por un enlace éster, estos compuestos constituyen las lecitinas. En la figura 13.3 puede apreciarse un modelo de la disposición espacial de este tipo de lípidos.



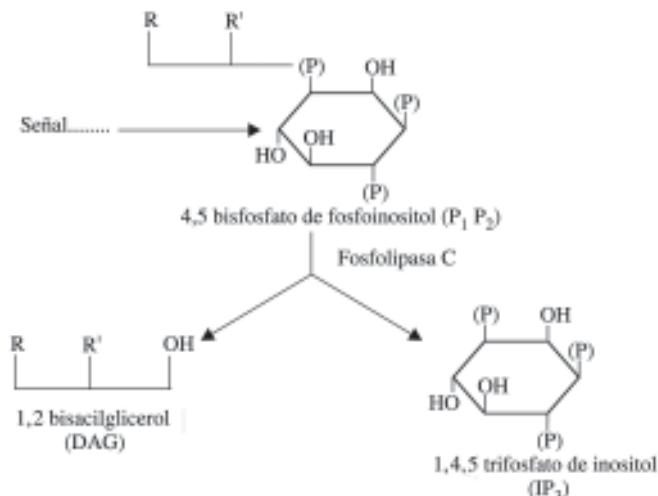
Fosfatidil colinas

Fosfatidilinositoles o inositofosfátidos. Son fosfátidos de glicerina no nitrogenados que contienen un alcohol cíclico de seis átomos de carbono y cuya forma isomérica en los tejidos animales es el mioinositol o mesoinositol.

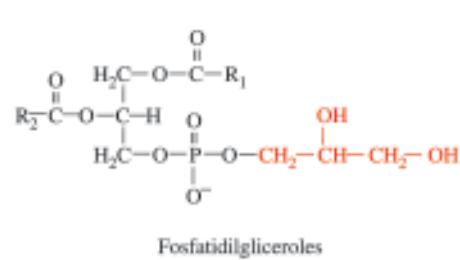
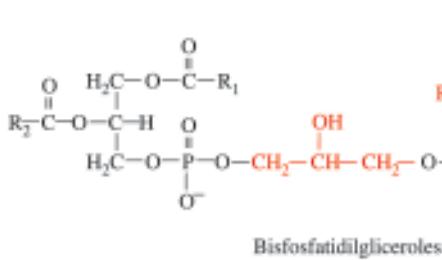


Fosfatidilinositoles

El derivado 4,5 bisfosfato de fosfoinositol (P_1P_2) es un constituyente importante de los fosfolípidos de membrana, los que por la acción de determinados agonistas hormonales se escinden, dando 1,2 diacilglicerol (DAG) y 1,4,5 trifosfato de inositol (IP_3), los cuales constituyen segundos mensajeros en la respuesta hormonal.

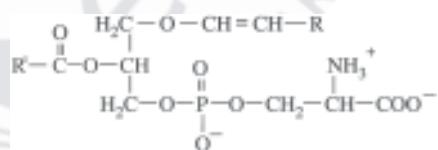


Bisfosfatidilgliceroles (cardiolipinas) y fosfatidilgliceroles. Estos compuestos tampoco poseen nitrógeno, en su estructura contienen residuos de ácidos fosfatídicos que esterifican a grupos OH del glicerol.



Plasmalógenos. Estos lípidos no se consideran derivados de los ácidos fosfatídicos, pues carecen de residuos de ácido graso en el carbono 1 (α) del glicerol, y en su lugar se une por enlace éter un aldehído enólico de cadena larga. Contienen nitrógeno, el cual puede ser aportado por la serina, la etanolamina o la colina y en cada caso toma el nombre correspondiente.

Los fosfátidos de glicerina son anfípaticos, su porción polar es la posición del carbono 3, por su grupo fosfato con carga negativa, o este unido a la base nitrogenada correspondiente o al inositol. La porción hidrofóbica corresponde al resto de la molécula de glicerol y, especialmente, los residuos hidrocarbonados unidos a los carbonos 1 y 2 del glicerol.



Plasmalógenos

Funciones de los fosfátidos de glicerina

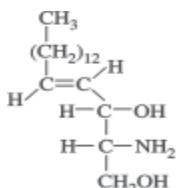
Los fosfátidos de glicerina cumplen las funciones siguientes:

1. Componentes de las membranas celulares.
2. Los ácidos fosfatídicos son precursores en la síntesis de los otros fosfátidos de glicerina y de los acilgliceroles.
3. Las lecitinas y cefalinas intervienen en los procesos de la coagulación sanguínea; por su acentuada característica anfípatica poseen efectos tensoactivos que explican su participación en los procesos respiratorios al nivel de los alvéolos pulmonares y también en el proceso digestivo de algunos lípidos.
4. Las fosfatidicolinas y los fosfatidilinositoles son donadores de ácido araquidónico para la síntesis de prostaglandinas, tromboxanos, prostaciclinas, leucotrienos y otros compuestos relacionados.
5. Dos compuestos formados a partir de un derivado del fosfatidil inositol (el 4,5 bisfosfato de fosfatidil inositol): el diacilglicerol y el trifosfato de inositol actúan como segundos mensajeros de la acción hormonal.

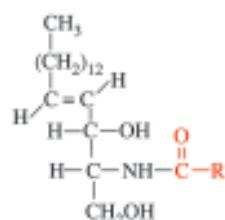
Esfingolípidos

Los esfingolípidos son lípidos complejos que contienen un alcohol nitrogenado e insaturado de 18 átomos de carbono, el esfingol o esfingosina.

Al esfingol se le une un ácido graso por enlace amida, formando la ceramida, estructura básica de estos compuestos.



Esfingosina o esfingol



Ceramidas

A la ceramida se le adicionan otros compuestos en dependencia del tipo de esfingolípido. Los esfingolípidos se clasifican en esfingomielinas y glicoesfingolípidos.

Esfingomielinas (fosfátidos de esfingosina). Estos lípidos, además de la ceramida, contienen un grupo fosfato que se une por enlace éster al hidroxilo del carbono 1 de la ceramida y también una molécula de colina esterificada al fosfato. La fuente de variación de estos compuestos radica en el ácido graso unido y como regla, son ácidos grasos superiores. La figura 13.4 muestra un modelo de la disposición espacial de este tipo de lípidos.

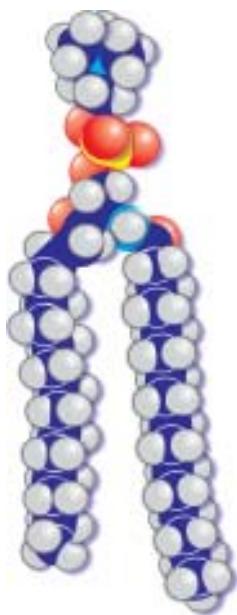
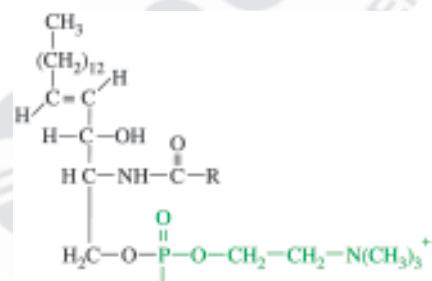


Fig. 13.4. Modelo espacial de una molécula de fosfatidil esfingosina (esfingomielina).



Fosfátidos de esfingosina
(esfingomielinas)

Con frecuencia se designan como fosfolípidos a los fosfátidos de glicerina y las esfingomielinas, por ser estos los únicos lípidos que contienen fósforo.

Glicoesfingolípidos. Estos compuestos, conocidos también como glicolípidos, carecen de grupo fosfato en el carbono 1 de la ceramida, y en su lugar se le une un glúcido que puede ser un monosacárido u oligosacárido. De acuerdo con el tipo de glúcido que contengan los glicoesfingolípidos pueden ser cerebrósidos, gangliósidos o sulfolípidos.

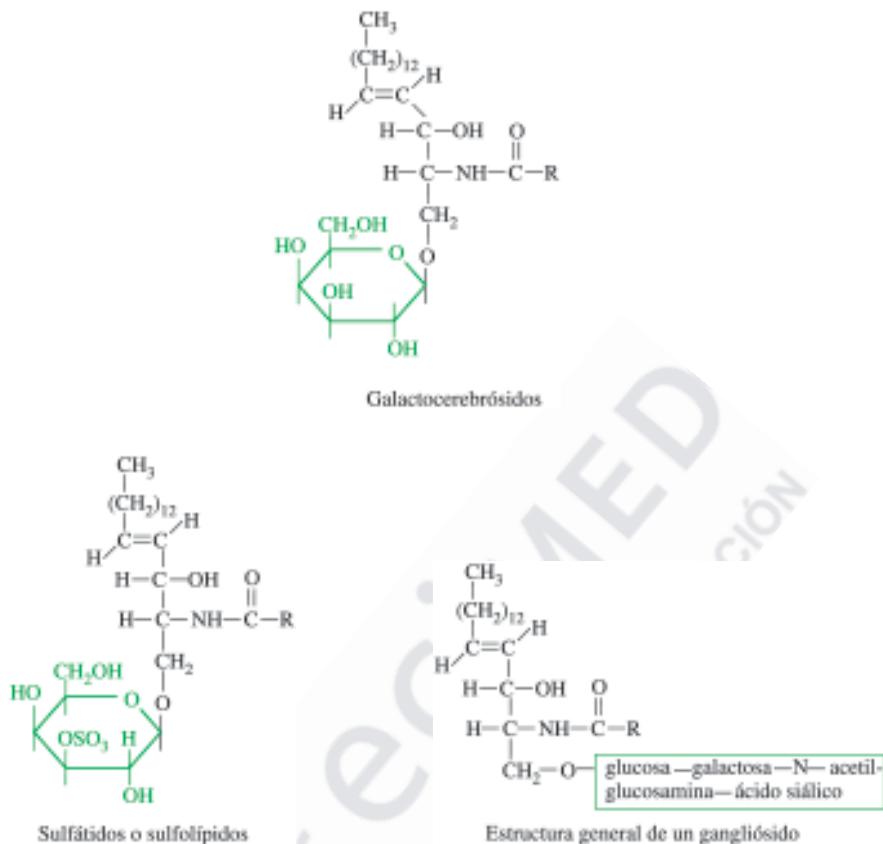
Cerebrósidos. Son cerebrósidos si el monosacárido unido a la ceramida es la D galactosa (galactocerebrósido) o la D glucosa (glucocerebrósido).

Sulfátidos o sulfolípidos. Constituyen derivados de los cerebrósidos, a los que se les ha añadido un grupo sulfato al carbono 3 del monosacárido.

Gangliósidos. Son esfingolípidos que contienen oligosacáridos como residuo glucídico. El oligosacárido está formado por diversos monosacáridos y un derivado del ácido N-acetilneuramínico o ácido siálico.

Los esfingolípidos son anfipáticos, su porción polar se encuentra en los sustitutos del carbono 1 de la ceramida (grupo fosfato y colina en las esfingomielinas y los glúcidos en

los glicoesfingolípidos), en tanto que su porción apolar la conforman las cadenas hidrocarbonadas del ácido graso y el esfingol. Los glicoesfingolípidos son los lípidos más solubles en agua, debido a su contenido glucídico.



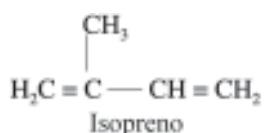
Funciones de los esfingolípidos

Entre las funciones más importantes de los esfingolípidos se encuentran:

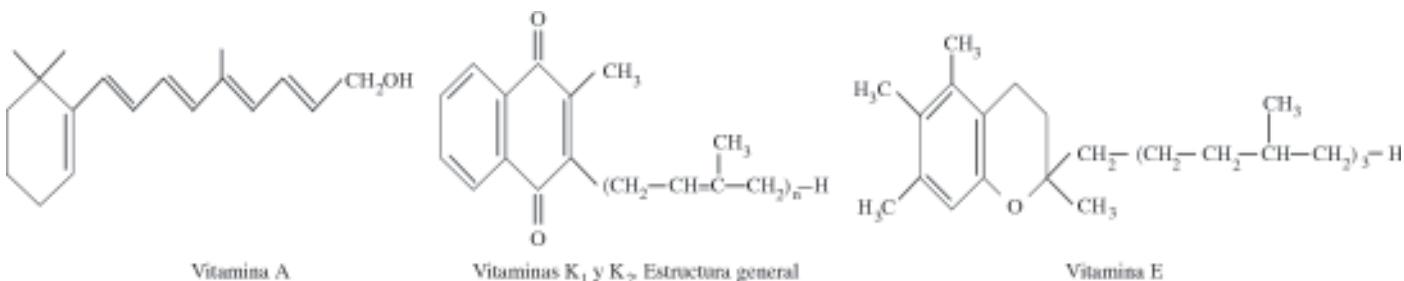
1. Formar parte de la estructura de las membranas biológicas. Se encuentran en grandes cantidades en la sustancia blanca del sistema nervioso central.
2. Las esfingomielinas son componentes de las vainas mielínicas de los nervios.
3. Algunos glicoesfingolípidos por su carácter informacional le confieren acción antigénica a la superficie de algunas células, lo que contribuye al reconocimiento molecular de estas.
4. Los cerebrósidos y los sulfátidos forman parte de tejidos como el cerebro, nervios, bazo y riñones, entre otros.
5. Los gangliósidos aparecen en las células ganglionares del cerebro y de tejidos no nerviosos.
6. Se les atribuye participación en la transmisión del impulso nervioso.

Terpenos

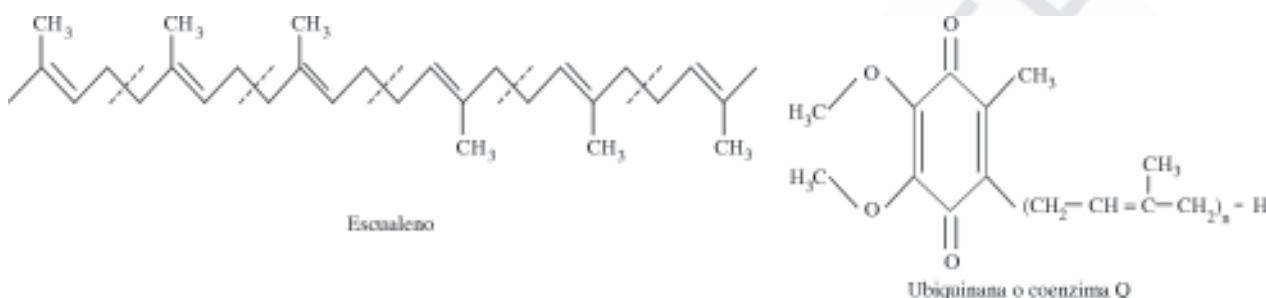
Los terpenos son lípidos isoprenoides, constituidos por unidades de isopreno (2 metil 1,3 butadieno):



Los terpenos son compuestos heterogéneos, no saponificables, en su mayoría de origen vegetal, y contienen en su estructura varias unidades de isopreno, son ejemplos importantes de este grupo las vitaminas A (retinol), K (naftoquinonas antihemorrágicas) y E (tocoferoles).

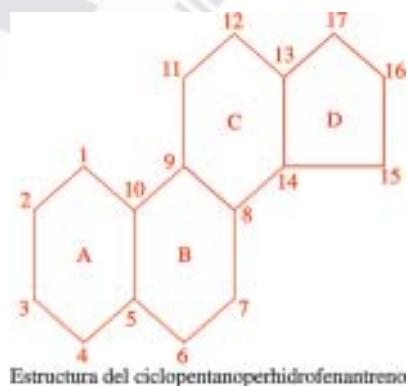


Son terpenos también la coenzima Q o ubiquinona (componente de la cadena respiratoria) y el escualeno, intermediario en la síntesis del colesterol.



Esteroides

La característica estructural más sobresaliente de los esteroides y que es común a todos estos, es la presencia del sistema policíclico, denominado ciclopentanoperhidrofenantreno.

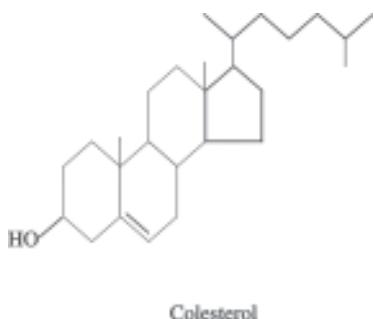


De acuerdo con la cadena lateral unida al carbono 17 y a diferentes sustituyentes e insaturaciones se forman los distintos esteroides. Muchos de los esteroides poseen grupos metilos en las posiciones 10 y 13, constituyendo el esterano.

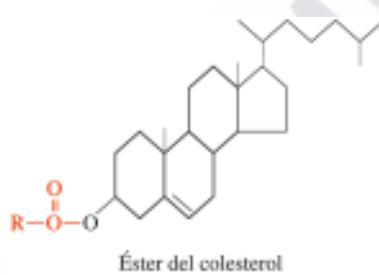
Los esteroides se pueden agrupar en: esteroles, ácidos biliares, corticosteroides y progesterona, andrógenos y estrógenos.

Esteroles. En estos compuestos la cadena lateral unida al carbono 17 puede contener siete, ocho o nueve átomos de carbono y por ello, se originan los esteroides C₂₆, C₂₇ y C₂₈, respectivamente; poseen, además, un grupo hidroxilo en la posición tres. Entre

estos tipos de lípidos se encuentra el colesterol, que tiene gran importancia biológica y médica. Es un lípido de membrana, precursor del resto de los esteroides, y su incremento en sangre se ha relacionado con la aparición de aterosclerosis. En la figura 13.5 se presenta el modelo espacial de la molécula de colesterol.



La molécula de colesterol es anfipática, ya que su porción polar la constituye el grupo OH y la apolar la conforma el resto de la molécula. Cuando al OH del colesterol se le une por enlace éster un ácido graso, se forma un éster de colesterol. Estos compuestos constituyen ceras y carecen de carácter anfipático.



Las vitaminas D son derivados importantes de los esteroles, a partir del 7 deshidrocolesterol se forma la vitamina D₃; la D₂ se deriva del ergosterol (esterol de origen vegetal).

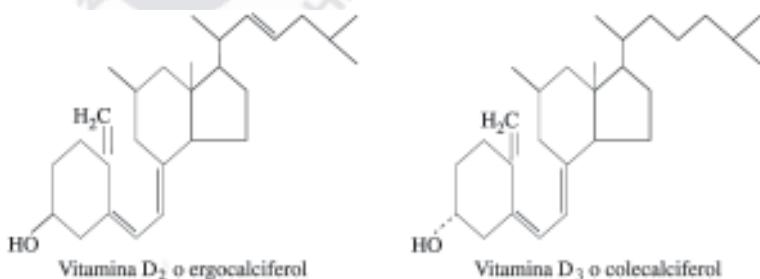
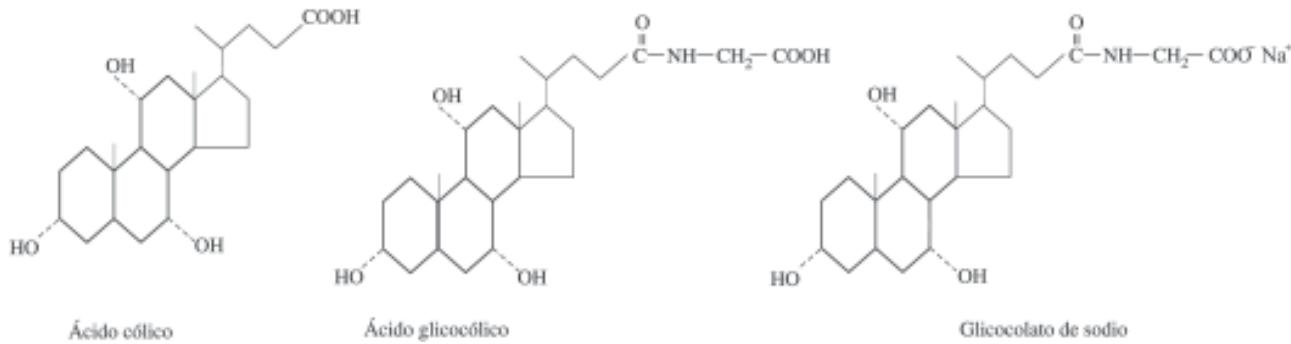
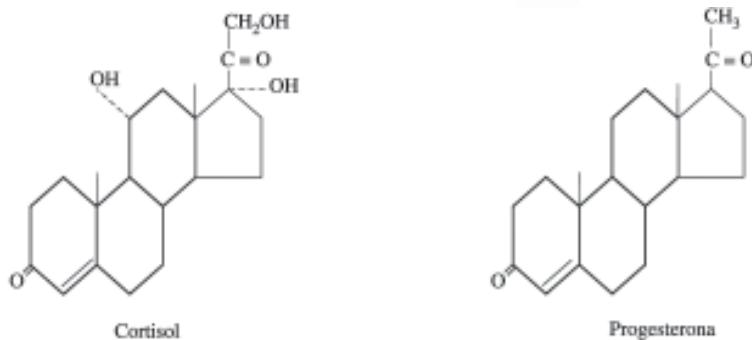


Fig. 13.5. Modelo espacial de una molécula de colesterol.

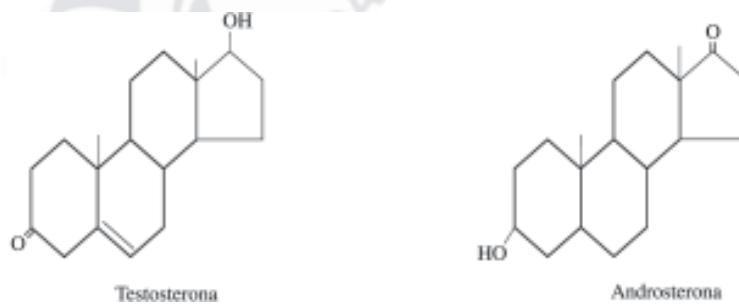
Ácidos biliares. La cadena hidrocarbonada, unida al carbono 17 del ciclopentano-perhidrofenantreno en este tipo de esteroides, posee cinco átomos de carbono, incluyendo un grupo carboxilo, por ello son esteroides C₂₄; presentan, además, grupos OH. Los ácidos biliares son varios (cólico, desoxicólico, etc.) y se diferencian por la ubicación y disposición de los grupos OH. Estos compuestos se encuentran en la bilis, conjugados con los aminoácidos glicina y taurina, constituyendo sales de sodio y potasio (sales biliares). Las sales biliares poseen acción detergente y desempeñan una función importante en la digestión y absorción de los lípidos, como se estudiará en el capítulo correspondiente; un ejemplo de estas es la sal sódica del glicocolato, que es el producto de la conjugación del ácido cólico con la glicina.



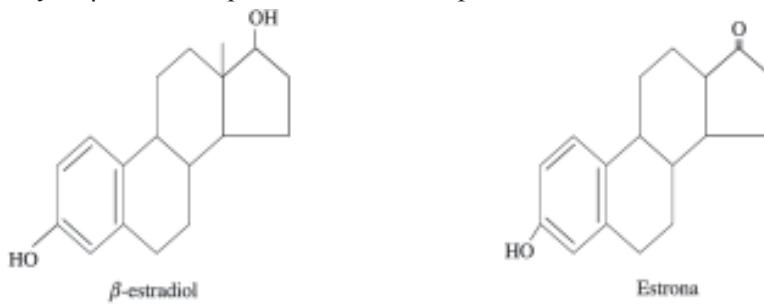
Corticosteroides y progesterona. Son esteroides C₂₁, pues en posición 17 contienen solo dos átomos de carbono. En este grupo se incluyen las hormonas suprarrenales cortisol, corticosterona y aldosterona, etc., y la progesterona del cuerpo lúteo del ovario, como ejemplo de este grupo se presenta la estructura del cortisol y la progesterona.



Andrógenos. Los andrógenos constituyen las hormonas sexuales masculinas y son producidas por los testículos. Estos compuestos carecen de cadena carbonada en la posición 17, por lo que son esteroides C₁₉. A continuación se presentan las estructuras de la androsterona y la testosterona como ejemplos.



Estrógenos. En estos compuestos el anillo A de ciclopentanoperhidrofenantreno posee carácter aromático y por tanto, no hay metilo en la posición 10, carecen además de cadena hidrocarbonada en el carbono 17, por ello son los esteroides C₁₈. Los estrógenos constituyen las hormonas sexuales femeninas y son producidas por el ovario; la estrona y el β-estradiol pertenecen a este tipo de esteroides.



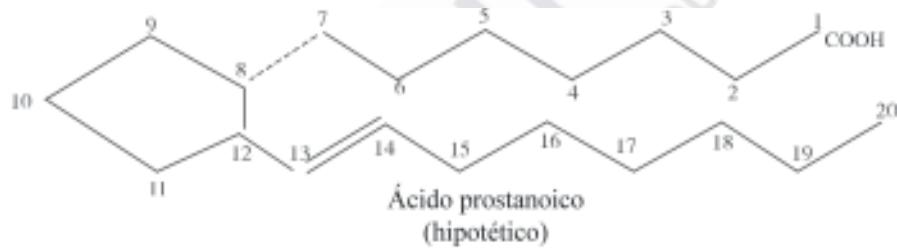
Icosanoides

Los icosanoides son ácidos grasos derivados de los icosapolienoicos (C_{20}). Los icosanoides (que se deriva del griego *eikosi*, que significa veinte) comprenden dos grupos de compuestos: los prostanoides y los leucotrienos (LT).

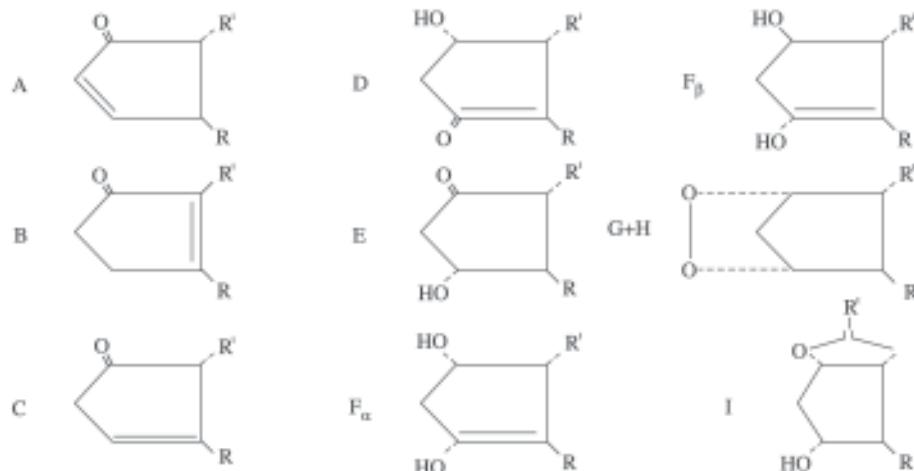
Los prostanoides incluyen a las prostaglandinas (PG), las prostacilinas (PGI) y los tromboxanos (TX), estos compuestos tienen importantes efectos fisiológicos y farmacológicos, actúan en bajas concentraciones y en muchos casos mediante el cAMP como segundo mensajero, por lo que su acción es de tipo hormonal, aunque actúan localmente y no a distancia.

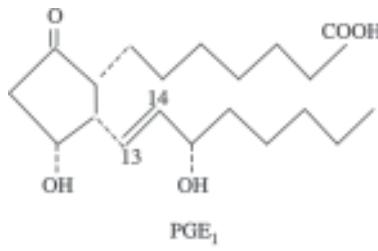
Las prostaglandinas fueron aisladas por primera vez del semen humano y se consideró que eran formadas específicamente por la glándula prostática, de donde deriva su nombre, el que se mantiene a pesar de que se forman en casi todos los tejidos de los mamíferos, con excepción de los glóbulos rojos. Las prostacilinas y los tromboxanos son compuestos relacionados con las prostaglandinas.

Los tromboxanos tienen también un anillo, pero en este caso contiene cinco carbonos y un átomo de oxígeno (anillo oxano). Las prostaglandinas y los tromboxanos se forman a partir de tres ácidos icosanoicos diferentes, que se caracterizan por el número de sus dobles enlaces. Las prostaglandinas se pueden considerar que estructuralmente derivan del ácido prostanoico (hipotético).

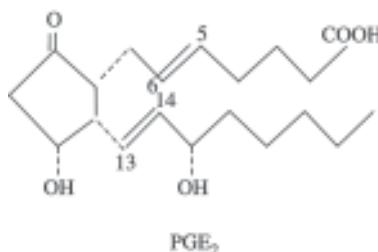


La estructura de las prostaglandinas y demás prostanoides varía según sustituciones e insaturaciones, tanto en el anillo como en la cadena. Las letras en su nombre se refieren al tipo de anillo. La notación de α para las F prostaglandinas se refiere a que el OH del carbono 9 se dispone debajo del plano del anillo; se debe destacar que las prostaglandinas F naturales son isómeros α .

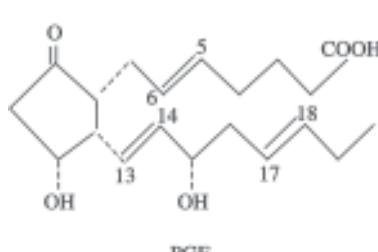




El número en el nombre de estos compuestos indica la cantidad de dobles enlaces y su disposición esteroquímica en la cadena lateral. El 1 significa un doble enlace en disposición trans entre los carbonos 13 y 14, derivan del ácido 8, 10, 12, 14 icosatrienoico (ácido dihomo- γ -linoleico); el 2 indica la existencia de un doble enlace adicional de tipo cis entre C5 y C6, se forman a partir del ácido araquidónico; por último el número 3 significa la presencia de un tercer doble enlace en la cadena lateral (cis), entre los carbonos 17 y 18, su precursor es el ácido 5, 8, 10, 12, 14, 17 icosapentaenoico (EPA). En los seres humanos el precursor más importante de las prostaglandinas es el ácido araquidónico (serie $\omega 6$).

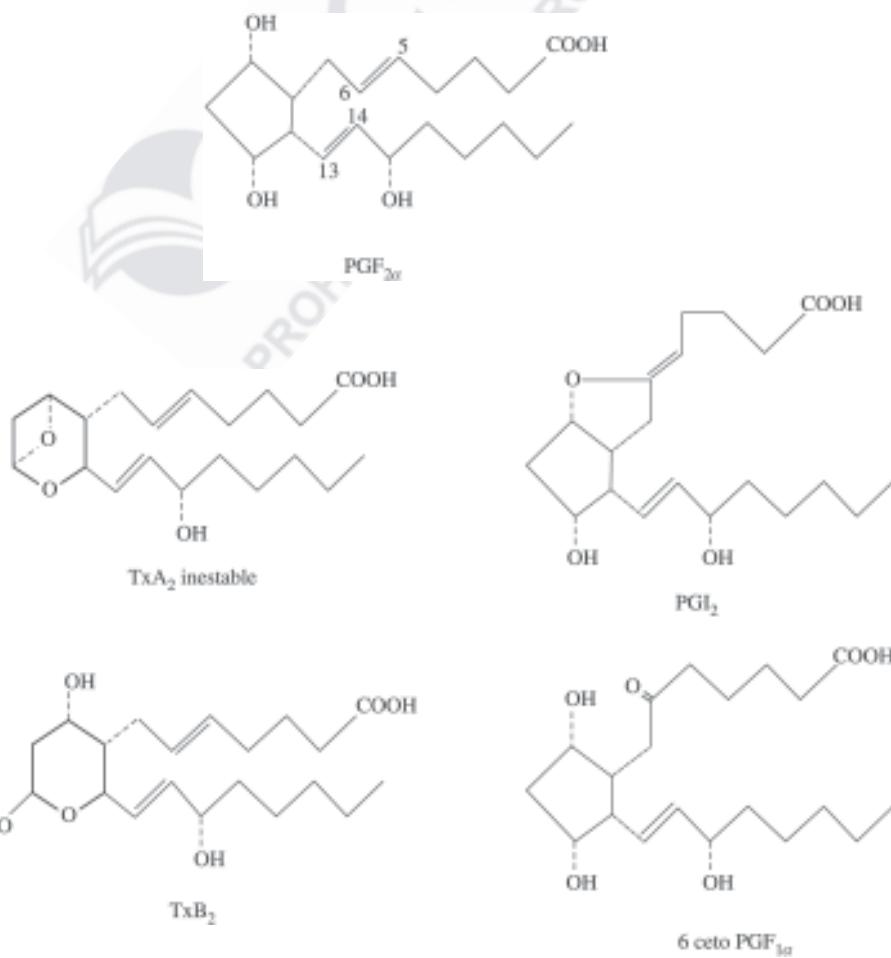


En dependencia de los tejidos, así será el tipo de prostanoide formado: en riñón y bazo, PGE₂ y PGF_{2 α} ; en los vasos sanguíneos, PGI₂; en el corazón PGE₂, PGF_{2 α} y PGI₂, y en las plaquetas, el tromboxano A2 (TXA₂).



Las prostaglandinas tienen diversas acciones como: agentes que inducen reacciones inflamatorias en los tejidos (PGE₂ y PG₁), así como participan en la intensidad y duración de las sensaciones dolorosas (PGE₂). Las acciones farmacológicas de la aspirina, la fenilbutazona y los corticoides están relacionadas con su correspondiente inhibición a la síntesis de las prostaglandinas. También se conoce que algunas de estas intervienen en el trabajo de parto y pueden interrumpir el embarazo (PGE₂ y PGF_{2 α}). Las PGE, PGA y PGI₂ tienen efecto vasodilatador, otras inhiben la secreción ácida del jugo gástrico, por lo que han sido empleadas en el tratamiento de la úlcera péptica. Las prostaglandinas PGE₂ y PGF_{2 α} son de las más importantes en el ser humano.

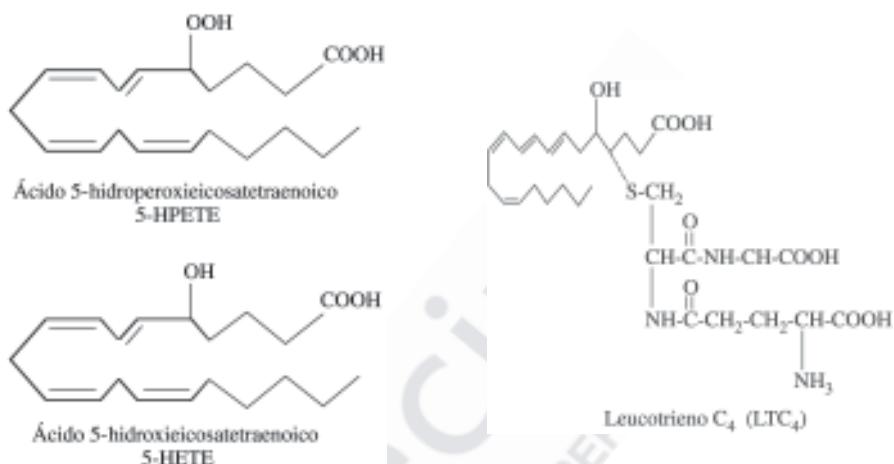
La PGI₂ (prostaciclin PI₂) inhibe la agregación plaquetaria. Las células endoteliales de los vasos sanguíneos liberan PGI₂.



Los tromboxanos son los metabolitos activos de los endoperóxidos de las prostaglandinas PGG₂ y PGH₂. Como se señaló previamente el anillo de pentano es reemplazado por el de oxano. Su nombre deriva de que dichos compuestos poseen una acción trombogénica potente. El TXA₂ es inestable y se transforma rápidamente en el TXB₂.

Los HPETE (ácidos hidroperoxiicosatetraenoicos) se forman por la oxidación del ácido araquidónico y, en dependencia de la ubicación del grupo OH, pueden ser 5-HPETE, 12-HPETE o 15-HPETE, estos a su vez son los precursores de los ácidos hidroxiicosatetraenoicos 5-HETE, 12-HETE y 15-HETE, respectivamente.

Los leucotrienos son hormonas que se forman a partir de los HPETE. Los leucotrienos LTB₄, LTC₄, LTD₄ y LTE₄ derivan del 5-HPETE a través del intermediario LTA₄. El



LTB₄ y los HETES (especialmente el 5-HETE) participan en la regulación de la función de los neutrófilos y eosinófilos, estimulan la adenilato ciclase e inducen la degranulación de los polimorfonucleares y la liberación de enzimas lisosomales. Los leucotrienos TC₄ y LTD₄ son sustancias humorales que provocan la contracción de la musculatura lisa, constrictión de las vías aéreas, tráquea e intestino y modificaciones de la permeabilidad capilar (edemas).

Resumen

Los lípidos son biomoléculas heterogéneas desde el punto de vista estructural y funcional, de escasa solubilidad en agua y solubles en solventes apolares. Un rasgo que se debe destacar es que muchos de estos poseen ácidos grasos en su constitución (lípidos saponificables), aunque otros no los poseen (lípidos no saponificables). Los lípidos se definen como la fracción del material biológico extraíble por medio de los solventes orgánicos.

Los lípidos se clasifican en ácidos grasos, ceras, acilgliceroles, fosfátidos de glicerina, esfingolípidos, terpenos y esteroides.

Los ácidos grasos son compuestos monocarboxílicos con cadena hidrocarbonada de longitud variable; pueden ser saturados, insaturados y sustituidos. Las propiedades físicas dependen de la longitud de la cadena hidrocarbonada y del grado de insaturación.

Los acilgliceroles son lípidos neutros y apolares constituidos por glicerol y ácidos grasos. En dependencia del número de ácidos grasos esterificados al glicerol se dividen en

monoacilgliceroles, diacilgliceroles y triacilgliceroles, estos últimos constituyen el mayor reservorio de energía para el ser humano y es el lípido más abundante de la dieta.

Los fosfátidos de glicerina poseen como estructura básica el ácido fosfatídico, el cual se une a residuos nitrogenados o alcohólicos para originar fosfatidil serina, fosfatidil etanolamina, fosfatidil colina o fosfatidil inositol, entre otros. Los esfingolípidos presentan el alcohol esfingolípido, al cual se une por enlace amida un ácido graso, constituyendo la ceramida. La unión a la ceramida de un grupo fosfato y colina, o de glúcidos, da lugar a las esfingomielinas o a los glicoesfingolípidos, respectivamente. Tanto los fosfátidos de glicerina como las esfingomielinas son anfipáticos y forman parte de las membranas biológicas.

Un grupo numeroso de lípidos no saponificables, los terpenos, son lípidos isoprenoides que incluyen varias vitaminas liposolubles. Los esteroides son también lípidos isoprenoides y contienen como estructura básica el ciclopentanoperhidrofenantreno. Un representante importante de los esteroides es el colesterol, de origen animal, lípido que forma parte de las membranas plasmáticas; es precursor del resto de los esteroides y su elevada concentración en sangre está relacionada con la aparición de aterosclerosis; son también lípidos esteroides los ácidos biliares, los corticoides y las hormonas sexuales masculinas y femeninas.

A partir de ácidos grasos poliinsaturados de 20 átomos de carbono (icosanoicos) se forman compuestos que presentan actividades fisiológica y farmacológica importantes: prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos, entre otros.

Ejercicios

1. Mencione los grupos en que se suelen clasificar los lípidos por su similitud estructural
Para cada grupo diga si son saponificables o no y fundamente su respuesta.
2. Describa las características estructurales de los ácidos grasos saturados e insaturados y compárelos atendiendo a sus propiedades físicas y químicas.
3. Describa la estructura de los triacilgliceroles y mencione sus funciones.
4. ¿Cuál es la estructura básica de la mayoría de los fosfátidos de glicerina? Describala.
5. ¿Cómo se clasifican los fosfátidos de glicerina?
6. Cite las principales funciones de los fosfátidos de glicerina.
7. Describa la estructura de la ceramida.
8. Clasifique los esfingolípidos y mencione las funciones principales de este tipo de lípidos.
9. ¿Por qué a los terpenos se les conoce como lípidos isoprenoides?
10. Cite tres ejemplos de terpenos.
11. ¿Qué tipo de lípido es el colesterol? Subclasiéelo dentro de su grupo y fundamente esta subclasiificación, según sus características estructurales.
12. ¿Qué características debe poseer un lípido para ser anfipático? De todos los tipos de lípidos estudiados diga cuáles son anfipáticos y fundamente estructuralmente su respuesta.
13. Fundamente la importancia biológica de los ácidos icosapolienoicos.
14. ¿Qué son las prostaglandinas y cuáles son algunas de sus funciones?
15. Describa las características estructurales de los tromboxanos y diga cuál es su función.
16. ¿De cuáles compuestos derivan los leucotrienos y cuáles son sus funciones?

Resumen de la sección

Las biomoléculas constituyen la forma de organización molecular básica de la materia viva; tienen una composición elemental muy simple con evidente predominio de los átomos de carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno, algo menos de fósforo y azufre, además de otros elementos que se encuentran en menor cuantía. Los átomos se unen en su mayoría por enlaces covalentes, lo que origina gran variedad de moléculas, a las que corresponden también múltiples funciones.

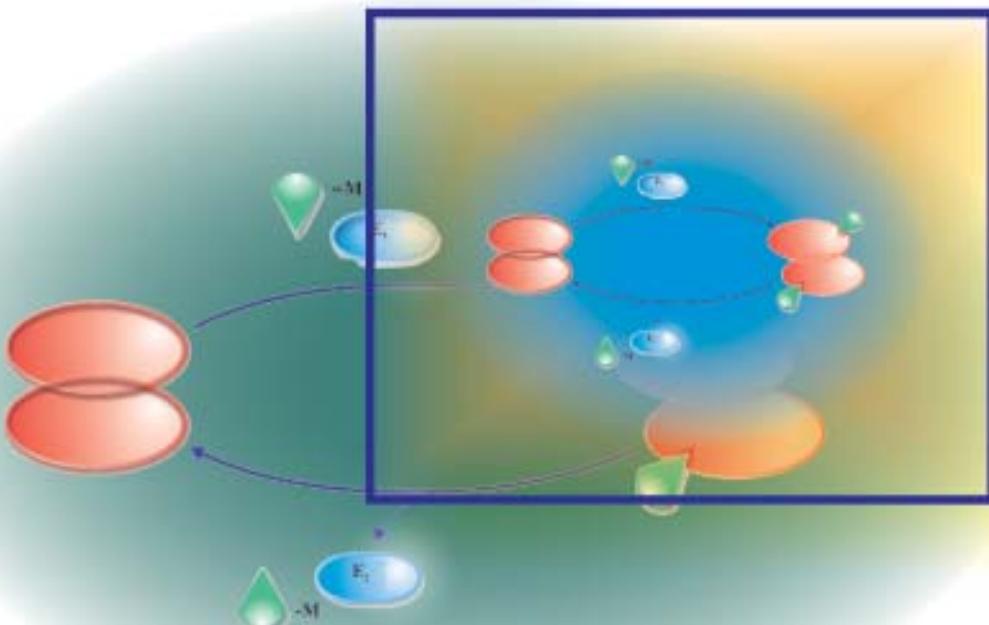
Las biomoléculas pueden ser simples y de relativo bajo peso molecular o macromoléculas de muy elevado peso molecular formadas por la polimerización de algún tipo de biomolécula simple. Las unidades monoméricas se unen mediante enlaces covalentes para formar las estructuras básicas de los biopolímeros. Las macromoléculas biológicas son los polisacáridos, los ácidos nucleicos y las proteínas, que a su vez son polímeros de monosacáridos, nucleótidos y aminoácidos, respectivamente.

Las secuencias de los monómeros (o precursores) en los biopolímeros les confiere un carácter informacional específico, el cual está determinado por la identidad y el orden en que aquellos se disponen en las cadenas poliméricas. Esta información secuencial determina la disposición tridimensional que adoptan las macromoléculas.

Los biopolímeros difieren en el tipo de carácter informacional que predomina en estos. Muchos polisacáridos (los homopolisacáridos) con monotonía estructural poseen muy poco carácter informacional, su estructura tridimensional es simple y su función es poco compleja (reserva energética y estructural); sin embargo, otros polisacáridos (heteropolisacáridos) en los que la secuencia de sus precursores no es monótona, son biomoléculas informacionales y en no pocos casos les confieren carácter antigénico a las estructuras de las que forman parte. En los ácidos nucleicos, aunque también poseen carácter informacional conformacional y secuencial, este carácter viene dado por la diversidad de sus precursores, específicamente por las bases nitrogenadas que constituyen la porción variable en las cadenas polinucleotídicas; la estructura tridimensional mucho más compleja de estas macromoléculas está relacionada con dichas características y es el fundamento de su función.

Las proteínas son los biopolímeros que exhiben una mayor diversidad de sus monómeros constituyentes, su estructura tridimensional es extraordinariamente variada y compleja, poseen el mayor grado de carácter informacional con predominio conformacional, aunque por supuesto incluye al carácter secuencial; estas macromoléculas, como consecuencia, presentan múltiples y variadas funciones relacionadas con su elevado grado de variabilidad en la estructura tridimensional que ellas presentan.

Los lípidos, moléculas muy heterogéneas desde el punto de vista estructural, son componentes fundamentales de los organismos vivos. Los lípidos complejos no constituyen macromoléculas, pero sí son biomoléculas de un elevado grado de complejidad. Estas biomoléculas presentan muy amplias y variadas funciones, que van desde componentes estructurales, fuente y almacenamiento de energía, hasta acción hormonal y vitamínica, entre otras.



SECCIÓN III

BIOCATALIZADORES

Introducción a la sección

Entre todas las macromoléculas, las proteínas son las que exhiben mayor versatilidad; una de sus múltiples funciones es actuar como agentes catalíticos en los seres vivos. Esta tercera sección está dedicada al estudio de las proteínas con actividad catalítica, o sea, las enzimas; también se estudian otros compuestos de bajo peso molecular, que en muchas reacciones actúan junto con las enzimas en la catálisis de las reacciones metabólicas y reciben el nombre de cofactores. En conjunto, enzimas y cofactores se agrupan bajo el nombre de sistemas biocatalíticos, que son el componente activo del complejo proceso del metabolismo celular; su estudio comprende tanto aspectos de tipo estructural como funcional. También se requiere del conocimiento de propiedades características de estos, que permitirán comprender mejor todo el complejo proceso del funcionamiento celular.

Una comprensión adecuada del tema requiere del conocimiento de aspectos relacionados con las reacciones químicas, principalmente con la cinética, y los cambios energéticos que se producen en estas; es por eso que el capítulo 14 se dedica a revisar estos aspectos fundamentales.

El aspecto esencial que diferencia a las enzimas del resto de las proteínas es la existencia del centro activo. La teoría del centro activo es el contenido del capítulo 15, donde no solo se analizan la estructura y el funcionamiento de este importante sitio, sino además, cómo sus propiedades influyen de forma

determinante en las propiedades generales de las enzimas. El estudio del centro activo de la quimotripsina tiene el objetivo de mostrar con un ejemplo real, los principales conceptos tratados en el capítulo; este termina con la clasificación y nomenclatura de las enzimas que vienen a ser algo así como el lenguaje del metabolismo.

El capítulo 16 se dedica al estudio de la cinética enzimática, que constituye uno de los temas centrales de la enzimología; en este se estudia el comportamiento de la velocidad de las reacciones catalizadas por las enzimas y la influencia que sobre estas ejercen diferentes factores, como los inhibidores enzimáticos cuyo uso con fines humanitarios o criminales es de particular importancia para los estudiantes de las ciencias médicas.

Los seres vivos están expuestos constantemente a cambios en las condiciones del medio natural, fuera de ellos; para sobrevivir deben ser capaces de adaptarse a esos cambios, en última instancia esa adaptación se garantiza por cambios en la intensidad y dirección de las reacciones catalizadas por enzimas. Los cambios que experimenta la velocidad de las reacciones enzimáticas y que permiten a los seres vivos adaptarse a las situaciones cambiantes del medio natural que les rodea, constituyen el objetivo de estudio de la regulación enzimática, que se trata en el capítulo 17. En este se estudian los principales mecanismos de regulación, así como los modelos propuestos para explicarlos y se emplean ejemplos demostrativos que esclarecen las ideas que allí se tratan; también se estudian las isoenzimas.

El número tan elevado de enzimas en una célula y el hecho de que deben funcionar simultáneamente obliga a adoptar formas peculiares de su organización, tanto en el organismo como un todo, como en la célula y las estructuras subcelulares. La forma en que las enzimas se organizan, de manera que puedan realizar las miles de reacciones químicas que conforman el metabolismo, con un elevado grado de especificidad y eficiencia, es el contenido del capítulo 18.

Por último, el capítulo 19 comprende el estudio sistemático de los principales cofactores enzimáticos, insistiendo en la relación entre la estructura y la función de estos importantes componentes de los sistemas biocatalíticos.

En toda la sección se exemplifican los principios generales de la bioquímica, como un importante instrumento cognoscitivo que el lector puede aprovechar para la comprensión de los contenidos. Los ejercicios que se proponen al final de cada uno de los capítulos permitirán aplicar los aspectos teóricos tratados en el texto. Siempre que ha sido posible, se presenta la vinculación de estos temas con la práctica médica.

Capítulo
14

Reacciones químicas y catalizadores

Los organismos vivos para mantener su estado tienen que intercambiar sustancia, energía e información con el medio natural que los rodea; la información puede entrar al organismo por diversas vías a través de los órganos de los sentidos; la energía, sin embargo, penetra con las sustancias, es básicamente energía química de los enlaces entre los átomos que componen las diferentes sustancias que se introducen en el organismo en forma de alimentos.

Las sustancias que penetran en un organismo experimentan transformaciones que les van a permitir realizar dos grandes funciones: convertirse en estructuras propias de ese organismo, ya sean celulares o extracelulares, o brindar energía utilizable por la célula en sus múltiples funciones.

Los componentes moleculares de las células y de la sustancia intercelular están sometidos a una renovación permanente; en este proceso de recambio continuo las estructuras existentes son degradadas en sustancias más simples, que en última instancia son eliminadas del organismo y sustituidas por moléculas nuevas que se obtienen a partir de la transformación de los nutrientes. El conjunto de todas esas reacciones de degradación y síntesis de sustancia que ocurre en los organismos vivos recibe el nombre de metabolismo.

Todas esas transformaciones químicas que ocurren en el organismo presentan las mismas regularidades en su realización que cualquier reacción química que se desarrolle en la industria o en el laboratorio, lo cual equivale a decir que están sujetas a las mismas leyes generales, también están sujetas a leyes específicas derivadas del movimiento biológico de la materia. Desde este punto de vista una minúscula célula es como un gigantesco tubo de ensayo, donde se desarrollan simultáneamente miles de reacciones.

Para una comprensión adecuada del metabolismo celular es necesario tener presente esas leyes y aplicarlas de manera consecuente en su estudio. Al mismo tiempo resulta imprescindible tener en cuenta algunas singularidades propias del nivel de desarrollo de la materia, alcanzado en los seres vivos. Una adecuada comprensión de los vínculos entre lo general y lo singular será un instrumento cognoscitivo valioso en la asimilación de los fenómenos metabólicos.

En este capítulo se hará una somera revisión de los principales conceptos de cinética y termodinámica química, relacionadas directamente con el funcionamiento de los biocatalizadores.

Reacciones químicas

Las reacciones químicas se caracterizan por la formación de unas sustancias a partir de otras.

Cuando una o más sustancias químicas se colocan en condiciones que provocan una transformación que da como resultado la aparición de una nueva sustancia, decimos que se ha producido una reacción química. De acuerdo con el principio de conservación de la materia, esta no puede ser creada ni destruida, por lo que en las reacciones químicas solo sucede un reordenamiento o reagrupamiento de los elementos que constituyen las sustancias reaccionantes, que de esa manera dan origen a una nueva sustancia.

En general las sustancias están formadas por moléculas y estas a su vez por átomos que se mantienen unidos, debido a la existencia de enlaces químicos entre ellos; se deduce que estos reordenamientos solo son posibles gracias a la ruptura y formación de enlaces químicos. Por ejemplo, examinemos la reacción de hidrólisis de la glucosa-6-fosfato(Fig.14.1).

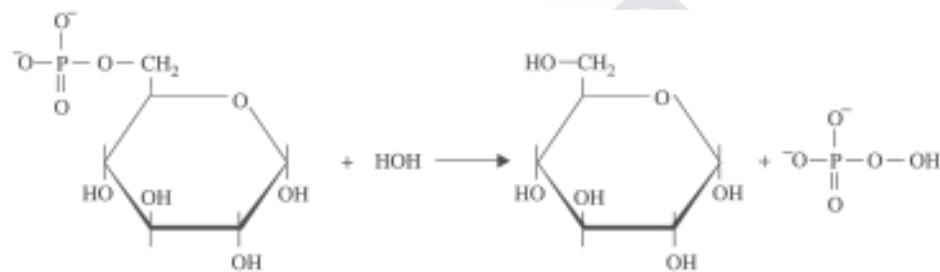


Fig. 14.1. Hidrólisis de la glucosa-6-fosfato. Para producirse la hidrólisis de la glucosa-6-fosfato se requiere la ruptura de enlaces tanto en la glucosa-6-fosfato como en el agua y después la formación de enlaces entre los elementos del agua y los demás grupos.

El número de elementos en ambos lados de la reacción es el mismo, solo que ahora un grupo OH del agua pasó a la estructura del fosfato, en tanto, el átomo de H pasó a la estructura de la glucosa, para ello fue necesario la ruptura del enlace éster entre la glucosa y el grupo fosfato, así como entre el H y el OH del agua, y la formación de enlace entre el OH y el fosfato, así como el H con la glucosa. Los elementos químicos que aparecen representados a la derecha han sido reagrupados de manera diferente de como estaban en los compuestos reaccionantes, los que dieron origen a dos sustancias nuevas, denominadas productos.

Este reordenamiento de los átomos comporta variaciones en el contenido energético del sistema de reacción que determinan si la reacción puede o no ocurrir.

En el estudio de cualquier reacción química debemos considerar dos aspectos fundamentales: el primero, se refiere a la rapidez con que los reactantes se convierten en productos, o sea, la velocidad de la reacción; el segundo, a la proporción de los reactantes que puede ser convertida en producto, esto es, el grado de completamiento o alcance de la reacción. El conocimiento de estos dos aspectos es de suma importancia para predecir el curso de una reacción y poder aplicarla con fines prácticos, así como modificarla según nuestra conveniencia. Ambos aspectos están relacionados con la enegética de las reacciones, por lo que es conveniente revisar este aspecto.

Energética de las reacciones químicas

Todas las reacciones químicas transcurren con un intercambio de energía entre la reacción y su entorno.

Toda reacción química, en principio, va acompañada de un cambio en el contenido energético del sistema reaccionante, este cambio determina tanto la dirección como la velocidad y el alcance de las reacciones.

La energía puede definirse como la capacidad de un sistema para realizar trabajo. Las células también realizan trabajo, lo que requiere energía. Cuando sintetizan compuestos químicos, como la glucosa durante la fotosíntesis, el ADN durante la replicación, etc., realizan trabajo químico; efectúan trabajo mecánico cuando producen la contracción de sus filamentos, etc.; ejecutan trabajo osmótico cuando generan y mantienen gradientes de concentración de sustancias a través de sus membranas. Existen dos clases principales de energía, la cinética y la potencial: la primera es la energía del movimiento –de un motor o de las moléculas– que en este último caso le llamamos calor y la medimos de forma indirecta por la temperatura; para que el calor realice trabajo tiene que fluir de un sitio de mayor temperatura a otro de menor temperatura. Aunque generalmente existen diferencias de temperatura entre las células y su entorno, estas no utilizan esa diferencia para realizar trabajo; es más, los organismos superiores han desarrollado, de manera evolutiva, mecanismos de regulación que le permiten mantener constante la temperatura corporal.

El tipo de energía con la cual nos enfrentamos cuando estudiamos fenómenos químicos o biológicos es potencial o de almacenamiento. Los átomos y las moléculas poseen energía potencial, en virtud de la cual pueden intervenir en reacciones que liberan esa energía, y se manifiesta en su habilidad para formar o romper enlaces químicos, por ejemplo, la glucosa posee una gran energía potencial que la célula degrada constantemente, y la energía que se libera al romperse sus enlaces químicos es utilizada en la realización de numerosos tipos de trabajo (Fig. 14.2). El glucógeno, que es la forma que tiene la célula para almacenar glucosa, representa de esta manera energía potencial acumulada.

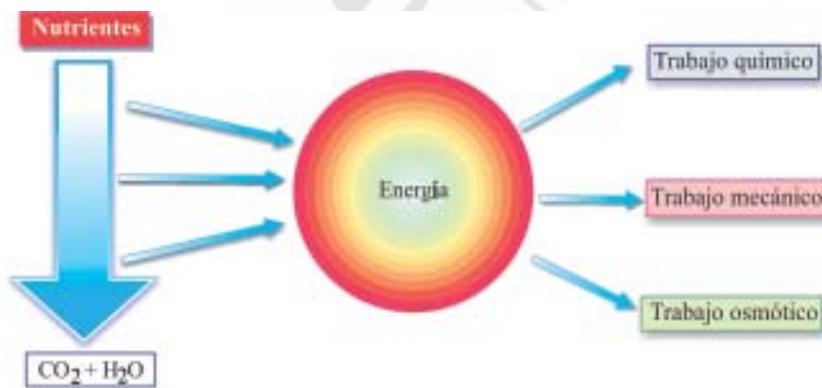


Fig. 14.2. Ciclo de la energía en los seres vivos. Los seres vivos obtienen la energía principalmente por la oxidación de los nutrientes ingeridos hasta CO_2 y H_2O y con esa energía realizan distintos tipos de trabajo, como el químico en la síntesis de las macromoléculas, el mecánico en la contracción muscular y el osmótico en la generación de gradientes de concentración.

La energía puede existir en muchas formas, todas estas interconvertibles

La energía existe en muchas formas: calórica, eléctrica, radiante y química. Todas las formas de energía –tanto en los objetos inanimados como en los seres vivos– son interconvertibles, como queda expresado en el primer principio de la termodinámica, cuando enuncia que la energía no puede ser creada ni destruida. Durante la fotosíntesis la energía radiante de la luz solar se transforma en energía potencial en los enlaces químicos de la glucosa, que en los músculos y los nervios puede transformarse en energía mecánica o eléctrica respectivamente.

Otra forma de energía potencial con la que nos encontraremos en este texto es el gradiente de concentración. Cuando una sustancia está en una concentración de un lado

de una membrana y en otra concentración del otro lado, se origina un gradiente de concentración. Todas las células construyen gradientes de concentración, debido a la incorporación selectiva de sustancias del medio, para ello utilizan energía química, la que puede liberarse con la disipación del gradiente.

La unidad de energía en el sistema internacional (SI) es el joule (J), que es igual a 1 newton por metro (N/m). Pero como todas las formas de energía son interconvertibles, podemos utilizar cualquier unidad para expresar la magnitud de estas.

Utilizaremos la kilocaloría (kcal) como unidad fundamental, que es igual a la cantidad de energía calórica que debe suministrárse a 1kg de agua pura, a 14,5 °C para elevar su temperatura en 1 °C. Para hacer la conversión basta saber que 1 kcal = 4,184 kJ.

Como la energía es una propiedad extensiva, o sea, depende de la cantidad de sustancia, casi siempre los cambios energéticos en las reacciones químicas se expresan en $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$, donde 1 mol es igual a $6,02 \cdot 10^{23}$ moléculas. El peso en gramos de 1 mol de una sustancia es numéricamente igual a su peso molecular; el peso molecular de la glucosa es 180, por lo que 1 mol de esta sustancia pesa 180 g.

Energía libre

La energía libre es la fracción de la energía liberada durante una reacción química u otro proceso, que puede convertirse íntegramente en trabajo a temperatura y presión constantes.

La aplicación de los conocimientos de termodinámica nos sirven para predecir el sentido y el alcance de una reacción. Como los sistemas biológicos se mantienen a temperatura y presión constantes, es posible utilizar una medida de energía potencial para predecir el sentido de una reacción sometida a determinadas condiciones. Esta medida de la energía potencial se denomina energía libre y se simboliza con la letra G en honor a Josiah Willard Gibbs, uno de los fundadores de la termodinámica. Nuestra atención se centrará en conocer qué sucede con la energía libre, cuando una molécula o una conformación cambia a otra, por lo que nos enfrentamos con un valor relativo, más que con uno absoluto de G , especialmente con su diferencia que se representa como ΔG . Gibbs demostró que a temperatura y presión constantes “todos los sistemas cambian en el sentido de minimizar la energía libre”.

En términos matemáticos podemos expresar que si ΔG es negativo para una reacción química, esta tiende a realizarse espontáneamente; si es positivo, no. Otra forma de expresarlo sería: si un sistema de partículas tiene una energía G_1 y puede cambiar a un estado que tiene una energía G_2 , el cambio se efectuará de manera espontánea si y solo si $G_2 < G_1$.

El valor de ΔG es la resultante de dos factores: el cambio en el contenido calórico entre los reactantes y los productos, así como el cambio de entropía. El contenido calórico, entalpía (H) de reactantes y productos, es igual a la energía total de sus enlaces.

Una reacción química libera o absorbe entalpía cuando en esta se forman o rompen enlaces, de ahí que el cambio total de entalpía, representado por ΔH , es igual al cambio total de energía de enlace. En una reacción exotérmica se libera calor y ΔH es negativo, pues los productos poseen menos energía que los reactantes: en una reacción endotérmica se absorbe calor y ΔH es positivo. Las reacciones tienden a ocurrir espontáneamente si ΔH es negativo, pero este no es el único factor.

La entropía, simbolizada por S , es una medida del grado de desorden de un sistema. Un cambio en la entropía, designado por ΔS , se produce cuando un sistema deviene otro con mayor o menor desorden. De acuerdo con el segundo principio de la termodinámica, un proceso tiende a ocurrir de manera espontánea cuando el contenido total de entropía del sistema y el entorno tienden a aumentar.

Considérese el caso de la energía potencial acumulada en un gradiente de concentración. La difusión de un soluto de una solución a otra, en la cual su concentración es menor, es un ejemplo de proceso de importancia biológica, que es conducido casi de manera exclusiva por un aumento de entropía, pues ΔH es muy cercano a cero. Supongamos que una solución de NaCl 0,1 M está separada por una membrana de una solución de la misma sal en una concentración 0,01 M y que los iones pueden difundir a través de la membrana; en un primer momento, el movimiento de los iones está limitado a su compartimiento, pero a medida que difunden a través de la membrana, los iones pueden moverse en un volumen mayor y el grado de desorden del sistema aumenta. El máximo de entropía se alcanza cuando todos los iones pueden moverse en todo el volumen, es decir cuando las concentraciones de la sal hacia ambos lados de la membrana son iguales. En este caso la variación de la entalpía es prácticamente nula (Fig. 14.3).

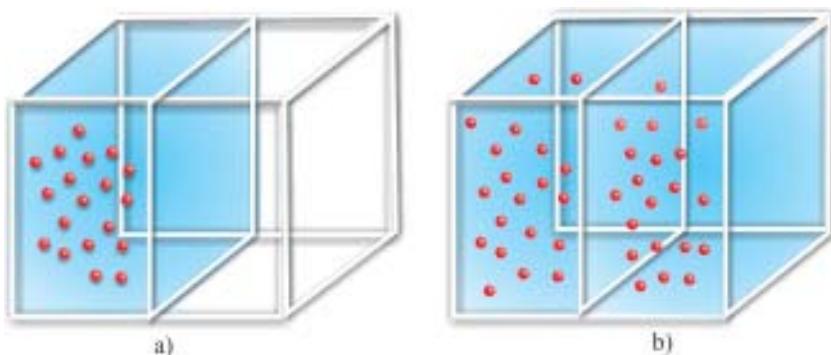


Fig. 14.3. Disipación de un gradiente de concentración. a) En un primer momento los iones solo pueden moverse dentro de su compartimiento. b) En la medida que se produce la difusión a través de la membrana es mayor el espacio disponible para el movimiento de cada ion.

Otro caso interesante, que ya fue discutido en la sección de biomoléculas, es la insolubilidad de las sustancias apolares en solventes polares, especialmente en agua.

Gibbs demostró que la energía libre se puede definir como:

$$G = H - TS$$

donde H y S tienen el significado ya dado y T es la temperatura en grados Kelvin. Si no se permite que T varíe, entonces una reacción procederá espontáneamente si hay un cambio negativo en la energía libre según la ecuación:

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

Una reacción exotérmica (ΔH es negativo) que aumenta la entropía (ΔS es positivo) ocurrirá de manera espontánea (ΔG es negativo). Una reacción endotérmica (ΔH es positivo) puede ocurrir de manera espontánea si ΔS es positivo y el término $T \Delta S$ es suficientemente grande para compensar el valor positivo de ΔH .

Si ΔG es cero, el sistema está en equilibrio y cualquier transformación de reactantes en productos será balanceada por otra transformación en sentido contrario.

De lo anterior se deduce que ΔG es una medida del alcance de una reacción, esto significa que mientras más negativo es ΔG , mayor será la proporción de reactantes que se transforman en productos. Pero ΔG no proporciona información acerca de la velocidad con que el proceso se realiza.

El cambio de energía libre de una reacción es modificado por varios factores como la temperatura, la presión y la concentración inicial de los reactantes y los productos; las reacciones biológicas que se realizan en soluciones acuosas se afectan por la concentración de H^+ (expresada en valores de pH). En el texto se darán los valores para G° , o sea, el cambio de energía libre bajo condiciones estándares: temperatura de 298 K (25 °C), presión de 1 atm, pH = 7 y concentración inicial para todos los reactantes y los productos de 1 M (con excepción del H^+ que se mantiene con pH = 7). ΔG° se denomina la energía libre estándar de la reacción, su signo depende del sentido en que la reacción sea considerada; si la reacción



tiene un $\Delta G^\circ = -a \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$, entonces la reacción



tendrá un $\Delta G = +a \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$.

Las condiciones en la mayoría de las reacciones biológicas difieren de las estándares, sobre todo en cuanto a la concentración de reactantes y productos, pero se puede calcular para otras condiciones por la ecuación:

$$\Delta G = G^\circ + RT \ln \frac{[\text{producto}]}{[\text{reactante}]}$$

donde R es la constante de los gases ($1,987 \text{ cal grado}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$) y [producto] y [reactante] corresponde a la concentración inicial de estos componentes, por ejemplo, en la interconversión de la fosfodihidroxiacetona (PDHA) en gliceraldehído 3-fosfato (G3P) que se muestra en la figura 14.4.

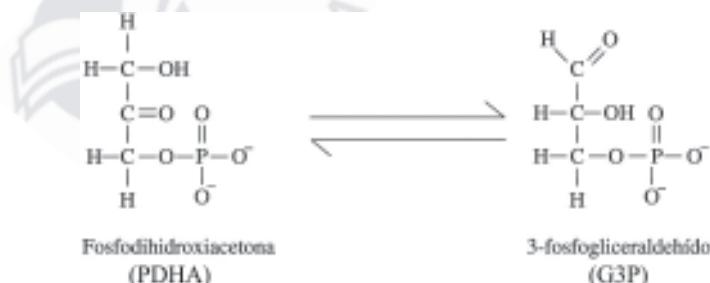


Fig. 14.4. Isomerización de la fosfodihidroxiacetona. La fosfodihidroxiacetona (PDHA) y el gliceraldehido 3-fosfato (G3P) son isómeros de función que pueden interconvertirse fácilmente.

$\Delta G^\circ = + 1\,840 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$, la ecuación sería:

$$\Delta G = + 1\,840 + 1,987 T \ln [G3P]/[PDHA]$$

si $[G3P] = [PDHA] = 1 \text{ M}$, entonces $\Delta G^\circ = + 1\,840 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ porque $RT \ln 1 = 0$. La reacción tiende a ocurrir de derecha a izquierda, hacia la formación de PDHA. Sin embargo, si $[PDHA] = 0,1 \text{ M}$ y $[G3P] = 0,001 \text{ M}$ y las otras condiciones se mantienen estándares, el ΔG será:

$$\Delta G = + 1\,840 + 1,987 (298) \ln (0,001)/(0,1)$$

$$\Delta G = +1\,840 + 1,987(298) \ln 0,01$$

$$\Delta G = -887 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$$

En este caso la reacción tiende a ocurrir en la dirección de formación del G3P.

En una reacción donde dos moléculas se combinan para dar una sola, según la reacción:

$$\Delta G = G^\circ + RT \ln \frac{[C]}{[A][B]}$$

la ecuación para ΔG será:



el sentido de la reacción puede variarse si se cambia la concentración inicial de cualquiera de los compuestos.

Como ΔH y ΔS son funciones de estado, ΔG es también una función de estado, esto significa que su valor solo depende de los estados inicial y final del sistema reaccionante, sin que en su magnitud influya el camino recorrido. Si la sustancia A puede transformarse en J según el proceso:



o por este otro:



como se parte del mismo reactante (A) y se obtiene el mismo producto (J), el ΔG de ambos procesos es el mismo, por ejemplo, la reacción:



tiene un $\Delta G^\circ = -688 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$, tanto si se realiza abruptamente en una bomba calorimétrica, como si se lleva a cabo en una célula, donde el proceso tiene lugar en condiciones moderadas y por una ruta secuencial que comprende más de 20 reacciones químicas.

Como se ha señalado, el estudio de la termodinámica de las reacciones nos proporciona un instrumento para conocer el alcance o grado de completamiento de una reacción, así como su sentido más probable, pero no nos dice nada sobre la velocidad con que esta reacción tendrá lugar, ni siquiera si esa reacción ocurrirá sometida a unas condiciones determinadas, para determinar esto debemos valernos del conocimiento de otros factores.

Reacciones acopladas

Cuando una reacción endergónica ocurre a expensas de la energía liberada en una reacción exergónica, estas reacciones están acopladas. Esto se debe a que las energías libres de las reacciones son aditivas.

Una de las propiedades de la energía libre más utilizada es su carácter aditivo; esto significa que si en un sistema reaccionante ocurren dos reacciones simultáneamente, la variación de energía libre total será igual a la suma algebraica de las variaciones de energía libre de cada una de las reacciones por separado, por ejemplo, si se tiene la reacción:



y esta ocurre simultáneamente con la reacción:



entonces la variación de energía libre de las dos reacciones será:



Este ejemplo permite evidenciar una situación muy frecuente en los seres vivos. Como ya se ha dicho, hay reacciones que requieren una fuente de energía para su realización; en el laboratorio ese problema se soluciona, conduciendo la reacción a elevadas temperaturas, lo cual no es posible en el interior de los seres vivos. Los organismos vivientes aprovechan esta propiedad y realizan las reacciones consumidoras de energía a expensas de reacciones que la liberan, cuando esto ocurre se dice que las dos reacciones están acopladas.

De manera evolutiva los seres vivos han desarrollado mecanismos especiales para el acoplamiento de reacciones con la introducción de intermediarios entre las dos reacciones, de forma tal que estas no tengan que ocurrir al mismo tiempo ni en el mismo lugar; uno de los intermediarios más empleados es el adenosín trifosfato (ATP), que ya fue estudiado en el capítulo 8, por ejemplo: la hidrólisis del ácido fosfoenol pirúvico (PEP) produce ácido pirúvico (AP) y fosfato (Pi) con gran liberación de energía:



que puede acoplarse a la formación del ATP a partir de ADP y fosfato:



de manera que la reacción resultante sería:



Por otra parte, se debe realizar la reacción de fosforilación de la glucosa (GLC) para producir glucosa-6-fosfato (G6P) que consume energía:



que puede ser acoplada a la hidrólisis del ATP según la ecuación:



para dar:



Obsérvese que en realidad lo que se está haciendo es acoplar la hidrólisis del fosfoenol pirúvico con la fosforilación de la glucosa, pues basta sumar las reacciones (1) y (2) para tener:



La ventaja que tiene esta manera de hacer las cosas es que la hidrólisis del fosfoenol pirúvico y la fosforilación de la glucosa no tienen que ocurrir simultáneamente, ni siquiera en el mismo compartimiento celular pues como el ATP es una molécula estable ella almacena transitoriamente parte de la energía liberada en la primera reacción y la cede en el momento y lugar, cuando y donde ocurra la segunda (Fig. 14.5).

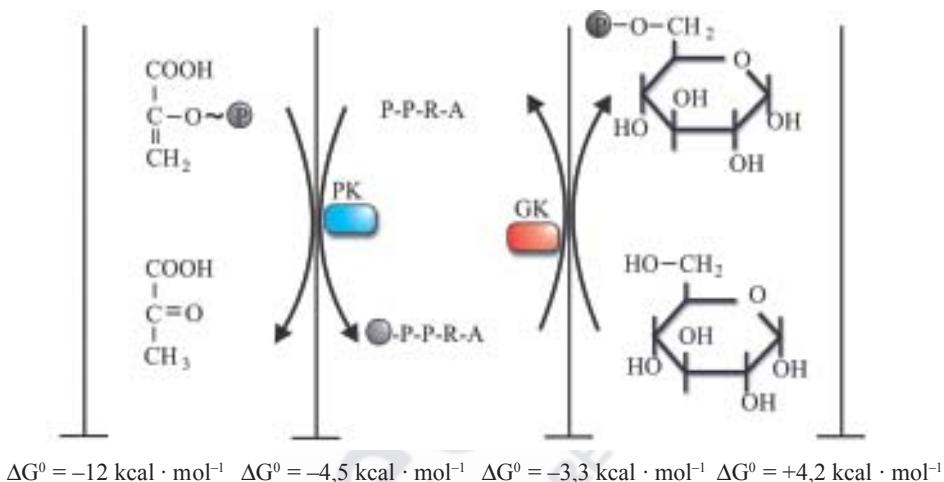
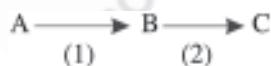


Fig. 14.5. Reacciones acopladas. Se muestra el acoplamiento en las reacciones de hidrólisis del ácido fosfoenolpirúvico y la fosforilación de la glucosa mediante el ciclo del ATP. Obsérvese que mediante este mecanismo las dos reacciones donde intervienen los nucleótidos de adenina como intermediarios son exergónicas, lo cual las hace favorables desde el punto de vista termodinámico.

Un caso interesante de acoplamiento se da en las reacciones sucesivas, cuando el producto de una reacción sirve como reactante de una reacción posterior; en este caso la segunda reacción está acoplada a la primera, pues su existencia depende de aquella, puede ser:



Este tipo de secuencias de reacción es característico del metabolismo celular donde la transformación de una sustancia se realiza mediante un número considerable de reacciones sucesivas. Este procedimiento provee una ventaja adicional, pues permite la realización de reacciones termodinámicamente desfavorables. Supongamos que la reacción (1) presenta $\Delta G = +2 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$, por lo que es poco probable que ocurra espontáneamente; pero si la reacción (2) tiene $\Delta G = -5 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$, la conversión de A en C es un proceso favorable, pues presenta $\Delta G = -3 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$. A veces para hacer más gráfica esta situación se dice que la segunda reacción “impulsa” a la primera.

Otro caso frecuente es el de las reacciones de oxidación-reducción. Para que una sustancia se oxide, se requiere que otra se reduzca. Al igual que en el acoplamiento energético, la célula dispone de intermediarios *redox* que permiten acoplar reacciones de oxidación con reacciones de reducción, sin que estas tengan que ocurrir al mismo tiempo ni en el mismo lugar; estos acopladores son casi siempre cofactores (capítulo 19) que funcionan en forma similar a como lo hace el ATP en los acoplamientos energéticos. Esta característica de las transformaciones bioquímicas de realizarse en dependencia de los

productos resultante de otras reacciones, creando vínculos de relación entre los procesos metabólicos, es el contenido esencial del principio de acoplamiento.

Velocidad de reacción

La velocidad de reacción expresa el cambio en la concentración del producto o del reactante por unidad de tiempo.

Una medida de cómo se efectúa una reacción química es mediante su velocidad, por ello se entiende cómo aumenta la concentración del producto por unidad de tiempo. Si no se dispone de un método adecuado, puede determinarse igualmente cómo disminuye la concentración del reactante; como se trata de la misma reacción, cualquier medición que se haga dará la misma velocidad.

En el ejemplo dado, de la hidrólisis de la glucosa-6-fosfato pudiera medirse cómo aumenta la concentración de glucosa o de fosfato, o cómo disminuye la de glucosa-6-fosfato por unidad de tiempo. Como la concentración de agua es siempre mucho mayor que la de cualquiera de los demás componentes, su variación será apenas perceptible y en los cálculos se considera siempre constante.

Teniendo todo esto en cuenta, podemos escribir las expresiones siguientes para la velocidad de la reacción de hidrólisis de la glucosa-6-fosfato:

$$v = \frac{-d[\text{glucosa-6-P}]}{dt} = \frac{d[\text{glucosa}]}{dt} = \frac{d[\text{fosfato}]}{dt}$$

lo cual se lee como variación de la concentración del componente dado (glucosa-6-fosfato, glucosa o fosfato) a medida que el tiempo varía. En el primer caso la expresión está afectada por el signo menos (-), pues la concentración de glucosa-6-fosfato va disminuyendo con el tiempo.

En general la velocidad de una reacción depende de la concentración de los reactantes en cada momento, como queda expresado en la ley de acción de masas. Para la reacción



la ecuación de velocidad será:

$$v = k[\text{A}]$$

donde k es la constante de velocidad específica de la reacción. Para una reacción de dos reactantes



sería: $v = k[\text{A}][\text{B}]$

y en general para una reacción del tipo



donde las letras mayúsculas representan los compuestos y las minúsculas, los coeficientes de la ecuación balanceada, la ecuación para el cálculo de la velocidad sería:

$$v = k[\text{A}]^a[\text{B}]^b[\text{C}]^c \dots [\text{N}]^n$$

que puede llevarse a la expresión general

$$v = kc^z$$

donde c incluye todos los términos de concentración y z es igual a la suma de sus exponentes, en ocasiones, el valor de z calculado de esta forma se corresponde con el orden de la reacción, pero ese valor debe calcularse experimentalmente, como se demstrará en el acápite siguiente.

La velocidad de las reacciones se afecta por la temperatura y la presión, así como por la naturaleza y el estado de agregación de los reactantes.

Orden de reacción

El orden de reacción expresa la relación real entre la velocidad de la reacción y la concentración del reactante.

La ecuación estudiada describe de forma general la relación entre la velocidad de la reacción y la concentración de los reactantes, según la ley de acción de masas. En estas ecuaciones el valor del exponente z se define como el orden de la reacción, sin embargo, el valor de z es un número empírico y, por tanto, se debe determinar experimentalmente, esto permite agrupar las reacciones que tienen el mismo valor de z, o sea, el mismo orden de reacción. El orden real de la reacción no puede determinarse por la ecuación de velocidad, pues depende en gran medida del mecanismo de la reacción y de las condiciones en que esta se realiza.

Cuando se determina por vía experimental una reacción, esta puede ser: de primer orden, si la velocidad es directamente proporcional a la concentración del reactante; de segundo orden, si es proporcional al cuadrado de la concentración del reactante o al producto de la concentración de dos reactantes, y así sucesivamente. Cuando la velocidad de la reacción es independiente de la concentración de los reactantes se dice que es de orden cero.

Las ecuaciones reales para cada caso, en las cuales a y b representan las concentraciones de los reactantes son las siguientes:

- Reacción de orden cero: $v = ka^0$ o $v = k$.
- Reacción de primer orden: $v = ka^1$ o $v = ka$.
- Reacción de segundo orden: $v = ka^2$ o $v = kab$.

El orden de reacción no tiene que ser necesariamente un número entero y de hecho, muchas veces no lo es, pueden encontrarse valores como 0,6 o 1,3, etc. Es importante resaltar que una misma reacción realizada en condiciones diferentes puede exhibir valores distintos de z. Se llama orden global de la reacción a la suma de los exponentes de todos los términos de concentración, determinados por vía experimental y orden con respecto a un reactante para el exponente de ese reactante exclusivamente. Se dice en este caso, por ejemplo, que la reacción es de primer orden con respecto a A, etcétera.

Tal vez un ejemplo ilustre los conceptos tratados. Tómese la reacción



según la ley de acción de masas, la ecuación de velocidad sería:

$$v = k[A][B][C]$$

y la reacción sería de tercer orden.

Sin embargo, el estudio de la reacción determina que esta se realiza en dos etapas:



La etapa que determina la velocidad de la reacción es la formación del compuesto intermedio D, que una vez formado reacciona rápidamente con C para dar origen a los dos productos de la reacción, por lo cual la segunda etapa no influye sobre la velocidad de la reacción. Teniendo en cuenta este mecanismo, la ecuación de velocidad sería:

$$v = k[A][B]$$

y por tanto, la reacción es de segundo orden.

Para determinar el orden de la reacción es necesario transformar las ecuaciones de velocidad en ecuaciones cinéticas, que son aquellas que ofrecen el valor de la concentración de cualquiera de los reactantes en un tiempo dado. Si en la ecuación participa un solo reactante A, cuya concentración inicial es a , al cabo de un tiempo (t) se habrá transformado una cantidad x de a en producto y su concentración en ese momento será $a-x$. Integrando las ecuaciones de velocidad se obtienen las cinéticas que para una reacción de orden cero, sería:

$$x = kt$$

para una reacción de primer orden

$$\log \frac{b(a-x)}{a(b-x)} = \frac{k(a-b)}{2,303} t$$

y para una de segundo orden

$$\log \frac{a}{a-x} = \frac{k}{2,303} t$$

los valores determinados experimentalmente para la reacción que se está estudiando se muestran en la figura 14.6. Si se seleccionan de forma adecuada los valores representados en cada uno de los ejes, se obtiene una línea recta que pasa por el origen de las coordenadas. La gráfica en la cual se ajusten adecuadamente los valores experimentales dará el valor del orden de la reacción.

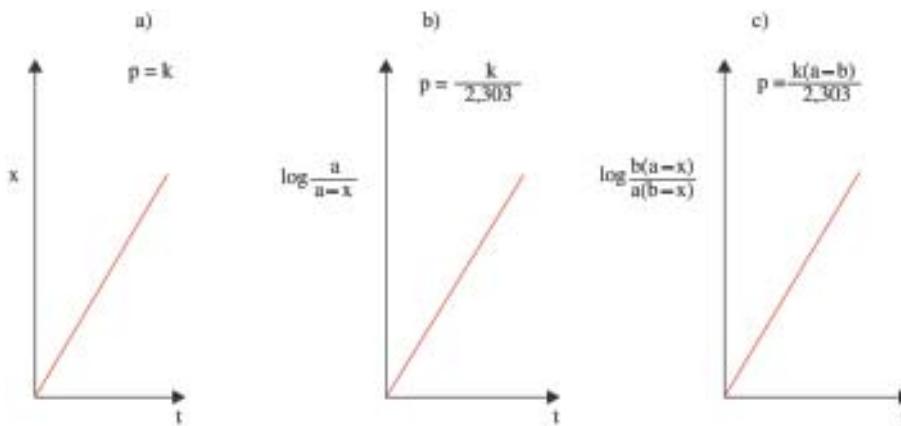


Fig. 14.6. Determinación del orden de una reacción. Para calcular el orden de reacción hay que seleccionar adecuadamente las variables que deben ocupar cada uno de los ejes de coordenadas. En (a) los resultados corresponden a una reacción de orden cero, donde la pendiente (p) es igual a la constante específica de velocidad. En (b) se representa una reacción de primer orden y en (c) de segundo orden. Las representaciones facilitan el cálculo de k .

Reversibilidad y equilibrio

Una reacción química es reversible si los productos pueden convertirse nuevamente en reactantes.

Una reacción reversible es aquella que puede realizarse en los dos sentidos, esto es, que los reactantes generan un producto y este a su vez puede regenerar a los reactantes. En un primer momento, como la velocidad depende de la concentración de los reactantes, y el producto apenas se ha formado, el sentido predominante será pero a medida que la concentración del producto comience a incrementarse, empezará a ganar en intensidad la reacción inversa



Para una reacción simple como:



la velocidad de la reacción directa (de izquierda a derecha) se puede designar v_1 y viene dada por la ecuación:

$$v_1 = k_1[A]^a[B]^b$$

mientras que la velocidad de la reacción inversa (de derecha a izquierda) a la cual llamaremos v_2 será igual a:

$$v_2 = k_2[C]^c[D]^d$$

Si se parte solo de A y B, como su concentración disminuye con el tiempo pues se convierten en C y D, la velocidad de la reacción directa disminuye con el tiempo. Por otra parte, como la concentración de C y D aumentan con el tiempo, la velocidad de la reacción inversa también aumentará hasta un momento en que las dos velocidades sean iguales, esto es:

$$v_1 = v_2$$

o también:

$$k_1[A]^a[B]^b = k_2[C]^c[D]^d$$

que reordenando tendremos:

$$\frac{k_1}{k_2} = \frac{[C]^c [D]^d}{[A]^a [B]^b}$$

donde el cociente k_1/k_2 representa la constante de equilibrio de la reacción:

$$K_e = \frac{[C]^c [D]^d}{[A]^a [B]^b}$$

y así para cualquier tipo de reacción.

La relación entre las concentraciones de los productos y los reactantes en el momento del equilibrio depende de la naturaleza de los compuestos, la temperatura y la presión. En condiciones físicas definidas esa relación es siempre la misma para una reacción dada.

Para ilustrar algunos aspectos del equilibrio, utilizaremos la conocida reacción de isomerización reversible de la PDHA en G3P que ocurre en el organismo, catalizada por la enzima triosa fosfato isomerasa (Fig. 14.4).

La constante de equilibrio para esta reacción bajo condiciones estándares

$$K_e = \frac{[\text{PDHA}]}{[\text{G3P}]} = 22,2$$

lo que significa que en el momento del equilibrio la relación entre las concentraciones de PDHA y G3P es de 22,2:1.

En reacciones de este tipo, donde existe un solo reactante y un producto, la relación de concentración en el equilibrio es independiente de la concentración inicial de estos, e igual a K_e ; también es independiente de la velocidad de la reacción, en presencia de un catalizador esta velocidad se incrementa, pero la relación $[\text{PDHA}]/[\text{G3P}]$ es la misma.

Las reacciones asociadas a una K_e grande pueden ocurrir espontáneamente, pero la magnitud de esta constante nada nos dice de la velocidad de la reacción, ni siquiera del hecho de que esta reacción puede ocurrir bajo determinadas condiciones, por ejemplo, a pesar de la gran K_e de la reacción estudiada, en una solución acuosa en la cual esté ausente la enzima, la reacción es tan lenta, que es indetectable.

En reacciones que intervienen múltiples reactantes o productos, la concentración en el equilibrio de un reactante o de un producto depende de la concentración inicial de todos los reactantes y productos, así como del valor de la constante de equilibrio.

Si la reacción no es isoenergética, como es lo habitual, entonces en un sentido ha de liberar una cantidad de energía que es igual a la que absorbe en el sentido contrario, por tanto, la variación total de energía libre es igual a cero; esto implica que para un sistema en equilibrio químico podemos escribir la ecuación:

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln \frac{[\text{producto}] \text{ eq}}{[\text{reactante}] \text{ eq}}$$

pero como en ese momento $\Delta G = 0$ y $[\text{producto}] \text{ eq}/[\text{reactante}] \text{ eq} = K_e$, la ecuación se transforma en:

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_e$$

o empleando logaritmos de base 10

$$\Delta G^\circ = -2,3 RT \log K_e$$

Esta simple, pero importante relación entre la variación de la energía libre en condiciones estándares y la constante de equilibrio permiten determinar los valores ΔG° , midiendo las concentraciones de productos y reactantes en el estado de equilibrio, sin necesidad de emplear complicados procedimientos para determinar los cambios de entalpía (ΔH) y entropía (ΔS). Una lista de relaciones entre los valores de ΔG y K_e se muestra en la tabla 14.1.

Tabla 14.1. Relación entre la constante de equilibrio (K_e) y la variación de energía libre (ΔG°) a 25 °C

K_e	ΔG° (kcal · mol ⁻¹)	ΔG° (kJ · mol ⁻¹)
10^6	-8,19	-34,3
10^4	-5,44	-22,8
10^2	-2,72	-11,4
10^1	-1,36	-5,7
10^0	0,00	0,00
10^{-1}	1,36	5,7
10^{-2}	2,72	11,4
10^{-4}	5,44	22,8
10^{-6}	8,19	34,3

1 kcal = 4,184 kJ.

Como se puede observar cuando ΔG° es negativa entonces $K_e > 1$, o sea, está favorecida la formación de los productos. Por último, es bueno señalar que aunque el equilibrio químico es aparentemente un estado estático, en realidad se trata de un estado dinámico, en el cual las dos reacciones opuestas continúan realizándose, pero a la misma velocidad. El punto de equilibrio no depende de la velocidad de la reacción.

Energía de activación

Todas las reacciones químicas no ocurren con la misma velocidad. En la explosión de la dinamita se produce la transformación de gran cantidad de sustancia en fracciones de segundos, en tanto, la formación de agua a partir de H₂ y O₂ es tan lenta que debe esperarse mucho tiempo para que se formen cantidades minúsculas; otras como la esterificación del ácido acético y el etanol suceden a velocidades intermedias. A este último grupo pertenecen las reacciones de cuyo estudio se ocupa la cinética química, pues su tiempo de duración permite una adecuada experimentación en el laboratorio.

Muchas reacciones químicas que presentan un gran cambio negativo de energía libre no suceden a velocidades mensurables, por ejemplo, el G3P puede experimentar diferentes transformaciones, como se muestra en la figura 14.7. Todas estas con un ΔG° negativo, sin embargo, en soluciones acuosas normales el G3P es un compuesto muy estable, por lo que reacciona lentamente o no reacciona.

Cuando esto sucede se dice que existe una barrera energética para el desarrollo de la reacción y que los reactantes deben vencerla en su camino hacia los productos. Esta barrera recibe el nombre de energía de activación. Cada sustancia, debido a su estructura, presenta un contenido energético dado por la energía de sus enlaces, entalpía, y por su movimiento caótico. Como todas las moléculas en un sistema no se mueven a la misma velocidad, se toma para caracterizar al conjunto la energía cinética promedio de todas estas; la temperatura es precisamente una medida de esa energía cinética promedio.

Para poder dar productos, el reactante debe alcanzar un estado energético elevado, denominado estado de transición.

Para poder reaccionar y dar productos, los reactantes deben entrar en contacto físico, es decir, chocar unas moléculas con otras con orientación e intensidad adecuadas, por lo que deben poseer un contenido energético determinado que les permita alcanzar el grado de excitación necesario para transformarse en productos. Si la energía del reactante está muy lejos de la que debe alcanzar, entonces la reacción transcurrirá

de forma muy lenta, pero si está muy cerca ocurrirá rápido. A la diferencia entre la energía que posee el reactante y la que debe poseer para reaccionar es lo que se denomina energía de activación.

En la figura 14.8 se representa un diagrama de las variaciones de energía durante una reacción. Primero se representa la energía de los reactantes ; en segundo lugar aparece el nivel energético necesario para producir la reacción y tercero, la energía de los productos. El estado de excitación en que se encuentran los reactantes en el punto dos se denomina estado de transición o complejo activado, y según la teoría de las velocidades absolutas de reacción se encuentra en equilibrio con los reactantes. Como se puede observar , la energía de activación no es la del complejo activado, sino la diferencia entre la energía de los reactantes y la del complejo activado; mientras mayor sea ese valor, menor será la velocidad de la reacción.

La energía de activación es la diferencia entre la energía del reactante y la del estado de transición.

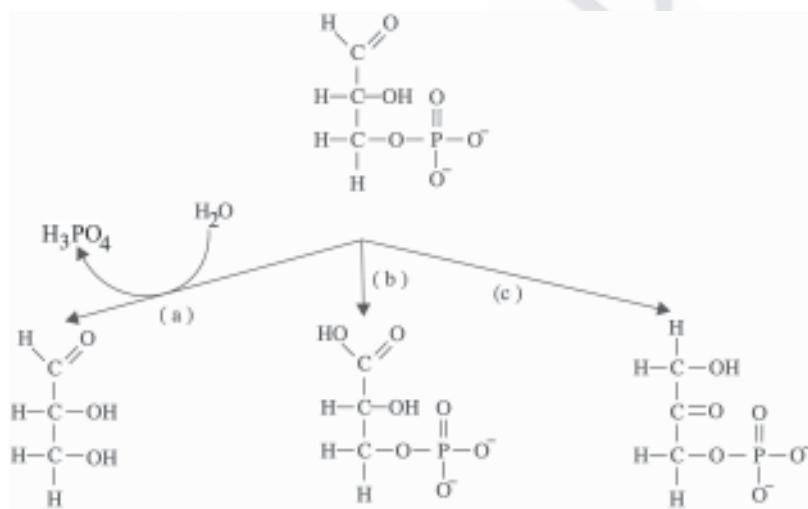


Fig. 14.7. Posibles reacciones del gliceraldehído-3-fosfato. El G3P puede experimentar varias reacciones, todas estas con un ΔG negativo, como son (a) la hidrólisis a gliceraldehído y fosfato; (b) su oxidación a ácido glicérico-3-fosfato, o (c) su isomerización a fosfodihidroxiacetona, ya conocida.

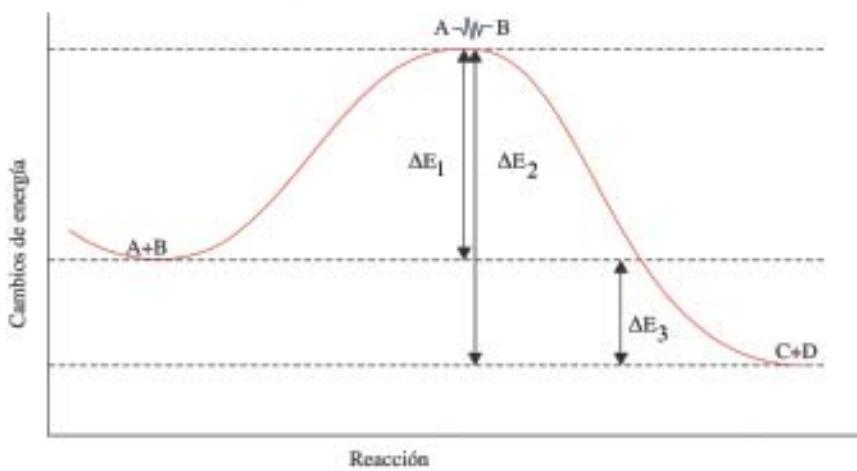


Fig. 14.8. Diagrama energético de una reacción. La reacción comienza con el valor energético de los reactantes, que debe elevarse hasta formarse el complejo activado y después se originan los productos con su energía característica. ΔE_1 representa el valor de la energía de activación para la reacción directa, en tanto ΔE_2 lo es para la reacción inversa. ΔE_3 representa el valor de la energía de reacción.

Existe también otro factor importante que aparece representado en la figura 14.8, es la diferencia entre la energía de los reactantes y la de los productos, que recibe el nombre de energía de reacción. En la conversión de los reactantes en productos, además de la transformación de la sustancia, sucede también una variación del contenido energético del sistema, de forma que el contenido energético de los productos puede ser igual, mayor o menor que el de los reactantes. Las reacciones del primer grupo reciben el nombre de isoenergéticas (de isos = igual); si el nivel energético de los productos es menor quiere decir que parte de la energía de los reactantes se ha cedido al entorno y por ello reciben el nombre de exergónicas (de exos = hacia afuera), por último, si el nivel energético de los productos es mayor, significa que el sistema tomó energía del exterior, por lo que se denomina endergónicas (de endos = hacia adentro).

De la figura 14.8 puede deducirse que las reacciones reversibles, que en un sentido son exergónicas, en sentido contrario son endergónicas, y que las reacciones que en sentido directo son muy exergónicas, en sentido inverso son poco probables, pues presentan una energía de activación muy grande. La energía de reacción puede indicar el sentido más probable en que una reacción química puede ocurrir pues se trata del ΔG de la reacción.

Existe una relación funcional entre la energía de activación y la velocidad de la reacción deducida a partir de la teoría de las velocidades absolutas de reacción, para ello hay que recordar la forma generalizada de la ecuación de velocidad:

$$v = kc^z$$

donde k es la constante específica de velocidad, ya que es el valor que toma esta cuando el término c^z es igual a la unidad. El valor de k depende de muchos factores, entre estos de la energía de activación a la cual está ligada por la ecuación de Arrhenius:

$$k = k^* e^{-\frac{E}{RT}}$$

donde k^* es un valor que depende de otros factores, e es la base de los logaritmos neperianos, R y T tienen los significados ya conocidos y E es la energía de activación.

Se debe tener presente que el exponente de e es una fracción negativa y E es su numerador, por lo que mientras mayor sea el valor de E , menor será el valor de k y, por tanto, de la velocidad.

Catalizadores

Los catalizadores aumentan la velocidad de las reacciones porque disminuye la energía de activación.

Existen varios procedimientos para provocar el aumento de la velocidad de una reacción, algunos son muy refinados, pero otros resultan muy sencillos, como es el caso de realizar la reacción a altas temperaturas o la de adicionar un catalizador. El aumento de la temperatura refleja un aumento de la energía cinética de los reactantes, acercándolos al valor necesario para formar el complejo activado y con ello disminuye, tanto como sea posible, la energía de activación.

Los catalizadores por su parte son sustancias de diferente naturaleza química que tienen en común la propiedad de aumentar la velocidad de las reacciones químicas, sin que su estructura o concentración se modifique como resultado de la reacción. Estos catalizadores participan en las reacciones de manera muy variada, pero todos son capaces de disminuir la energía de activación, con lo cual, como ya se ha visto, se aumenta la velocidad de la reacción.

En la figura 14.9 se reproduce el diagrama de la figura 14.8, pero ahora en presencia de un catalizador, por lo que se observa la disminución de la energía de activación. Sin embargo, en la figura 14.9 es evidente que los catalizadores no influyen sobre la energía de reacción, ya que las reacciones exergónicas (o endergónicas) lo seguirán siendo, lo que ahora, en presencia de un catalizador, suceden con mayor velocidad.

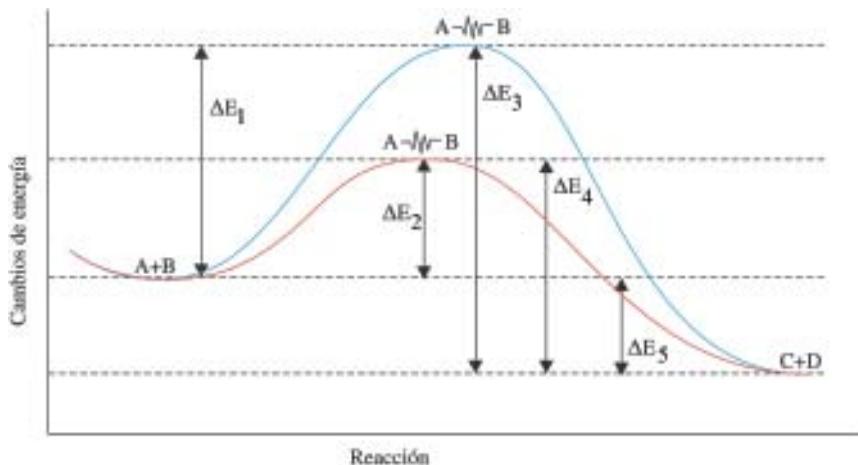


Fig. 14.9. Diagrama energético con un catalizador. La reacción en presencia del catalizador se realiza con una energía de activación (ΔE_2) menor que en ausencia del catalizador (ΔE_1). También disminuye la energía de activación de la reacción inversa que pasa de ΔE_3 sin el catalizador a ΔE_4 con el catalizador. Sin embargo, la energía de reacción (ΔE_5) no cambia al añadir el catalizador.

En las reacciones reversibles los catalizadores aumentan tanto la velocidad de la reacción directa como de la inversa, pues al disminuir la energía de activación para la reacción



también lo hacen para la reacción



de modo que no alteran el estado de equilibrio, aunque contribuyen a que este se alcance más rápido, por lo tanto el punto de equilibrio, la constante de equilibrio y el ΔG° de la reacción son los mismos con catalizadores o sin estos. Podemos distinguir dos tipos generales de catalizadores: aquellos que realizan su acción catalítica en los seres vivos y los que su actividad no está vinculada necesariamente con estos. A los primeros se les da el calificativo de bióticos y a los segundos, abióticos.

Los catalizadores bióticos son proteínas con funciones catalíticas y reciben el nombre de enzimas.

Los catalizadores abióticos pueden ser metales como el platino, sales como el dicromato de potasio, ácidos o bases como el ácido sulfúrico o el hidróxido de sodio, compuestos orgánicos diversos como el fenol, anhídrido acético, piperazina, etcétera.

Los catalizadores bióticos o biocatalizadores no solo son producidos por los seres vivientes, sino que es en estos donde normalmente realizan su actividad catalítica. Los abióticos pueden ser sustancias orgánicas o inorgánicas, pero solo de manera excepcional realizan actividad catalítica en los seres vivos y su uso mayor es en los laboratorios y la industria. Los catalizadores abióticos suelen tener cierto grado de especificidad en cuanto al tipo de reacción que catalizan, el ion permanganato se emplea en reacciones de oxidación, el Ni pulverizado en reacciones de hidrogenación, etc., pero generalmente no presentan selectividad por el reactante. Los bióticos, por su parte, tienen especificidad,

tanto para la reacción como para el reactante, que en este caso recibe el nombre de sustrato.

Por último, en cuanto a su grado de eficiencia los catalizadores abióticos suelen ser mucho menos eficientes que los bióticos. Si aceptamos como definición de la eficiencia catalítica (E_c), la relación entre la velocidad de la reacción catalizada (V_c) y la velocidad de la reacción no catalizada (V_0), los catalizadores abióticos presentan para este cociente valores entre 10^1 y 10^3 , en tanto con los biocatalizadores se obtienen cifras entre 10^6 y 10^{12} o más.

En los capítulos siguientes se analizarán con más detalles algunas de las características más sobresalientes de los biocatalizadores.

Resumen

En los organismos vivos se realiza un número elevado de reacciones químicas que les permiten restituir sus componentes que están en constante renovación, y obtener la energía necesaria para la realización de diversas funciones. Una reacción química es el proceso mediante el cual a partir de una o varias sustancias denominadas reactantes se obtienen sustancias nuevas, llamadas productos, como consecuencia de un reordenamiento de los elementos constitutivos de los reactantes. Dos aspectos fundamentales caracterizan una reacción química, que son su alcance y velocidad; para determinar estos aspectos es necesario considerar los cambios energéticos que se producen durante la reacción.

La energía es la capacidad o habilidad de un sistema para realizar trabajo y puede ser de dos tipos fundamentales: cinética o potencial. En las transformaciones quimicobiológicas la más importante es la potencial; esta puede presentarse como resultado de la energía de enlace de los compuestos químicos (energía química) o en forma de gradientes de concentración. La forma de la energía potencial que más se emplea en el estudio de los procesos bioquímicos es la energía libre. Los procesos que tienden a ocurrir de manera espontánea son aquellos en los cuales se produce una disminución de la energía libre, que su valor o variación depende de dos factores: entalpía y entropía. Hay casos en que la variación de entalpía es la determinante, mientras que en otros el papel fundamental lo desempeña la variación de entropía. La variación de energía libre (ΔG) es una medida del alcance y del sentido de una reacción química y como se trata de una función de estado, su valor no depende del mecanismo de la reacción, sino de los estados inicial y final del proceso.

La velocidad de una reacción se define como el cambio en la concentración del producto por unidad de tiempo. Existe una forma generalizada de la ecuación de velocidad, según la cual $v = kc^z$, donde k es la constante específica de velocidad y z , el orden de la reacción. La velocidad de una reacción depende de la temperatura, la presión y de la naturaleza, así como del estado de agregación de los reactantes.

Cuando una reacción es reversible se alcanza en esta el estado de equilibrio, caracterizado porque las velocidades de la reacción directa y la inversa son iguales. En ese momento $\Delta G = 0$ y la relación entre la concentración de los productos y los reactantes es igual a K_e . Una relación simple entre ΔG y K_e nos permite calcular aquella a partir de esta. La velocidad de una reacción dada depende de la diferencia entre la energía de los reactantes y la necesaria para alcanzar el estado activado, o sea, de la energía de activación. Mientras mayor es la energía de activación, menor es la velocidad de la reacción. Al valor de ΔG de una reacción se le denomina energía de reacción y de acuerdo con este, las reacciones pueden ser isoenergéticas (si $\Delta G = 0$), endergónicas (cuando ΔG es positivo) y exergónicas (cuando ΔG es negativo).

La propiedad que tiene la energía libre de poseer carácter aditivo permite el acoplamiento entre reacciones. Este acoplamiento es un fenómeno tan generalizado en los procesos bioquímicos que forma el contenido esencial del principio de acoplamiento.

Los catalizadores son sustancias que tienen la propiedad de disminuir la energía de activación, con lo cual aumentan la velocidad de las reacciones. Estos pueden ser bióticos o abióticos. Los bióticos son proteínas con especificidad por la reacción y el reactante, con una elevada eficiencia catalítica.

Ejercicios

- Señale para la reacción siguiente:



- ¿Cuáles son los enlaces que se rompen y cuáles los que se forman?
- Escriba la ecuación de velocidad.
- Si $\Delta G^\circ = -3 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ¿cuál será el sentido más probable de la reacción?
- Escriba la ecuación de Ke y deduzca si es mayor o menor que la unidad.

- Calcule la velocidad de la reacción:



si partimos de una solución 0,5 M de A y a los 3 min la concentración de A es de 0,3 M.

- Si colocamos un pedazo de hielo sobre una mesa, a temperatura ambiente, el hielo se derrite de manera espontánea, lo que indica que el ΔG° es negativo. ¿Cuál de los dos componentes de ΔG (ΔH o ΔS) cree usted más importante en este proceso? ¿Cómo varía cada uno de ellos?
- Si sabemos que la Ke de una reacción es de 84,3 ¿cómo será el ΔG de la reacción? ¿Qué puede deducirse acerca de la velocidad de la reacción?
- Calcule la ecuación de velocidad ($v = kc^z$) para la reacción:



si sabemos que

v en $\text{mmol} \cdot \text{s}^{-1}$	[A] mM	[B] mM
2	1	1
4	2	1
8	4	1
16	8	1
8	1	
16	1	3
32	1	4

- Establezca una hipótesis para explicar por qué los catalizadores disminuyen la energía de activación.
- ¿Es posible esperar algún cambio en el valor del ΔG de la reacción si a esta se le añade un catalizador? ¿Por qué?
- Una reacción ocurre a una velocidad de $25 \text{ mM} \cdot \text{s}^{-1}$. Si se le añade un catalizador (M) la velocidad aumenta hasta $25\,000 \text{ mM} \cdot \text{s}^{-1}$, pero si se le añade un catalizador (Q) la velocidad llega a $2\,500\,000 \text{ mM} \cdot \text{s}^{-1}$. Calcule la eficiencia de cada catalizador y deduzca cuál de estos es más probable que sea abiótico y cuál biótico.



Capítulo
15

Enzimas y centro activo

Todas las funciones que realizan los seres vivos tienen su fundamento en un número extraordinario de reacciones químicas, que se agrupan de manera funcional y dan lugar a los procesos biológicos encargados de mantener, desarrollar y perpetuar a cada individuo.

Todas las reacciones químicas que ocurren en los organismos vivos dependen de la existencia de un catalizador, bien porque ellas sean catalizadas, bien porque su reactante, su producto o ambos requieran de un catalizador para producirse o consumirse respectivamente. El fenómeno de la catálisis presenta características tan especiales en los seres vivos, que hemos asignado el término de biocatálisis para describirlo; su presencia universal en los procesos moleculares hace que la biocatálisis constituya una categoría central en el estudio de la bioquímica.

Los catalizadores que actúan en los seres vivos son los biocatalizadores, que se caracterizan por presentar una estructura molecular compleja y funcionar con eficiencia y especificidad elevadas, como se vio en el capítulo anterior.

El funcionamiento de los biocatalizadores depende no solo de su estructura y de las propiedades derivadas de esta, sino también de sus interacciones con el resto de los componentes celulares, interacciones que en ocasiones son determinantes.

En este capítulo se trata el estudio de la estructura de los biocatalizadores, de su mecanismo general de acción y sus principales propiedades. El conocimiento de estos aspectos es imprescindible para el estudio adecuado, no solo del metabolismo celular sino de casi todas las funciones del organismo.

Biocatalizadores

Los sistemas biocatalíticos están formados por una proteína, denominada enzima, y sustancias no proteicas, denominadas cofactores enzimáticos.

Las proteínas realizan múltiples funciones en los seres vivos: contracción, transporte, regulación, sostén, defensa, etc. En todos los casos existe en el fundamento de su actividad un mecanismo de reconocimiento molecular o sea, una interacción específica entre la proteína y una o más sustancias.

Las proteínas especializadas en la función catalítica reciben el nombre de enzimas y las sustancias sobre las cuales actúan se denominan sustratos.

Lo que distingue a las enzimas de las demás proteínas es precisamente que, una vez producido el reconocimiento molecular del sustrato, se realiza la transformación de la sustancia reconocida, o sea, como consecuencia de diferentes interacciones entre la proteína enzimática y su sustrato, este experimenta un reordenamiento de sus elementos constituyentes, debido a la ruptura y formación de algunos enlaces químicos. La sustancia que resulta de la acción de la enzima sobre el sustrato recibe el nombre de producto.

Las reacciones químicas que ocurren en los organismos vivos presentan casi siempre una energía de activación tan elevada, que en condiciones compatibles con la vida ocurrirían a velocidades casi nulas, con lo cual la vida (al menos en las condiciones actuales) sería prácticamente imposible.

Como consecuencia, una de las principales adquisiciones evolutivas de los seres vivos fue la aparición de proteínas con actividad catalítica, que al disminuir la energía de activación de las reacciones hacen posible no solo que estas se produzcan a gran velocidad, sino que se lleven a cabo en condiciones moderadas de temperatura, pH, etc., compatibles con la vida.

Un ejemplo puede ilustrar mucho esta situación, la hidrólisis del enlace peptídico es energéticamente favorable ($\Delta G^\circ = -2 \text{ kcal.mol}^{-1}$); sin embargo, la energía de activación para la reacción no catalizada en condiciones normales – solución acuosa neutra y temperatura ambiente– es tan elevada, que la velocidad de reacción puede demorarse algunos meses, antes que se puedan detectar los productos. Esto hace que los procedimientos empleados para la hidrólisis de proteínas sean realmente drásticos. Los bioquímicos pueden hidrolizar de forma química las proteínas mediante una solución 6 M de ácido clorhídrico, en un ampolla al vacío a 100 °C durante 24 h; sin embargo, algunas enzimas como la quimotripsina o la tripsina catalizan la hidrólisis a 37°C; en pH neutro y según la proteína utilizada como sustrato, cada molécula de enzima puede hidrolizar hasta 100 enlaces peptídicos por segundo. Prueba de ello es el proceso digestivo, pues apenas una hora después de ingerir una comida rica en proteínas, es posible detectar sus aminoácidos en la sangre.

En muchas ocasiones, para la realización de estas transformaciones es suficiente con la participación de la proteína enzimática, pero en otros casos se requiere el concurso de otros elementos que reciben el nombre de cofactores, estos pueden ser iones inorgánicos o compuestos orgánicos de bajo peso molecular; en este último caso reciben el nombre de coenzimas. Si bien la proteína enzimática vuelve al estado inicial al final de la misma reacción, las coenzimas requieren de una reacción posterior. Las proteínas enzimáticas y sus cofactores correspondientes constituyen los sistemas biocatalíticos.

Las especificidades de acción y de sustrato están determinadas fundamentalmente por la parte proteínica del sistema biocatalítico, como lo demuestra la existencia de cofactores que actúan con enzimas que difieren en el tipo de reacción que catalizan y en el sustrato que transforman; también la sensibilidad a la temperatura, a los cambios de la concentración de H⁺ y la solubilidad corresponden a la parte proteínica y no a los cofactores; sin embargo, los cofactores influyen de forma importante en la eficiencia y las propiedades cinéticas de los sistemas biocatalíticos.

Mecanismo básico de acción de las enzimas

Las reacciones catalizadas por enzimas ocurren, al menos, en dos etapas: la de unión y la de transformación.

Aún cuando cada enzima al catalizar una reacción lo hace de una forma particular, existen algunos hechos que son de tipo general y se manifiestan en todas las enzimas.

Todas las reacciones enzimáticas se realizan, al menos, en dos etapas, una primera en la cual se produce la unión física entre la enzima (E) y el sustrato (S), que da origen al complejo enzima-sustrato (ES) y se forma de manera reversible, o sea, puede descomponerse nuevamente, dando origen al sustrato y a la enzima libre. No debe confundirse el complejo enzima-sustrato con el complejo activado que fue estudiado en el capítulo anterior.

Una vez formado el complejo enzima-sustrato este puede realizar la transformación del sustrato, dando origen al producto (P) y a la enzima libre que está en condiciones de volver a iniciar el proceso (Fig. 15.1).



A la etapa número 1 le llamamos etapa de unión y a la número 2 de transformación. La actividad de las enzimas puede ser modificada al alterarse la etapa 1, la 2 o ambas. Esta es una representación simplificada, pues es posible suponer la existencia de otros complejos intermedios, sobre todo cuando en la reacción intervienen cofactores o más de un sustrato.

El punto crucial de este mecanismo básico es la existencia del complejo enzima-sustrato, que fue propuesta por primera vez por Henrÿen 1905, y a partir de ese momento se han reunido una serie importante de indicios acerca de su presencia:

1. Las propiedades físicas de las enzimas, como su solubilidad y estabilidad al calor , cambian frecuentemente con la formación del complejo enzima-sustrato.
2. Las características espectroscópicas de muchas enzimas y sustratos cambian con la formación del complejo ES, de la misma forma que el espectro de absorción de la hemoglobina cambia al unirse con el oxígeno. Otras técnicas espectroscópicas, como la resonancia magnética nuclear y la resonancia magnética electrónica, son también muy informativas acerca de las interacciones ES.
3. Los complejos ES algunas veces han podido ser aislados en forma pura. Para una enzima que cataliza la reacción



a veces es posible aislar un complejo EA, si la enzima tiene afinidad suficiente poA y se incuba en ausencia de B.

4. La formación del complejo ES muestra un elevado grado de especificidad, por ejemplo, la D-serina no es sustrato de la triptófano sintetasa, que utiliza Lserina; el isómero D ni siquiera se une a la enzima; esto supone que el lugar de unión del sustrato tiene una forma muy definida.
5. Algunos complejos ES se han visualizado directamente por microscopía electrónica y por difracción de rayos X. Los complejos de ácidos nucleicos y sus enzimas polimerasas se observan de manera fácil en microfotografías electrónicas.

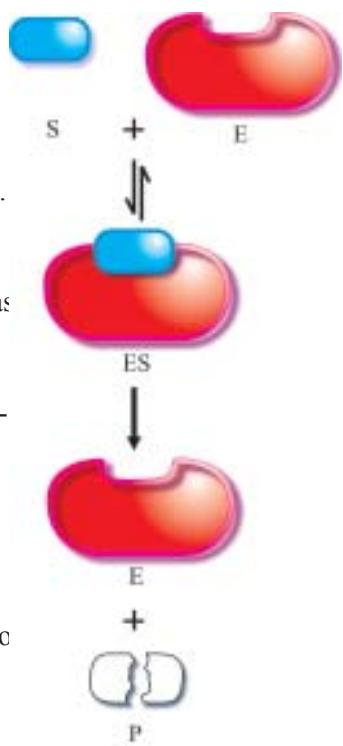


Fig. 15.1. El complejo enzima-sustrato. Durante la reacción catalizada por una enzima, esta forma un complejo intermedio con el sustrato. La unión de la enzima con el sustrato es muy específica y constituye un paso obligado para la formación de los productos.

La comprobación de la existencia del complejo enzima-sustrato orientó la búsqueda de las características de las enzimas que permiten su formación; los resultados se exponen a continuación.

Centro activo

La unión y transformación del sustrato ocurre en un sitio específico de la superficie de la enzima, denominado centro activo.

La existencia del complejo enzima-sustrato y la característica de que la mayoría de los sustratos presentan un tamaño varias veces menor que la estructura de la enzima, implican que la enzima solo entra en contacto con el sustrato, en una pequeña zona específica de su voluminosa estructura; esto se confirma con algunos experimentos en los cuales se eliminaban varios aminoácidos de las enzimas, sin alterar su función.

Las proteínas enzimáticas presentan dos regiones o sitios importantes, uno de estos reconoce y liga al sustrato (sitio de reconocimiento) y el otro cataliza la reacción (sitio catalítico) toda vez que el sustrato se ha unido. Estos dos sitios están adyacentes uno al otro en la forma activa de la enzima y, en ocasiones, el sitio catalítico es parte del de reconocimiento; estas dos regiones, en conjunto, reciben el nombre de centro activo.

Aunque las enzimas difieren mucho en estructura, especificidad y modo de catálisis, se puede establecer un número de generalizaciones con respecto a la estructura de los centros activos (Fig. 15.2):

1. El centro activo representa una porción pequeña del volumen total de la enzima; muchos de los residuos de aminoácidos de la enzima no entran en contacto con el sustrato.
2. El centro activo de una enzima tiene un conjunto de grupos químicos, ordenados espacialmente de forma precisa; esto hace que el sustrato quede unido al centro activo de forma tan íntima que casi ninguna otra molécula puede unirse.
3. El centro activo es una entidad tridimensional, este se presenta generalmente como una cavidad, constituida según los plegamientos que la cadena polipeptídica forma al establecer su estructura terciaria.

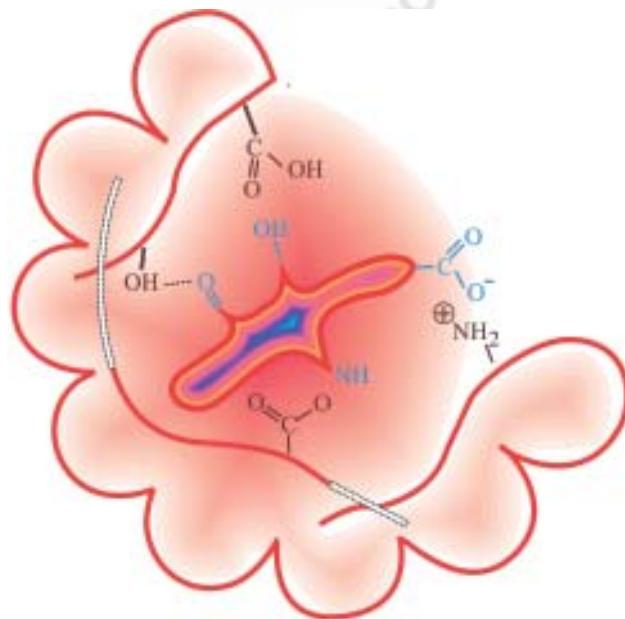


Fig. 15.2. Estructura del centro activo. Gracias al plegamiento de la cadena polipeptídica se forma una cavidad que posee una estructura tridimensional, complementaria a la del sustrato. El centro activo contiene grupos específicos que sirven, unos para la unión del sustrato y otros para su transformación.

4. Los aminoácidos de las dos regiones del centro activo no necesariamente están adyacentes unos a otros en la cadena polipeptídica lineal; el acercamiento se produce como consecuencia del plegamiento de la cadena.
5. El centro activo está situado superficialmente en la enzima, permite el acceso de las moléculas del sustrato con relativa facilidad.
6. Los grupos que intervienen en la formación del centro activo realizan diferentes funciones.

En la estructura del centro activo se pueden distinguir varios componentes, cada uno de los cuales contribuye a la función general, pero de forma diferente:

1. Eje peptídico. Formado por la parte monótona de la estructura polipeptídica, cuyos pliegues y repliegues contribuyen de manera importante a dar la forma tridimensional del centro activo.
2. Grupos de ambientación. Son cadenas laterales de aminoácidos que se encuentran en el centro activo y son de naturaleza apolar, contribuyen a que este presente características que no permitan la entrada del agua; esta característica provoca cambio en las propiedades catalíticas de otros grupos y, además, permite que se refuerzen las interacciones débiles entre la enzima y el sustrato.
3. Grupos de fijación. También son cadenas laterales de aminoácidos que presentan grupos funcionales capaces de establecer interacciones específicas con el sustrato; estas interacciones suelen ser de tres tipos fundamentales.

El sustrato se une al centro activo mediante interacciones débiles:

- a) Puentes de hidrógeno que se establecen entre grupos polares de las cadenas laterales de los aminoácidos serina, treonina, tirosina, etc., con grupos polares del sustrato.
- b) Enlaces salinos o iónicos que pueden formarse entre grupos que presentan cargas eléctricas de la cadena lateral de los aminoácidos aspártico, glutámico, histidina, arginina y lisina, con grupos de carga opuesta en el sustrato.
- c) Fuerzas de Van der Waals o fuerzas residuales que se establecen entre grupos del centro activo y del sustrato, que se localizan muy cerca unos de otros y no tienen características que les permitan otro tipo de interacción.

Debido a que el agua tiene una constante dieléctrica muy elevada, la ausencia de agua en el centro activo hace que estas interacciones, que de por sí son débiles, sean algo más fuertes que en un ambiente polar.

Los puentes de hidrógeno son también un factor importante en la orientación del sustrato en su entrada al centro activo, pues estos tienen carácter direccional que no poseen las demás interacciones.

Estos tres componentes (eje peptídico, grupos de ambientación y grupos de unión) son determinantes en la etapa de unión de la enzima con el sustrato. Esta unión está determinada por dos factores principales, la complementariedad espacial o estérica que se establece entre la conformación del centro activo y la estructura del sustrato, así como la complementariedad química entre los grupos del centro activo y los del sustrato.

4. Grupos catalíticos. Al igual que los anteriores son cadenas laterales de aminoácidos que participan en la estructura del centro activo, pero son los que están implicados de forma directa en la transformación del sustrato; los que cumplen con mayor frecuencia esta función son el imidazol de la histidina y el hidroxilo de la serina, también han sido demostrados el grupo sulfhidrilo (SH) de la cisteína y el carboxilo del aspártico, o del glutámico.

Estos son los grupos que intervienen en la segunda etapa de la reacción o etapa de transformación; sin embargo, no se puede olvidar que si la primera etapa no se realizó satisfactoriamente, la segunda etapa se verá también alterada, pues no puede haber una adecuada transformación si la unión ha sido deficiente.

El centro activo es una estructura dinámica. Si las fuerzas que mantienen la estructura del centro activo son fundamentalmente interacciones débiles, en un conjunto de moléculas de una misma enzima existirán centros activos que presenten diferentes estados conformacionales interconvertibles, desde aquellos que facilitan mucho la unión al sustrato, hasta los que casi no permiten la entrada del sustrato, pasando por todos los estados intermedios imaginables.

Formación del complejo enzima-sustrato

El complejo enzima-sustrato es un intermediario obligado en las reacciones catalizadas por enzimas.

Se han postulado dos hipótesis para explicar la formación del complejo enzima-sustrato, las denominadas de la llave y la cerradura, así como la de adaptación inducida.

La unión del sustrato con la enzima puede implicar mantener juntas dos moléculas que presentan una estructura complementaria desde el punto de vista espacial o químico, o ambos, en un complejo que se estabiliza por un número variado de interacciones débiles. Como este tipo de acoplamiento recuerda al que se produce entre una llave y su cerradura, para describir esta unión se dice que se produce por un mecanismo así denominado *lock and key*. Para que este mecanismo se produzca el centro activo debe poseer una estructura tridimensional complementaria al sustrato, aun en ausencia de este.

Sin embargo, en algunas enzimas la estructura complementaria del centro activo solo existe cuando está unido el sustrato; la unión de este induce un cambio conformacional en la enzima, hace que los residuos catalíticos adopten la posición adecuada, lo cual significa que a medida que el sustrato penetra en el centro activo este adquiere su forma funcional óptima. Las moléculas que se unen al sitio de reconocimiento de la enzima, pero no inducen ese cambio conformacional, no son sustratos de la enzima; de esta forma una enzima puede diferenciar un sustrato de un no sustrato por dos factores, primero, si la sustancia puede unirse a la enzima y segundo, si puede provocar el cambio conformacional pertinente. Cuando las dos condiciones se cumplen se dice que el mecanismo de unión es por adaptación inducida.

La glucoquinasa es un ejemplo interesante de este tipo de mecanismo; esta enzima cataliza la transferencia de un grupo fosfato del ATP a la glucosa y algunas otras hexosas. Algunos estudios de cristalografía de rayos X han demostrado que estructuralmente la enzima está formada por dos lóbulos; la unión de la glucosa induce un cambio conformacional grande que aproxima los dos lóbulos y crea un sitio catalítico funcional (Fig. 15.3). Solo la glucosa y otras moléculas de estructura muy similar pueden inducir el cambio conformacional que asegura que la enzima fosforile a sustratos correctos. Algunas sustancias como el glicerol, la ribosa y aun el agua pueden unirse a la enzima en el sitio de reconocimiento, pero ninguna de estas induce el cambio conformacional requerido y por tanto no son sustratos de la enzima.

Estudios de la formación del complejo enzima-sustrato en numerosas enzimas han puesto de manifiesto que algunas de estas funcionan según el mecanismo llave-cerradura, en tanto, otras lo hacen por adaptación inducida.

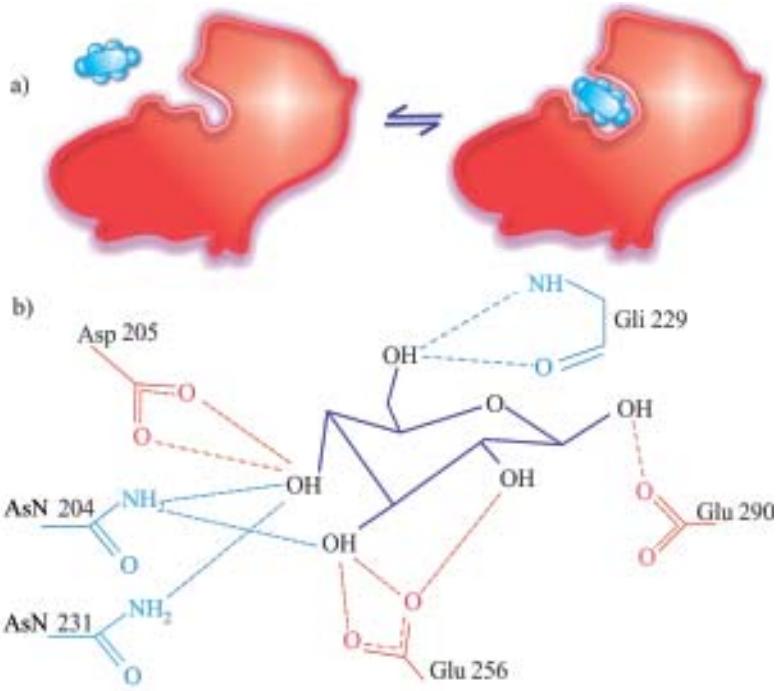


Fig. 15.3. Adaptación inducida en la glucoquinasa. La enzima está formada por una sola cadena polipeptídica que adopta una estructura tridimensional, formada por dos lóbulos que delimitan una profunda depresión donde está localizado el centro activo, al unirse con el sustrato se produce la transconformación de la enzima que provoca un acercamiento entre los dos lóbulos, por lo que el sustrato queda atrapado como se muestra en (a). En (b) aparecen los grupos del centro activo que forman puentes de hidrógeno con la glucosa. Obsérvese que estos grupos pertenecen a los aminoácidos que no ocupan posiciones consecutivas en la cadena polipeptídica.

Mecanismos de la catálisis

Las enzimas hacen posible una vía diferente para la reacción que tiene una menor energía de activación. Los factores que disminuyen esa energía suelen ser múltiples.

El asombroso incremento de la velocidad de las reacciones que logran las enzimas escapa a las explicaciones clásicas de este fenómeno en el mundo inanimado. Ha sido necesario un estudio minucioso de la forma en que actúan enzimas específicas, además de modelaciones experimentales y trabajos de investigación teórica para tener una explicación aproximada de por qué las enzimas tienen la capacidad de incrementar de forma tan notable, la velocidad de las reacciones; se han identificado numerosos factores que pueden influir en la acción de los catalizadores, pero en este momento solo se mencionarán aquellos que están más relacionados con el funcionamiento de las enzimas, los llamados efectos de aproximación, inmovilidad y orientación.

Cuando el sustrato se aloja en el centro activo, lo hace de una manera forzada, con cierto grado de distorsión de la estructura, que puede provocar la aproximación de grupos reactivos del sustrato y favorecer el desarrollo de la reacción; este efecto es aún más evidente en las reacciones con dos sustratos, los cuales al asociarse sobre la superficie de la enzima quedan muy próximos y de esta forma se facilita la reacción.

Las estructuras químicas son dinámicas; los grupos químicos poseen movimientos de rotación alrededor de los enlaces simples; esta movilidad puede dificultar las reacciones, pues se requiere que los grupos se mantengan fijos en una posición, al menos durante un periodo breve. Al unirse al centro activo, la enzima limita considerablemente la movilidad de los grupos del sustrato, esta inmovilidad momentánea es un factor favorable para el desarrollo de la reacción.

Por último, las sustancias para reaccionar no solo necesitan aproximarse, también se requiere que ese acercamiento se realice con una determinada orientación para que se favorezca la formación de los enlaces que determinan el desarrollo de la reacción. La íntima relación que se establece entre la enzima y el sustrato asegura que este quede situado con la orientación más favorable para la reacción; de nuevo este efecto es aún más evidente en las reacciones con dos sustratos.

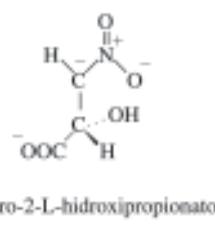
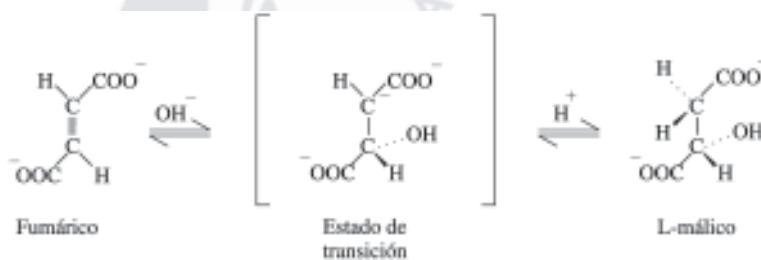
Algunos análisis teóricos y estudios experimentales han demostrado que cada uno de estos efectos por sí no pueden explicar los incrementos de velocidad observados en las reacciones enzimáticas, aun cuando al actuar de manera simultánea se potencian unos a otros.

Teniendo en cuenta los efectos estudiados anteriormente, los incrementos de la velocidad de la reacción que logran las enzimas, son mucho mayores que los esperados, de acuerdo con los mecanismos anteriores. Una hipótesis para su explicación fue enunciada inicialmente por Linus Pauling en 1948 y desarrollada más tarde por otros investigadores; según ellos, la enzima en realidad no se une al sustrato propiamente dicho, sino al estado de transición o complejo activado de la reacción, provocando un aumento en la concentración de este, con lo cual, como fue estudiado en el capítulo 14, se incrementa la velocidad de la reacción.

Esta situación puede lograrse al menos de dos formas, bien la enzima se une directamente al estado de transición con una elevada afinidad, o durante el proceso de unión la enzima obliga al sustrato a adquirir la estructura del estado de transición, al crear en este tensiones estéricas que lo obligan a adoptar esta estructura; aunque durante un tiempo se pensó que la segunda opción era la correcta, investigaciones posteriores apoyan más la primera alternativa.

Esta hipótesis ha recibido evidencias experimentales con el uso de sustancias, cuyas estructuras semejan la del estado de transición de algunas reacciones a las cuales se les ha denominado análogos del estado de transición. La similitud estructural que estos análogos tienen con el sustrato natural de la enzima hace que puedan unirse rápido y con elevada afinidad a la enzima, pero sus diferencias les impiden ser transformados por la enzima; por tanto, estos análogos del estado de transición actúan como eficientes inhibidores competitivos de la enzima. Para el estudio de los inhibidores enzimáticos debe consultarse el capítulo 16.

Tomando como ejemplo la reacción de la fumarasa pueden ilustrarse los conceptos que se acaban de enunciar; esta enzima cataliza la hidratación reversible del ácido fumárico y forma ácido L-málico, con la participación de un carboanión como estado de transición.



Un análogo del estado de transición como el 3-nitro-2-L-hidroxipropiónico es un excelente inhibidor de la fumarasa y se une a la enzima con una afinidad que es 1 1 000 veces mayor que la del L-málico. Experimentos como este apoyan la idea de que la enzima se une al estado de transición y no al sustrato, lo cual explicaría el incremento notable de la velocidad que se observa en las reacciones catalizadas de manera enzimática; esta teoría ha permitido diseñar compuestos que se unen a enzimas específicas con mucha mayor afinidad que sus sustratos, algunos de estos compuestos se emplean como medicamentos.

Modificaciones del centro activo

Varios agentes pueden modificar la estructura del centro activo y con ello modificar la velocidad de las reacciones enzimáticas

La estructura del centro activo es dinámica y constantemente sufre procesos de transconformación, para lo cual, como ya se ha estudiado, no precisa la ruptura de enlaces covalentes, solo de interacciones débiles; sin embargo, debido a estas mismas características estructurales del centro activo existen numerosos agentes que pueden provocar transconformaciones más drásticas, que implicarían alteraciones y por tanto, afectarían la función de la enzima.

Todos los agentes capaces de modificar la estructura tridimensional de las proteínas al actuar sobre las enzimas provocarían la distorsión del centro activo, que como se ha visto depende de la estructura terciaria de las enzimas; es por ello que todos los agentes desnaturalizantes afectan la actividad enzimática. Esta característica ha determinado el amplio uso de agentes desnaturalizantes para detener reacciones enzimáticas en el laboratorio.

Por otra parte, los agentes como la concentración de iones hidrógeno (medida como pH), modifican el grado de disociación de los grupos ionizables de las cadenas laterales de los aminoácidos, pueden alterar la distribución de cargas eléctricas del centro activo y por tanto modificar la actividad de las enzimas; también pueden alterar el estado de ionización del sustrato y traer consecuencias similares sobre la velocidad de la reacción.

La presencia en la solución de análogos del sustrato sustancias relacionadas estructuralmente con el sustrato de la enzima, pero que no son susceptibles de ser transformados por la enzima— puede ocasionar una pérdida de la actividad enzimática si estas sustancias llegan a unirse al centro activo y lo mantienen ocupado. Por otra parte la existencia de compuestos químicos, capaces de reaccionar específicamente con grupos del centro activo y modificarlos, pudiera alterar la acción de las enzimas. En ocasiones la modificación que determinado grupo produce en la enzima provoca la abolición permanente de la actividad catalítica de la proteína enzimática, lo que ha hecho que este tipo de sustancia se le denomine sustratos “suicidas”.

De todo lo anterior se puede afirmar que la actividad catalítica presente en una preparación enzimática dependerá de la concentración de centros activos útiles, o sea, el número de centros activos por unidad de volumen, unidos al sustrato o que no presentan ninguna alteración que les impida unirse.

Especificidad de las enzimas

Las enzimas reconocen un solo sustrato y solo catalizan una de las transformaciones posibles de ese sustrato.

Desde el punto de vista estructural las enzimas difieren del resto de las proteínas por la existencia del centro activo, por ello, las propiedades particulares de las enzimas son aquellas que derivan del centro activo.

Teniendo en cuenta las características estructurales y funcionales del centro activo se infiere que a un centro activo determinado solo podrá unirse un sustrato (o un número muy limitado de estos, que presenten una estructura muy similar), a esta propiedad del centro activo, y por tanto de las enzimas, se le denomina especificidad de sustrato.

La especificidad de sustrato puede ser absoluta, cuando solo existe un sustrato capaz de ocupar el centro activo de la enzima; o relativa, si se trata de un grupo de sustratos. Aún en este último caso se observa que la unión de sustratos diferentes no se produce con igual fortaleza, lo cual manifiesta que la enzima presenta una afinidad distinta por cada uno de los sustratos, y en la mayoría de los casos se destaca uno de ellos como el más afín. Como ya fue estudiado, las dos hipótesis de formación del complejo enzima-sustrato permiten explicar de manera adecuada la especificidad de sustrato de las enzimas.

Una vez que se ha producido la unión del sustrato al centro activo, solo alguno de los enlaces del sustrato quedará al alcance de los grupos catalíticos de la enzima; de esta

forma la enzima podrá realizar una transformación de ese sustrato, aunque este sea susceptible de varias transformaciones, a esta propiedad del centro activo y por tanto de la enzima se le da el nombre de especificidad de acción.

Por ejemplo, el ácido glutámico puede experimentar una reacción α -descarbo-xilación y producir ácido γ -aminobutírico, también una desaminación o transaminación para originar ácido α -cetoglutárico; para cada reacción hace falta una enzima específica, todas con la misma especificidad de sustrato (ácido glutámico), pero con diferente especificidad de acción. Casi siempre las enzimas que tienen una elevada especificidad de acción y de sustrato resultan ser enzimas claves en el metabolismo celular.

Considerando que la unión enzima-sustrato es muy específica y que una vez formado el complejo es una de las transformaciones posibles la que se lleva a cabo, podemos derivar una característica general del funcionamiento de los biocatalizadores. En todas las reacciones biocatalizadas se obtiene siempre el número máximo de moléculas del producto a partir del sustrato, sin que en las reacciones aparezcan productos secundarios, como es frecuente en reacciones no catalizadas por enzimas; esta regularidad de los procesos biológicos moleculares es el contenido esencial del principio de máxima eficiencia.

Centro activo de la quimotripsina y la tripsina

La estructura y el mecanismo de acción de la quimotripsina y la tripsina se conocen detalladamente, ambas enzimas se sintetizan en el páncreas en forma de precursores inactivos (zimógenos), denominados quimotripsinógeno y tripsinógeno, respectivamente. La activación del quimotripsinógeno tiene lugar en el intestino delgado, donde se forma la quimotripsina que funciona al igual que la tripsina, hidrolizando enlaces peptídicos de las proteínas ingeridas como parte del proceso digestivo. Dos rupturas proteolíticas irreversibles activan el zimógeno, una elimina la serina 14 y la arginina 15 del quimotripsinógeno y otra, la treonina 147 (Fig. 15.4). Esta activación en el intestino tiene la ventaja de prevenir que la enzima pueda degradar el tejido pancreático que la produce.

La quimotripsina no hidroliza todos los enlaces peptídicos, más bien es selectiva para aquellos donde participa el grupo carboxilo de fenilalanina, tirosina o triptófano (Fig. 15.5). La tripsina, por el contrario, es específica para los enlaces, donde el grupo carboxilo lo aportan la lisina o la arginina.

El mecanismo de acción de la quimotripsina fue determinado a partir de su estructura tridimensional, estudiada por cristalografía de rayos X; la enzima contiene tres cadenas polipeptídicas A, B y C con 13, 131 y 97 aminoácidos cada una, unidas por enlaces disulfuros.

En la molécula se destacan dos aspectos estructurales importantes, el centro activo y una hendidura o “bolsón”, creada por las cadenas laterales de varios aminoácidos hidrofóbicos; esta hendidura hidrofóbica sirve de sitio de unión para residuos de aminoácidos específicos del sustrato. La conformación de este bolsón permite a los residuos alineados en él, participar en interacciones hidrofóbicas con las cadenas laterales de fenilalanina, tirosina y triptófano. En estas interacciones no pueden participar cadenas laterales con cargas eléctricas, ni grupos apolares pequeños.

Los residuos apolares de las proteínas globulares están escondidos hacia el interior; cuando esas proteínas están en su estado nativo, los enlaces peptídicos que unen aminoácidos apolares no son accesibles a la hidrólisis por la quimotripsina. En condiciones normales el ácido clorhídrico del estómago desnaturaliza las proteínas ingeridas, y las proteasas de este órgano degradan parcialmente las proteínas antes de quedar expuestas al pH neutro del intestino para su posterior digestión por la quimotripsina.

La actividad catalítica de la quimotripsina depende de tres residuos de aminoácidos: histidina 57, aspártico 102 y serina 195; estos aminoácidos están distantes unos de otros en la estructura primaria de la proteína, pero en la molécula activa el plegamiento es tal

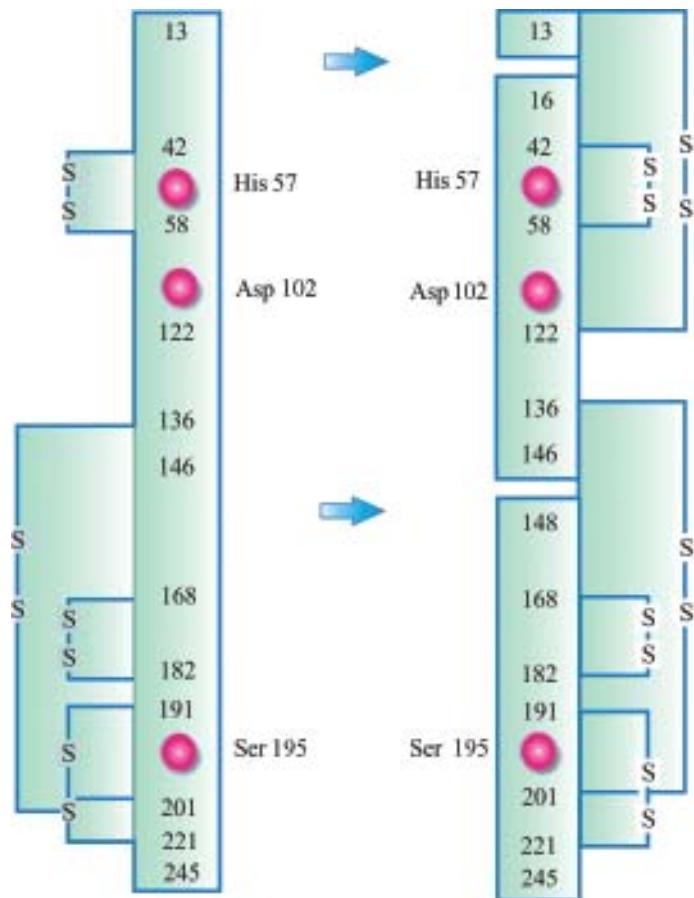


Fig. 15.4. Activación del quimotripsinógeno. El páncreas segregá el quimotripsinógeno hacia el duodeno, donde ocurre su transformación en quimotripsina. Esta activación se produce por la separación de los aminoácidos que ocupan las posiciones 14, 15 y 147, de esta manera la molécula queda formada por tres cadenas polipeptídicas, unidas por puentes disulfuros.

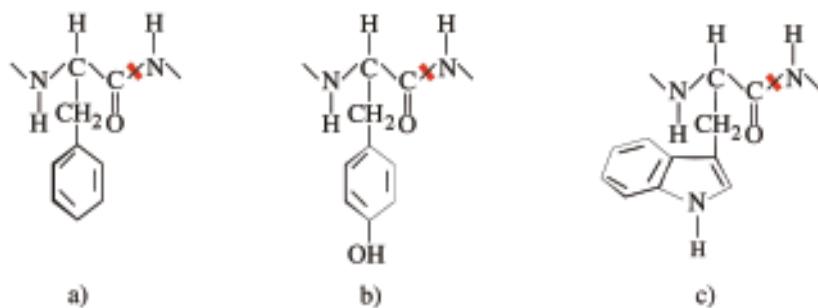


Fig. 15.5. Especificidad de la quimotripsina. La quimotripsina tiene una acción selectiva sobre los enlaces peptídicos donde participa el grupo carboxilo de la fenilalanina a), tirosina b) y triptófano c). La estructura cíclica, presente en la cadena R de estos aminoácidos, se acomoda en un profundo "bolsón" que rodea el centro catalítico de la enzima.

que las tres cadenas laterales están muy cerca y en posición correcta para catalizar la hidrólisis del enlace peptídico en la proteína que se une a la enzima. Cuando el quimotripsinógeno se activa, la conformación del polipéptido se altera y distribuye estos tres residuos en la organización correcta.

La reacción de hidrólisis comprende varias etapas, entre estas la formación de un complejo covalente entre la enzima y el sustrato. Primero, se produce la ruptura del enlace peptídico y el grupo carboxilo se transfiere al grupo -OH de la serina 195



segundo, este intermediario acilenzima es hidrolizado



El aspártico 102 y la histidina 57 facilitan la reacción de acilación porque, primero, promueven la separación de un protón de la serina 195 y después lo añaden al grupo amino del péptido producto. De una forma similar el aspártico 102 y la histidina 57 facilitan la hidrólisis del intermediario acilenzima (Fig. 15.6).

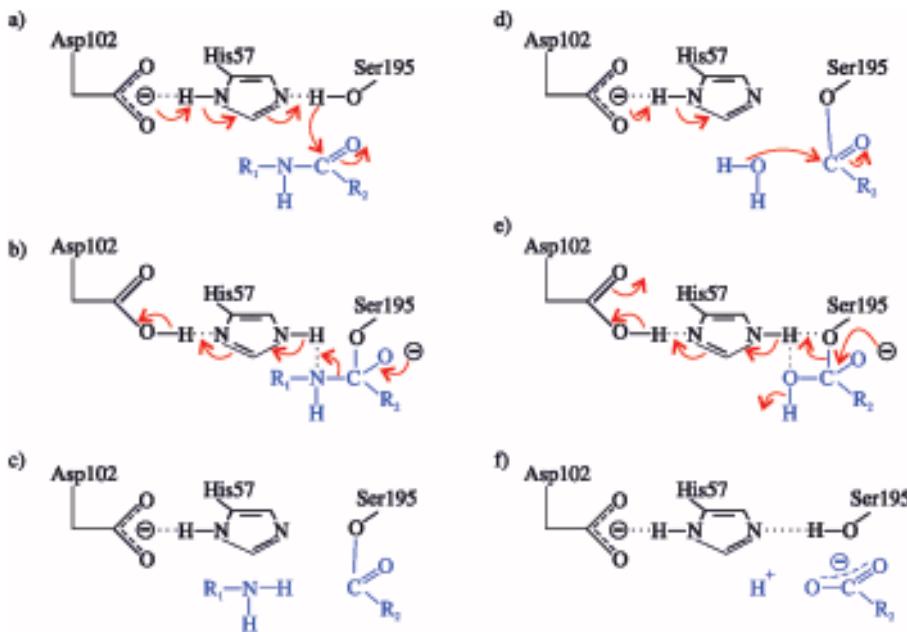


Fig. 15.6. Mecanismo de acción de la quimotripsina. En el centro activo de la quimotripsina se crea un corrimiento de cargas que promueven la transferencia de un protón entre la enzima y el sustrato, con formación de un intermediario acilenzima; este movimiento de electrones sucede entre tres aminoácidos que forman el centro activo y , como en otros casos ya estudiados, no se encuentran localizados de forma consecutiva en la estructura primaria de la enzima. Esta ruta disminuye de manera considerable la energía de activación de la reacción, que puede entonces ocurrir en condiciones moderadas de temperatura y pH.

Estos pasos catalizados por la enzima –transferencia de un protón desde la enzima al sustrato, formación de un intermediario covalente acilserina y la hidrólisis del acilenzima– reducen drásticamente la energía de activación total de la reacción de proteólisis.

Una comparación entre la quimotripsina y la tripsina resulta muy útil para enfatizar en la naturaleza de la especificidad de las reacciones catalizadas por enzimas; aproximadamente el 40 % de los aminoácidos de estas dos moléculas son los mismos, en particular la secuencia alrededor del residuo clave de serina

Gli-asp-ser-gli-gli-pro

La estructura tridimensional y el mecanismo de la catálisis son también muy similares, lo cual sugiere que ambos han surgido de forma evolutiva de un polipéptido ancestral común; la principal diferencia está en las cadenas laterales de los aminoácidos que se encuentran en el sitio de unión del sustrato. Los aminoácidos con carga negativa que ocupan esta área en la molécula de tripsina facilitan la unión de cadenas laterales de aminoácidos con carga positiva (arginina, lisina) en vez de los hidrofóbicos.

Clasificación y nomenclatura de las enzimas

La clasificación de las enzimas se basa en la reacción global que estas catalizan.

De lo estudiado hasta el momento se deduce que hay dos propiedades fundamentales de las enzimas y todas estas derivan de las características del centro activo: gran eficiencia catalítica y elevada especificidad; esta última, en sus dos aspectos, es la que sirve de fundamento a la clasificación y nomenclatura de las enzimas.

Clasificación. Se toma como fundamento la especificidad de acción, con lo cual se establecen seis grupos principales, teniendo en cuenta la reacción global que estas catalizan; estos grupos o clases principales se dividen en subclases y subsubclases, según otras características del tipo de reacción, como son los grupos involucrados, los cofactores necesarios, etcétera.

Los grupos principales y su definición son:

1. Oxidorreductasas. Son aquellas enzimas que catalizan las reacciones de oxidorreducción, o sea, la transferencia de electrones o sus equivalentes entre un donante y un acceptor.
2. Transferasas. Catalizan la transferencia de un grupo químico entre un donante y un acceptor; se excluyen aquellas que transfieren electrones o sus equivalentes, pues pertenecen a la clase anterior, y aquellas en que el acceptor del grupo es el agua, pues pertenecen a la clase siguiente.
3. Hidrolasas. Catalizan la ruptura de enlaces químicos con la participación de las moléculas del agua.
4. Liasas. Catalizan reacciones en las cuales se produce la adición o sustracción de grupos químicos a dobles enlaces.
5. Isomerasas. Catalizan la interconversión de dos isómeros.
6. Ligasas. Catalizan la unión covalente de dos sustratos mediante la energía de hidrólisis de nucleósidos trifosfatados, generalmente el ATP.

Nomenclatura. Existen dos tipos de nomenclatura: la sistemática y la recomendada. La sistemática utiliza los grupos principales, describe la reacción y solo se utiliza en revistas y textos científicos, donde se requiere de un elevado grado de precisión; para su uso existe un código de cuatro números, donde el primero representa la clase, el segundo la subclase, el tercero la subsubclase y el cuarto el número de orden de la enzima, que aparece en una relación publicada por la Comisión de Enzimas de la Unión Internacional de Bioquímica y Biología Molecular, donde los autores deben consultar cada vez que van a emplearla.

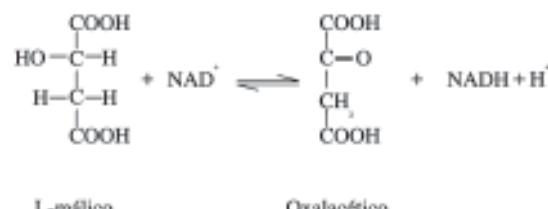
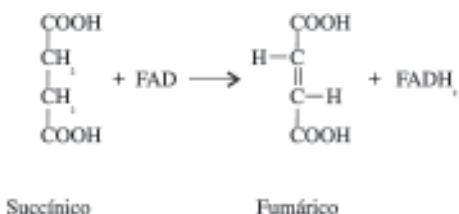
La recomendada viene a ser una forma abreviada de la sistemática; su uso es común, sobre todo en textos para estudiantes; en ambos casos se tiene en cuenta tanto la especificidad de acción como la de sustrato y el nombre de la enzima termina en el sufijo -asa, por ejemplo, para la reacción:



El uso de la nomenclatura sistemática nos llevaría al nombre siguiente: lactato:NAD-oxidorreductasa, o sea, que prácticamente describe la reacción.

La nomenclatura recomendada tiene en cuenta la especificidad de sustrato, en este caso para el lactato, y la especificidad de acción, se trata de una deshidrogenación, por tanto el nombre de la enzima sería lactato deshidrogenasa. Para poder utilizar la nomenclatura recomendada, que se utiliza en este libro, es necesario conocer algunos subgrupos de enzimas como:

1. Entre las oxidorreductasas:
 - a) Deshidrogenasas. Sustraen átomos de hidrógeno (casi siempre dos) de los sustratos y los transfieren a una molécula aceptora que no es el oxígeno.



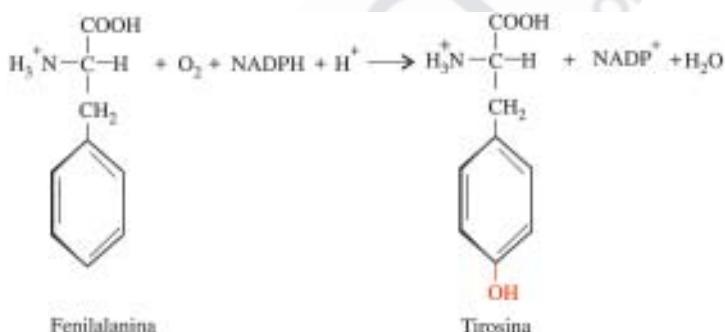
En el primer caso se trata de la succínico deshidrogenasa, en el segundo de la málico deshidrogenasa.

b) Oxidasas. Oxidan los sustratos mediante el oxígeno, como acceptor de electrones.



Esta reacción la cataliza la aminoácido oxidasa.

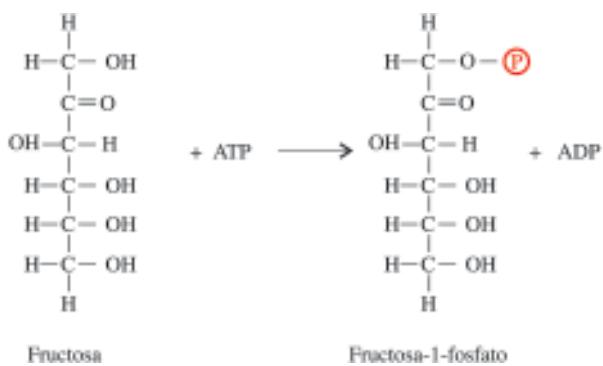
c) Hidroxilasas. Catalizan la introducción de funciones hidroxilo en sus sustratos utilizando oxígeno molecular como donante.



Esta reacción es catalizada por la fenilalanina hidroxilasa.

2. Entre las transferasas tenemos:

a) Quinasas. Catalizan reacciones de transferencia de grupos fosfatos, donde intervienen nucleósidos di y trifosfatados.

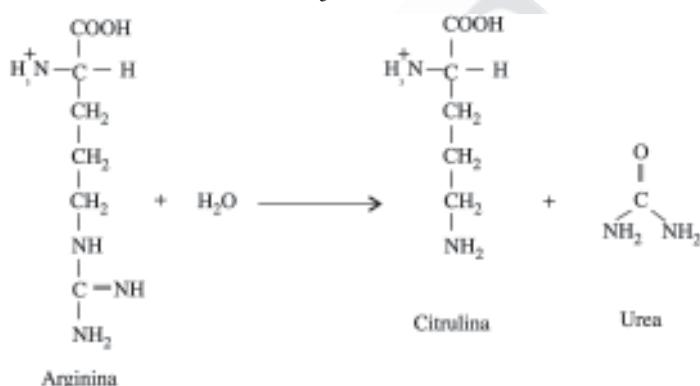




La primera reacción es catalizada por la fructoquinasa y la segunda por la glicerico-quinasa.

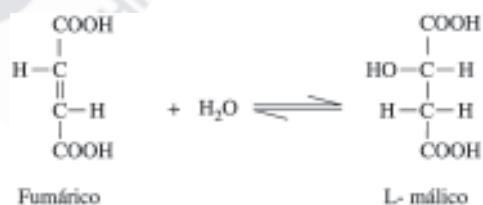
El resto de las transferasas reciben nombres derivados del grupo que transfieren (transaminasas de grupos amino, transmetilasas de metilos, transcarboxilasas de carboxilos, etcétera).

3. El grupo de las hidrolasas es el más simple para nombrar , pues basta con hacer terminar el nombre del sustrato en el sufijo asa.

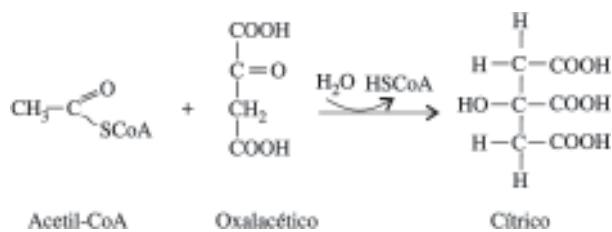


Esta enzima se denomina arginasa.

4. Las liasas son las más difíciles de nombrar por ejemplo las hidratadas, que adicionan agua a los dobles enlaces.

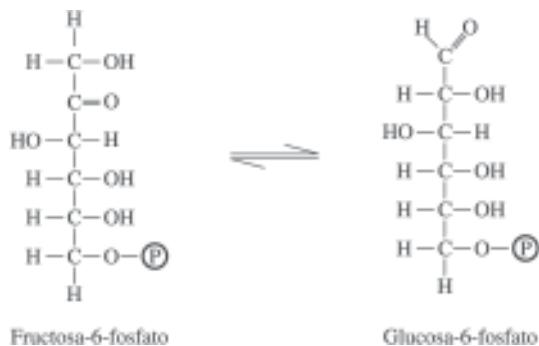


Esta enzima se nombra fumárico hidratasa o simplemente fumarasa, aunque este último nombre no es correcto. Cuando actúan en reacciones biosintéticas reciben el nombre de sintetas.



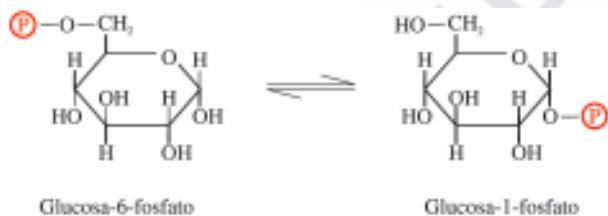
Se nombra como cítricosintasa.

5. Las isomerasas reciben diferentes nombres, según los tipos de isómeros que intervienen en la reacción. Como regla se reserva el nombre de isomerasa para las enzimas que interconvierten isómeros de función.



La enzima es la fosfohexosa isomerasa.

Las que interconvierten isómeros de posición se designan mutasas.



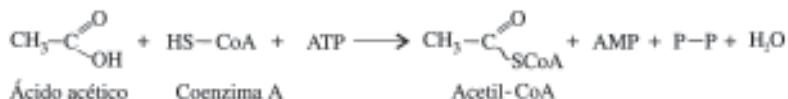
En este caso se denomina fosfoglucomutasa.

Las que interconvierten epímeros se denominan epimerasas.



En este caso será la galactosa fosfato epimerasa.

6. A las ligas se les conoce en general como sintetasas y para nombrarlas generalmente se utiliza el nombre del producto en vez del sustrato, la acetil-CoA sintetasa cataliza la reacción siguiente:



Hace unos años la Comisión de Enzimas recomendó utilizar el término ligasas para estas enzimas y el de sintetasas para las liasas, pero como esta recomendación aún no se ha generalizado, en este texto se seguirá la denominación anterior.

Siempre se debe recordar que las enzimas son proteínas cuya función es la de catalizar reacciones, por tanto, debe existir una correspondencia entre el nombre de la enzima y la reacción que estas catalizan, pues conociendo la reacción se puede deducir el nombre, y a partir del nombre puede inferirse la reacción.

No obstante, existen algunas enzimas que recibieron nombres triviales por sus descubridores y que la práctica ha consagrado, como el caso de la pepsina, tripsina, quimotripsina, etcétera.

Resumen

Las reacciones químicas que ocurren en los seres vivos son catalizadas por proteínas específicas denominadas enzimas, estas se caracterizan por presentar un elevado poder catalítico y una gran especificidad.

Aún cuando cada enzima tiene su forma particular de actuar, en todas se puede distinguir un mecanismo general de acción en dos etapas: la primera es la unión de la enzima con el sustrato y la segunda la transformación de este. Dicho mecanismo supone la existencia de un complejo enzima-sustrato cuya formación ha sido comprobada por numerosos medios.

En todas las enzimas existen dos sitios importantes: el de reconocimiento y el catalítico, que juntos constituyen el centro activo de la enzima. La estructura del centro activo está determinada por el eje covalente de la cadena polipeptídica que le da la forma, los grupos de ambientación, los grupos de unión y los grupos catalíticos. En la unión enzima-sustrato intervienen diferentes tipos de interacciones como las hidrofóbicas, salinas, puentes de hidrógeno y fuerzas de Van der Waals; el ambiente apolar del centro activo facilita el establecimiento de estas interacciones.

Las características estructurales y funcionales del centro activo son las que confieren la especificidad y eficiencia catalítica a las enzimas. La especificidad de sustrato consiste en la propiedad que tienen las enzimas de actuar sobre un número muy reducido de sustratos, generalmente uno, en tanto la especificidad de acción determina que la enzima catalice solo una de las posibles transformaciones del sustrato.

Muchos agentes físicos y químicos pueden alterar la estructura del centro activo y con ello el funcionamiento de la enzima: los agentes desnaturalizantes de proteínas, las elevadas temperaturas, los cambios de pH y sustancias químicas específicas son algunos de estos agentes.

La unión enzima-sustrato puede producirse por dos mecanismos fundamentales, de acuerdo con el tipo de enzima, bien por el tipo llave-cerradura o por ajuste inducido.

La tripsina y la quimotripsina son enzimas cuyos mecanismos de acción ilustran de manera adecuada el funcionamiento de las enzimas.

La especificidad de las enzimas sirve de base a su clasificación y nomenclatura. A partir de la especificidad de acción se distinguen seis grupos de enzimas: oxidoreductasas, transferasas, hidrolasas, liasas, isomerasas y ligasas. La nomenclatura incluye tanto la especificidad de sustrato como la de acción. Existen enzimas que tienen nombres triviales, como la pepsina, tripsina, etc., que aunque no están basados en estos criterios se utilizan de manera cotidiana.

Ejercicios

1. ¿Qué función desempeña en la formación del centro activo el plegamiento de la cadena polipeptídica que da lugar a la formación de la estructura terciaria de la proteína enzimática?
2. ¿Qué importancia tiene el hecho de que en el centro activo exista un ambiente apolar?
3. ¿Pudiera inactivarse una enzima modificando grupos del centro activo que no intervienen de forma directa en la catálisis?
4. ¿Por qué para la catálisis enzimática es necesaria la formación del complejo enzima-sustrato? Discuta al menos dos posibilidades.
5. ¿Por qué podemos afirmar que las enzimas funcionan de acuerdo con el principio de la máxima eficiencia?
6. ¿Qué ventaja representa que el complejo ES se forme por un mecanismo de adaptación inducida y no por el mecanismo de llave y cerradura?
7. En el centro activo de una enzima existen tres aminoácidos claves que son aspártico, histidina y glutámico. ¿Pudiera esto explicar por qué esta enzima es tan sensible a los cambios de pH?
8. Clasifique y nombre las enzimas que catalizan las reacciones siguientes:
 - a) Glucosa6P + H₂O → Glucosa + Fosfato.
 - b) Alanina → Etilamina + CO₂.
 - c) Etanol + A → Acetaldehído + AH₂.
 - d) Gliceraldehído3P → Gliceraldehído2P.
 - e) Ácido mágico + B → Ácido oxalacético + BH₂.
 - f) Glutámico + ARNt + ATP → GlutamilARNt + AMP + PP.

Capítulo
16

Cinética enzimática

La función fundamental de las enzimas es aumentar la velocidad de las reacciones químicas que ocurren en los seres vivos. El comportamiento de esa velocidad y su modificación, debido a la presencia de diferentes agentes físicos o químicos, constituye el objeto de estudio de la cinética enzimática.

La característica más sobresaliente de estas reacciones es la participación de las enzimas, lo cual significa que su velocidad está influida no solo por la concentración de sustrato y producto, sino además y principalmente por la presencia de una molécula proteínica que no será alterada por la reacción en que participa.

En la medida que la reacción progresá, la concentración del sustrato va disminuyendo y la del producto aumenta, pero la concentración total de la enzima permanece invariabil

El objetivo final de la cinética enzimática es aprovechar los estudios de velocidad para esclarecer los diferentes mecanismos por los cuales las enzimas realizan su función y correlacionar estos con la estructura tridimensional de la proteína enzimática.

En este capítulo se hará un estudio de las características principales de la velocidad de las reacciones en que intervienen las enzimas, así como de los diferentes factores que pueden modificarla.

Condiciones para los estudios cinéticos

Para el estudio de la velocidad de las reacciones catalizadas por una enzima y la interpretación adecuada de sus resultados se requieren algunas condiciones.

Teniendo en cuenta que son varios los factores que pueden modificar la velocidad de la reacción solo puede estudiarse un factor a la vez, con cuidado de que todos los demás permanezcan constantes; sin embargo, no pueden mantenerse constantes la concentración del sustrato ni la del producto, pues su variación es el índice que asegura que la reacción está ocurriendo; para salvar esa dificultad se introdujo el concepto de velocidad inicial (v_0) que es la velocidad de la reacción cuando aún no se ha consumido el 10 % del sustrato inicial. Esto obliga a realizar primero algunos ensayos en diferentes tiempos de incubación, de forma tal que pueda fijarse el intervalo necesario para estar seguro de que en el estudio se miden velocidades iniciales.

La velocidad inicial es aquella que alcanza la reacción antes de consumir el 10 % del sustrato inicial. Este concepto se introduce por la imposibilidad de mantener constante la concentración de sustrato.

Además, la medida de la velocidad inicial evita que las determinaciones estén influídas por otros factores como:

1. Si la reacción es reversible, la velocidad de la reacción inversa aumentará en la misma medida que la concentración del producto y descenderá la velocidad de transformación del sustrato.
2. Si no se proporciona sustrato en exceso su concentración descenderá con el tiempo, lo que provocaría una disminución progresiva de la velocidad.
3. El producto de la reacción puede inhibir la actividad de la enzima.

La velocidad de una reacción catalizada por una enzima puede medirse por dos tipos de procedimientos, utilizando una técnica discontinua (de muestreo) en la que se toman muestras de la mezcla de reacción en diferentes tiempos, se detiene la reacción y se analiza el contenido de sustrato o producto en las muestras. También puede aplicarse una técnica de observación continua en la que se hace uso de una propiedad física distintiva del sustrato o producto u otro participante de la reacción, que se puede medir cuantitativamente sin interferir el desarrollo de la reacción, como puede ser el cambio que se produce en el espectro de absorción, debido a la formación del producto. Este tipo de procedimiento es el más aconsejable, pero no siempre es factible.

La velocidad inicial debe medirse por la variación de la concentración del producto por unidad de tiempo, siempre que ello sea posible, pero en ocasiones no se dispone de los procedimientos necesariamente exactos y se hace midiendo la variación de la concentración del sustrato.

En la práctica los estudios cinéticos se realizan de la forma siguiente: en primer lugar se procede a determinar el tiempo de incubación, como ya fue explicado; después se prepara un conjunto de tubos de ensayo donde se encuentran todos los componentes de la mezcla de reacción (*buffer*, sustrato, activadores, etc.) menos la enzima; dicha mezcla se coloca en baño de temperatura regulable, fijando esta en un valor determinado, donde también se incuba por unos minutos la solución que contiene la enzima. Por último, se añade a cada tubo la solución de enzima; auxiliados de un cronómetro se mide el tiempo de reacción a partir del momento en que se añadió la enzima; al transcurrir el tiempo indicado se procede a detener la reacción añadiendo algún agente desnaturizante de proteínas, uno de los más empleados es el ácido tricloroacético (TCA); se procede entonces a determinar la concentración del producto (o del sustrato), se calcula la diferencia con la concentración inicial (que en el caso del producto es cero) y este resultado se divide entre el tiempo de incubación, con lo cual se obtiene el valor de la velocidad; después se construye una gráfica cartesiana donde se representa la velocidad inicial en el eje de las ordenadas y el factor que se ha variado en el eje de las abscisas; la curva que se obtiene es la variación de la velocidad en función de la variación del factor estudiado.

Los factores que pueden modificar la velocidad de la reacción son la concentración de la enzima, del sustrato, de los cofactores y de iones H⁺ (expresadas como unidades de pH), así como la temperatura y la presencia de inhibidores y activadores. Se estudiará a continuación cada uno de ellos.

Efecto de la concentración de enzima

En general la concentración de una reacción catalizada por enzimas es directamente proporcional a la concentración de la enzima.

Si se procede de la forma indicada, pero haciendo que cada uno de los tubos de ensayo contenga una concentración diferente (creciente) de enzima, al procesar los datos obtendremos una gráfica (Fig. 16.1).

La obtención de una línea recta que pasa por el origen de las coordenadas indica que existe una relación de proporcionalidad directa entre la velocidad de la reacción y la concentración de la enzima, que puede expresarse por la ecuación

$$v = k[E]$$

lo que significa que la reacción es de primer orden con respecto a la concentración de enzima; esta relación constituye el fundamento de toda la cinética enzimática.

Este resultado era de esperar, si la concentración de sustrato está en exceso, a medida que se aumenta la concentración de la enzima se incrementa la formación del complejo ES y una vez formado este se producirá la transformación del sustrato.

La actividad catalítica de las enzimas se expresa en unidades de enzima, y esta es generalmente igual a la cantidad de enzima que cataliza la transformación de 1 μmol de sustrato por minuto, bajo condiciones específicas. Cuando no se posee la enzima pura, sino una preparación impura, puede medirse en unidades por mL o su actividad específica en la preparación como unidades por miligramo de proteína total.

La relación de proporcionalidad directa entre la velocidad y la concentración de enzima permite la determinación de la concentración de alguna de estas enzimas en los líquidos o tejidos corporales. Sobre la base de este principio se determinan en el laboratorio clínico las concentraciones séricas de transaminasas, quinasas, peptidasas, etcétera.



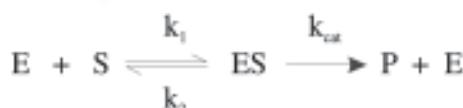
Fig. 16.1. Efecto de la concentración de enzima. La recta que se obtiene indica una relación de proporcionalidad directa entre la velocidad de la reacción y la concentración de la enzima, lo cual es el fundamento de toda la cinética enzimática.

Efecto de la concentración de sustrato

La relación entre la velocidad de una reacción catalizada enzimáticamente y la concentración de sustrato se describe por medio de una hipérbola equilátera.

En este caso la única diferencia entre los tubos de ensayo radica en que el sustrato está en cada uno de estos en concentración diferente (Fig. 16.2).

La primera explicación convincente para este comportamiento fue expuesta por Leonor Michaelis y Maud Menten en 1913, según ellos la reacción se produce en dos etapas: la unión de la enzima (E) con el sustrato (S) para formar un complejo enzima-sustrato (ES) de manera rápida, y la transformación del sustrato en producto (P) con la liberación de la enzima, que resulta la etapa más lenta:



donde k_1 , k_2 y k_{cat} son las constantes de velocidad específica para cada etapa de la reacción; k_{cat} se conoce también como número de recambio de la enzima.

Como la segunda etapa es el paso limitante, la velocidad de la reacción depende de la descomposición del complejo ES, según la ecuación:

$$v = k_{\text{cat}} [\text{ES}] \quad (1)$$

si se puede medir [ES] en diferentes momentos es factible calcular la velocidad, pero esto no siempre es posible, lo cual obliga a deducir una ecuación que permita calcular la velocidad en función de variables que se puedan medir

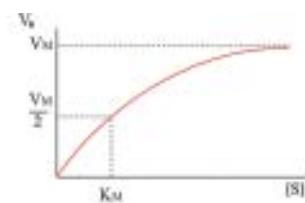


Fig. 16.2. Efecto de la concentración de sustrato. En la medida que la concentración de sustrato es mayor, la velocidad de la reacción es mayor, sin embargo, los incrementos en la velocidad no son uniformes, sino cada vez menores; cuando se alcanza un determinado valor de la concentración de sustrato, la velocidad se hace prácticamente constante, en ese momento la reacción ha alcanzado la V_m . La concentración de sustrato para la cual la velocidad de la reacción es igual a $V_m/2$ es la constante de Michaelis (K_m), que es un índice de la afinidad de la enzima por el sustrato.

Como la formación de ES es reversible y se descompone lentamente en producto, se establecerá un equilibrio entre E, S y ES cuando su velocidad de formación (v_f) sea igual a su velocidad de descomposición (v_d) y estas vienen dadas por las conocidas ecuaciones de velocidad:

$$v_f = k_1 [E][S] \quad (2)$$

$$v_d = k_2 [ES] \quad (3)$$

cuando $v_f = v_d$ tendremos que:

$$k_1 [E][S] = k_2 [ES] \quad (4)$$

el cociente de las dos constantes, que es la constante de disociación del complejo ES, recibe el nombre de constante de Michaelis (Km).

La enzima libre (E) será igual a la enzima total (Et), menos la que se encuentra en forma de ES. Si se introducen estas consideraciones en la ecuación (5), se tiene que:

$$\frac{[E][S]}{[ES]} = \frac{k_2}{k_1} \quad (5)$$

si se despeja [ES]

$$\frac{[Et - ES][S]}{[ES]} = Km$$

sustituyendo [ES] por su equivalente en (1) se obtiene:

$$[ES] = \frac{[Et][S]}{Km + [S]} \quad (6)$$

En esta ecuación cabe considerar tres casos:

1. Cuando $[S] \ggg Km$: en este caso el denominador $Km + [S]$ es casi igual a $[S]$ y simplificando obtenemos:

$$v_0 = \frac{k_{cat}[Et][S]}{Km + [S]}$$

Las concentraciones muy elevadas de sustrato producen un efecto de saturación, o sea, todos los centros activos de las enzimas han sido ocupados por el sustrato y casi toda la enzima se encuentra en forma de ES. Teniendo presente la ecuación (1) es posible inferir que en ese momento se habrá alcanzado la mayor velocidad posible para la reacción que se denomina velocidad máxima (V_m). En estos momentos la velocidad se hace independiente de la $[S]$, o sea, es de orden cero. Así se obtiene la forma habitual de la ecuación de Michaelis:

$$v_0 = \frac{V_m}{K_m} \cdot [S]$$

2. Cuando $[S] \ll Km$: en este caso el valor del denominador será prácticamente igual a Km y la ecuación se transforma en

$$v_0 = \frac{Vm}{Km} \cdot [S]$$

el cociente de las dos constantes Vm/Km es una constante y, por lo tanto, la velocidad de la reacción es directamente proporcional a la concentración de sustrato o, dicho de otra forma, es de primer orden con respecto a la concentración de sustrato.

3. Cuando $[S] = Km$: en este caso el denominador pasa a ser $2[S]$ que al simplificar nos queda:

$$v_0 = \frac{Vm}{2}$$

esto significa que el valor de Km es igual a la concentración de sustrato, cuando la velocidad inicial es igual a la mitad de la velocidad máxima; en este momento la mitad de las moléculas de la enzima está en estado libre y la otra en forma de ES.

La velocidad máxima (Vm) representa una medida de la capacidad catalítica de la enzima.

Si la curva tiene siempre la misma forma, la diferencia entre estas estará dada por los valores de Vm y Km , de ahí que estos se conozcan como los parámetros cinéticos de la ecuación de Michaelis. Analicemos brevemente el significado de cada uno de estos. La Vm se alcanza cuando las moléculas de sustrato han ocupado todos los sitios activos de todas las moléculas de la enzima, por lo que la velocidad de reacción en ese momento solo depende de la capacidad que tenga la enzima para transformar el sustrato. A partir del valor de Vm se puede calcular el número de recambio de la enzima; si una solución 10^{-6} M de anhidrasa carbónica que cataliza la formación de $0,6$ M de H_2CO_3 por segundo cuando está completamente saturada de sustrato según la ecuación



podemos calcular k_{cat} , pues

$$Vm = k_{cat} [Et]$$

$$6 \cdot 10^{-1} = k_{cat} \cdot 10^{-6}$$

$$k_{cat} = 6 \cdot 10^{-1} / 10^{-6} = 6 \cdot 10^5$$

esto significa que la enzima produce 600 000 moléculas de H_2CO_3 por segundo y este es precisamente el significado del número de recambio.

La constante de Michaelis (Km) es una medida de la afinidad de la enzima por el sustrato.

La Km , como la hemos definido (otras definiciones pueden originar otros significados), es igual a la constante de disociación del complejo ES y por ello representa una medida de la afinidad de la enzima por el sustrato, de forma que mientras mayor sea la afinidad, menor será el valor de la Km . En la tabla 16.1 se relacionan los valores de Km y de k_{cat} de algunas enzimas.

Para determinar de manera experimental los valores de Vm y Km resulta muy engorroso el empleo de la curva hiperbólica, pues sería muy difícil dibujarla ajustando los puntos experimentales que están muy dispersos, además, resulta difícil conseguir concentraciones suficientemente elevadas de sustrato para alcanzar Vm , o casi imprácticas.

Tabla 16.1. Valores de la K_m y la k_{cat} de algunas enzimas

Enzima	Sustrato	K_m (M)	K_{cat} (s ⁻¹)
Anhidrasa carbónica	CO_2	$1,2 \cdot 10^2$	$1,0 \cdot 10^6$
Acetilcolina estearasa	Acetilcolina	$9,5 \cdot 10^5$	$1,4 \cdot 10^4$
Catalasa	H_2O_2	$2,5 \cdot 10^2$	$1,0 \cdot 10^7$
Fumarasa	Fumarato	$5,0 \cdot 10^6$	$8,0 \cdot 10^3$
Fumarasa	Malato	$2,5 \cdot 10^5$	$9,0 \cdot 10^3$
Ureasa	Urea	$2,5 \cdot 10^2$	$1,0 \cdot 10^4$

cable medir las bajas velocidades iniciales con pequeñas concentraciones de sustrato. Todas estas dificultades se evitan con el método de determinación de Lineweaver y Burk, este procedimiento resulta de una transformación de la ecuación de Michaelis y consiste en tomar los inversos de esta, representar el inverso de la velocidad inicial ($1/v_0$) en el eje de las ordenadas y el inverso de la concentración de sustrato ($1/[S]$) en el eje de las abscisas; la transformación de una ecuación a la otra es muy sencilla.

Al tomar los inversos en la ecuación de Michaelis se obtiene

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m}{V_m} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_m}$$

se descompone el sumando

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m}{V_m} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_m}$$

Obsérvese la homología con la ecuación general de una línea recta del tipo $y = ax + b$, cuya pendiente es K_m/V_m y con el intercepto igual a $1/V_m$ para las ordenadas y $-1/K_m$ para las abscisas (Fig. 16.3).

Esta línea recta, la gráfica doblemente recíproca, se debe preferir a la gráfica hiperbólica como método de determinación de V_m y K_m , ya que una línea recta puede dibujarse y extrapolarse de forma más rigurosa que cualquier curva. Este conocimiento es muy importante a la hora de analizar los inhibidores enzimáticos.

Reacciones con dos sustratos

Las reacciones con dos sustratos son muy frecuentes y pueden ocurrir mediante un mecanismo de unión ordenada, de unión azarosa o de *ping-pong*.

En muchas reacciones enzimáticas de importancia biológica se utilizan dos sustratos (o un sustrato y una coenzima) para formar dos productos, por lo cual la ecuación general sería

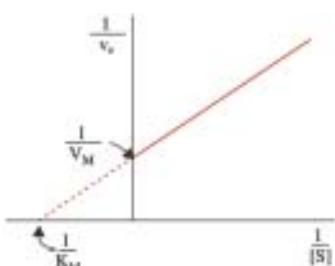


Fig. 16.3. Representación de Lineweaver y Burk. En la gráfica, doblemente recíproca al plotear $1/v_0$ contra $1/[S]$, se obtiene una línea recta con interceptos de $1/V_m$ para las ordenadas y $-1/K_m$ para la abcisa, y permite la determinación de los parámetros cinéticos de Michaelis con más exactitud que la gráfica hiperbólica.

El mecanismo de estas reacciones es más complejo que aquellas en que interviene un solo sustrato y sus ecuaciones cinéticas, más difíciles de determinar.

El hecho más sobresaliente es el orden en que los sustratos se combinan con la enzima y el orden en que se liberan los productos. Atendiendo a este aspecto se han distinguido tres mecanismos básicos de reacciones bisustrato.

Mecanismo ordenado. Los sustratos se enlazan y los productos se liberan en un orden obligado, como se muestra a continuación:



donde EAB (complejo enzima-sustratos) y EPQ (complejo enzima-productos) se interconvierten rápidamente (Fig. 16.4).

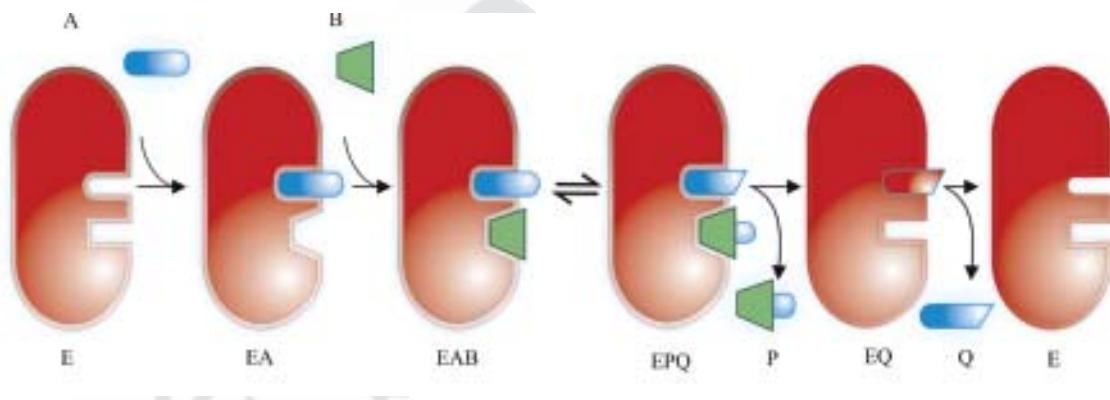


Fig. 16.4. Mecanismo ordenado con dos sustratos. La enzima (E) debe unirse primero con el sustrato A y formar el complejo EA, pues el sitio de unión de B no es accesible a su sustrato. La unión de B da lugar a la formación del complejo ternario EAB, que se transforma lentamente en el complejo enzima-productos (EPQ), y después libera también sus productos de forma ordenada.

El ejemplo más abundante son las deshidrogenasas que funcionan con NAD⁺ como coenzima aceptora de hidrógenos, en las cuales la enzima se une primero a la coenzima y con posterioridad al sustrato, liberan primero el producto oxidado y después la coenzima reducida.



Esta reacción está catalizada por la enzima lactato-deshidrogenasa que oxida el lactato (LAC) en piruvato (PIR) con la reducción simultánea del NAD⁺ a NADH.

Desde el punto de vista estructural este mecanismo se fundamenta en que el centro activo no está totalmente formado en ausencia de los sustratos y la unión del primero de estos produce un cambio conformacional en la enzima que casi crea el sitio de reconocimiento para el segundo, de esta manera el orden de unión de los sustratos es obligado.

Mecanismo de orden azaroso. Los sustratos pueden unirse a la enzima en cualquier orden, lo que hace suponer que existe un sitio de unión diferente para cada uno de estos (Fig. 16.5).

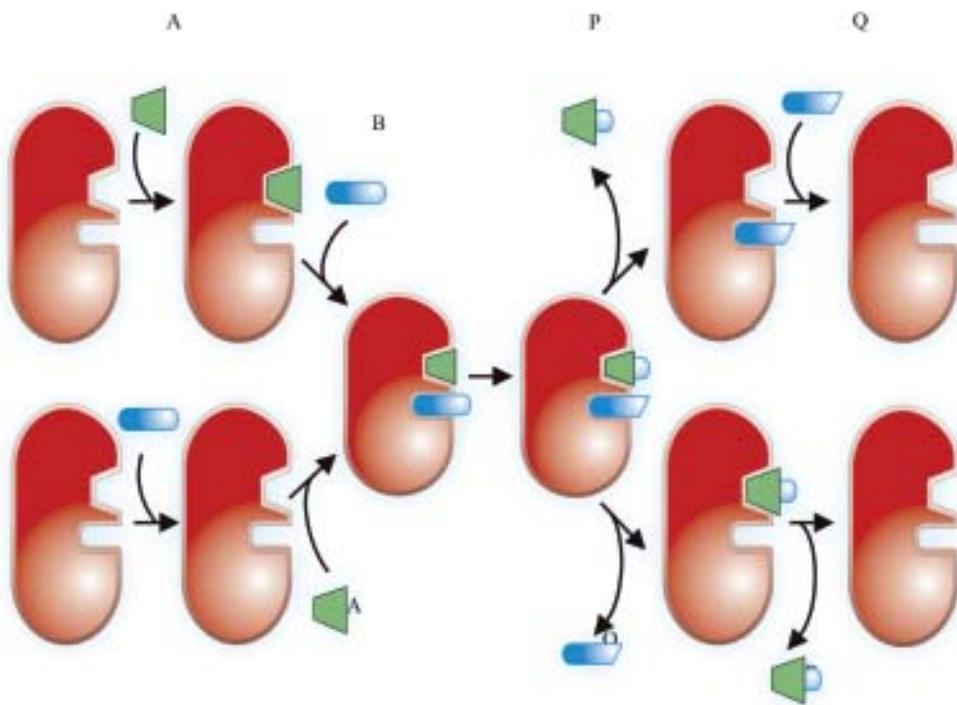


Fig. 16.5. Mecanismo de orden aleatorio con dos sustratos. La enzima (E) presenta sus dos centros activos accesibles a sus respectivos sustratos A y B, por eso cualquiera de ellos puede unirse primero para formar los complejos EA o EB; a estos complejos se une el otro sustrato y se forma el complejo ternario EAB, que se transforma en el complejo enzima-productos EPQ que puede liberar sus productos en cualquier orden.



Un ejemplo típico de estas enzimas son las quinasas, que en el caso de la hexoquinasa sería:



En esta reacción la enzima transfiere un grupo fosfato del ATP a la glucosa (GLC) para formar glucosa-6-fosfato (GLP) y ADP. Como se muestra, la enzima puede unir primero la glucosa o el ATP y liberar la glucosa-6-fosfato antes o después que el ADP.

Mecanismo ping-pong. Se caracteriza porque un producto se forma y libera antes de la incorporación del segundo sustrato; esto puede explicarse por la existencia de una enzima en dos formas (E y E^*), una capaz de unir al primer sustrato y la otra al segundo. El paso de la enzima de una forma a otra de manera constante fue lo que quiso denotar Cleland cuando denominó *ping-pong* a este mecanismo.



Este mecanismo se ilustra en la figura 16.6.

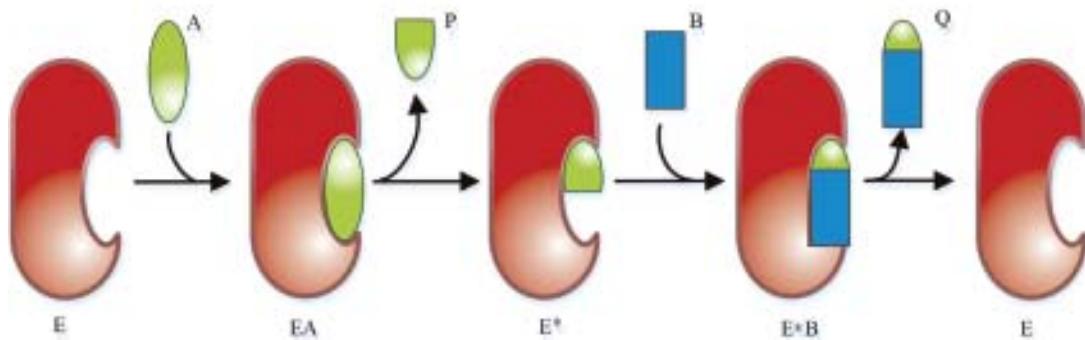


Fig. 16.6. Mecanismo *ping-pong*. La enzima (E) solo puede unirse al sustrato A formando el complejo EA que libera el producto P y deja modificada la enzima (E*), solo entonces puede unirse al segundo sustrato B y formar el complejo E*B que libera el producto Q, quedando la enzima en su forma inicial para comenzar un nuevo ciclo catalítico.

El ejemplo más característico es el de las transaminasas (enzimas que transfieren grupos amino), en el caso de la transaminasa glutámico-pirúvico tendremos



En esta reacción la enzima se une primero a la alanina (ALA) formando el complejo transaminasa-alanina (E:ALA), que al convertir la alanina en pirúvico (PIR) deja modificada también la enzima (E*). Esta forma E* puede unirse al ácido α -cetoglutárico (KG) que al transformarse en glutámico (GLU) regenera la forma original de la transaminasa. La deducción de las ecuaciones de velocidad para cada uno de estos tipos de reacciones va más allá del alcance de este texto .

Efecto de la concentración de cofactores

La concentración de cofactores suele tener un efecto similar a la concentración de sustrato.

La coincidencia de las dos gráficas es un hecho experimental importante para afirmar que los cofactores se unen a la enzima por un sitio específico y en una relación estequiométrica que explica el fenómeno de saturación observado; este sitio pudiera ser el centro activo.

Efecto del pH

Las reacciones catalizadas por enzimas tienen una marcada dependencia de la concentración de iones hidrógeno.

Si realizamos una experiencia como la descrita, pero haciendo que la mezcla de incubación contenga soluciones *buffers* de diferentes valores de pH, se obtendrá una gráfica como la que se muestra en la figura 16.7.

Como se observa, la curva tiene una forma acampanada, con una zona central estrecha que se corresponde con los mayores valores de la velocidad; al valor de pH donde se obtiene la mayor velocidad se le denomina pH óptimo. Esta gráfica se explica teniendo en cuenta que el pH modifica el estado de disociación de los grupos químicos presentes

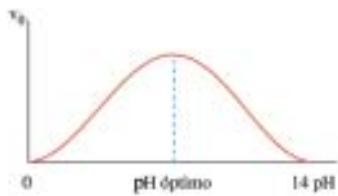
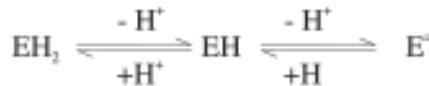


Fig. 16.7. Efecto del pH. Se obtiene una figura en forma acampanada donde se puede determinar la zona de pH óptimo. Obsérvese que la disminución o aumento del pH en relación con el pH óptimo provoca una disminución de la velocidad de la reacción.



si el estado más activo es EH^\ddagger , obtendremos la curva descrita que es la de la mayoría de las enzimas; si fuera EH_2 la curva carecería de la rama ascendente, como sucede con la pepsina; si fuera E^\ddagger carecería de la descendente, como sucede con la tripsina; estas tres situaciones se representan en la figura 16.8.

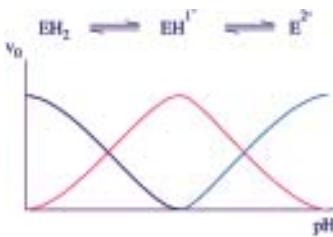


Fig. 16.8. Diferencias en el pH óptimo. Dependiendo de la forma iónica donde la enzima tiene su mayor actividad se pueden obtener curvas diferentes que reflejan que cada enzima tiene un pH óptimo característico, esto se debe a la presencia en el centro activo de la enzima de grupos químicos que tienen diferente reacción ante los cambios de pH.

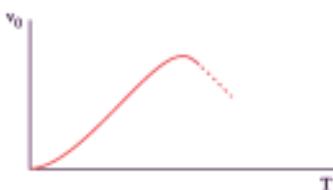


Fig. 16.9. Efecto de la temperatura. La velocidad de la reacción aumenta con la temperatura, pues esta es un reflejo del aumento de la energía cinética de los componentes de la reacción, lo cual favorece los choques intermoleculares; después de ese incremento de velocidad al aumentar la temperatura, se producen alteraciones en la estructura tridimensional de la proteína enzimática, que determinan una disminución en la velocidad de reacción.

Efecto de la temperatura

Incrementos de la temperatura aumentan la velocidad de las reacciones enzimáticas, pero elevadas temperaturas desnaturalizan la enzima y la catálisis se detiene.

Un experimento semejante a los descritos, pero esta vez con los tubos de ensayo bajo temperaturas diferentes, muestra sus resultados en la figura 16.9.

La influencia de la temperatura sobre la velocidad de la reacción es un problema complejo, en el cual intervienen varios factores, entre ellos el aumento de la energía del sistema al aumentar la temperatura, lo cual hace que los reactantes posean una energía cinética mayor y por tanto estén más próximos al estado activado, además, los efectos desestabilizantes de la temperatura sobre la estructura tridimensional de la proteína enzimática son imprescindibles para su acción.

Teniendo en cuenta al menos estos dos factores puede resumirse el comportamiento de la velocidad en función de la temperatura como sigue.

El aumento de la temperatura refleja un aumento de la energía cinética de las moléculas, lo cual favorece la colisión entre las moléculas de enzima y sustrato, mientras mayor sea la temperatura mayor es el número de choques y mayor la velocidad de la reacción; pero a partir de un valor de temperatura comienza la desnaturalización de la proteína enzimática y con ello la pérdida de la actividad, que se observa en los valores elevados de temperatura.

Efecto de los activadores

Los activadores son sustancias que por variados mecanismos incrementan la velocidad de las reacciones catalizadas por enzimas.

Como activadores enzimáticos se definen a las pequeñas moléculas, generalmente iones inorgánicos, que son requeridos o al menos estimulan la actividad catalítica de una enzima, y al contrario de los cofactores, no son participantes explícitos de la reacción. Aun cuando pueden plantearse diferentes formas de actuar, nos limitaremos a los dos casos mejor conocidos: la interacción obligatoria con la enzima libre y la interacción obligatoria con el sustrato libre. En el primer caso se encuentran muchas enzimas que poseen iones metálicos en su centro activo, como la carboxipeptidasa que contiene Zn^{2+} ; otras enzimas parecen requerir la presencia de un ion para estabilizar su conformación de máxima actividad catalítica.

La reacción general puede ser descrita de la forma siguiente:



donde A representa la concentración del activador.

En el segundo caso se encuentran enzimas que catalizan reacciones en las cuales intervienen nucleósidos di y trifosfatados, que requieren de la participación simultánea de un catión divalente (especialmente Mg^{2+}) en cantidades estequiométricas. Las investigaciones sobre estas reacciones han mostrado que un mecanismo probable para esta activación es la combinación del ion con el sustrato previo a su interacción con la enzima. El verdadero sustrato de la reacción sería el complejo sustrato-catión; el esquema de reacción sería:



La deducción de las ecuaciones cinéticas para estos casos rebasa los marcos de este texto.

Efecto de los inhibidores

Los inhibidores son sustancias que por variados mecanismos disminuyen la velocidad de las reacciones catalizadas por enzimas.

Los inhibidores enzimáticos son sustancias que tienen en común la propiedad de disminuir la velocidad de las reacciones catalizadas por las enzimas. Casi siempre se distinguen dos tipos generales de inhibición, la reversible y la irreversible, en el primer caso el inhibidor forma con la enzima un complejo enzima-inhibidor (EI), unido por fuerzas no covalentes y que, por tanto, puede disociarse; en el segundo se producen modificaciones covalentes de la enzima que no pueden eliminarse fácilmente. En este capítulo solo se tratarán los primeros.

Para estudiar el efecto y el tipo de los inhibidores se realiza una experiencia igual a la determinación del efecto de la concentración de sustrato sobre la velocidad, pero ahora en cada uno de los tubos de ensayo se ha añadido un inhibidor en una concentración fija. Como en los casos anteriores, los resultados se llevan a una gráfica y de acuerdo con esta se clasifican los inhibidores; solo se estudiarán los casos más típicos.

Inhibición competitiva

Los inhibidores competitivos incrementan la K_m sin modificar la velocidad máxima de la reacción.

En la figura 16.10 se presenta una gráfica en la que aparecen también los resultados obtenidos sin el inhibidor

La gráfica nos indica que para casi todas las concentraciones de sustrato utilizadas la velocidad de la reacción siempre es menor en presencia del inhibidor, solo en concentraciones muy elevadas del sustrato se logra superar la inhibición y eso hace que la V_m sea igual en ambos casos; esto implica que se modifique el intercepto del eje de las abscisas, que como sabemos es una función de la K_m .

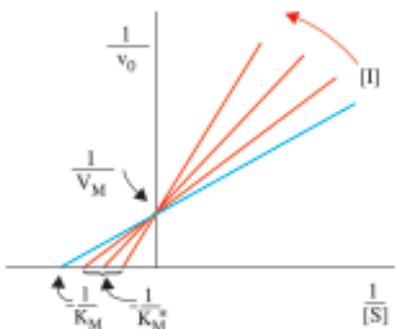


Fig. 16.10. Inhibidores competitivos. Los inhibidores competitivos ocupan el centro activo de la enzima que se hace inaccesible al sustrato. El aumento de la concentración de sustrato puede hacer que este desplace al inhibidor, es por eso que la presencia de un inhibidor competitivo determina una variación en el valor de la K_m , sin alterar el valor de V_m ; variando la concentración del inhibidor se obtiene una familia de curvas que se cortan en el eje de las ordenadas justo en el punto $1/V_m$.

Si la K_m está aumentada y la V_m está sin modificación, se dice que el inhibidor es de tipo competitivo. El hecho de que la V_m no se altere significa que la capacidad catalítica de la enzima es la misma con inhibidor o sin este. El aumento de K_m indica que existe una disminución de la afinidad de la enzima por el sustrato; estos hechos son compatibles si suponemos que el inhibidor es capaz de unirse al centro activo y así impide la entrada del sustrato; si el sustrato no entra al centro activo no puede ser transformado por la enzima y esto explica la disminución de la velocidad, o sea, se establece una competencia entre el sustrato y el inhibidor por ocupar el centro activo de la enzima. Cuando las concentraciones de sustrato son muy elevadas, la probabilidad de unión enzima-sustrato es muy alta y por ello se alcanza la velocidad máxima de la reacción.

El esquema de la reacción en presencia de un inhibidor competitivo sería:



y para ello se definen dos constantes de disociación: la K_m , que ya conocemos, y la K_i para la disociación del complejo EI y resulta

$$K_i = \frac{[E][I]}{[EI]}$$

el valor aparente de K_m^* que se obtiene con el inhibidor, se relaciona con la K_m sin el inhibidor, por la ecuación

$$K_m^* = K_m \cdot \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)$$

Nótese que parte de la enzima se encuentra en forma de complejo EI , que no da producto, pues no puede unir al sustrato, lo que significa que existe una disminución del número de centros activos útiles y, por tanto, una menor velocidad de la reacción.

Una característica de los inhibidores competitivos es que su estructura es semejante a la del sustrato. En la figura 16.11 se muestra cómo la succinato deshidrogenasa puede ser inhibida de forma competitiva por el malonato, cuya estructura es muy similar a la del succinato, que es el sustrato natural de la enzima.

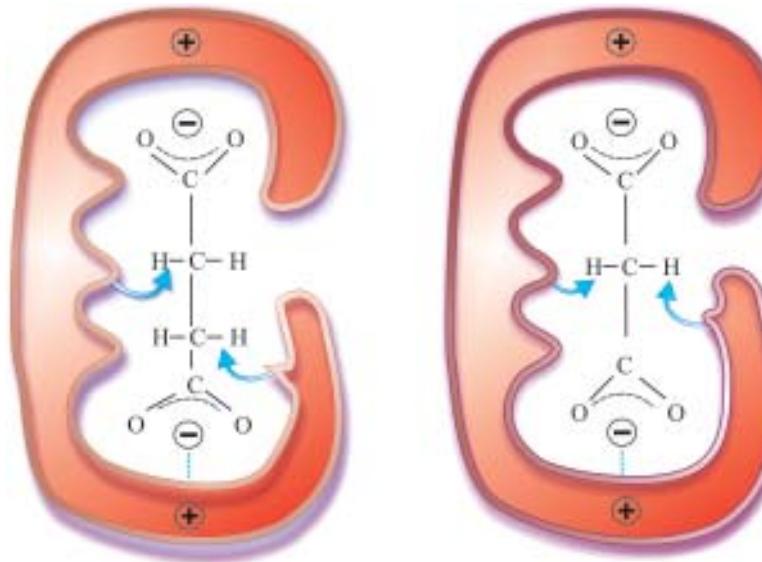


Fig. 16.11. Mecanismo de la inhibición competitiva. La similitud estructural del inhibidor con el sustrato hace que aquel pueda unirse al centro activo, pero sus diferencias le impiden la transformación. La enzima succinato deshidrogenasa une al ácido succínico y actúa sobre los hidrógenos colocados en carbonos adyacentes. Cuando el ácido malónico, que tiene una estructura similar, se une al centro activo de la enzima produce una inhibición, pues no puede ser transformado, quedando unido al centro activo y, por tanto, impide la entrada y transformación del sustrato verdadero.

Inhibición no competitiva

Los inhibidores no competitivos disminuyen la velocidad máxima de la reacción sin modificar la afinidad de la enzima por el sustrato.

En la figura 16.12, al igual que en el caso anterior, se muestran, además, los resultados del experimento sin el inhibidor

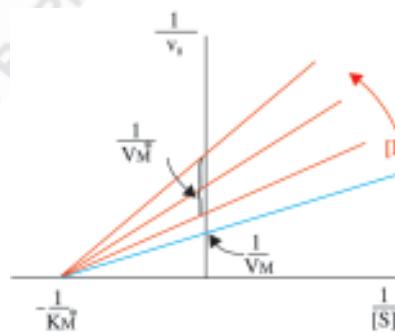
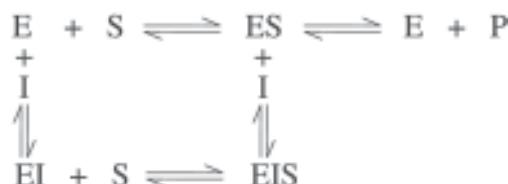


Fig. 16.12. Inhibidores no competitivos. El inhibidor no competitivo no se aloja en el centro activo y no puede impedir la entrada del sustrato, pero de alguna forma dificulta su transformación; en su presencia las curvas que se obtienen difieren en el valor de $1/V_m$, pero no alteran el valor de $-1/K_m$. Variaciones en la concentración del inhibidor dan origen a una familia de curvas que se cortan en el eje de las abscisas en el punto $-1/K_m$.

Los efectos de este inhibidor sobre los parámetros cinéticos son contrarios al anterior, se observa una disminución de la V_m sin alteraciones de la K_m ; ni siquiera en concentraciones elevadísimas de sustrato se logra eliminar la inhibición.

Si la K_m no se ha modificado quiere decir que no existe impedimento para la unión de la enzima con el sustrato, pero la alteración de la V_m indica que el inhibidor disminuye de alguna forma la capacidad catalítica de la enzima. Se acepta que la unión enzima-inhibidor se produce en un sitio diferente del centro activo y que esa unión modifica las propiedades catalíticas de la enzima, posiblemente modificando la conformación del centro activo, de forma que no impide la unión del sustrato, pero dificulta mucho su transformación.

El esquema de la reacción con la participación de un inhibidor no competitivo será



La enzima existe en un estado libre y en forma de varios complejos (EI, ES y EIS), de los cuales solo ES da productos. Si suponemos que la unión de S a la enzima no influye sobre la unión de I y viceversa, entonces la constante de disociación de EI será igual a la de EIS y viene dada por cualquiera de las ecuaciones siguientes:

$$K_i = \frac{[E][I]}{[EI]} \quad K_i = \frac{[ES][I]}{[EIS]}$$

El valor aparente de V_m^* , que se obtiene en presencia del inhibidor se relaciona con la V_m de la reacción sin el inhibidor por la ecuación

$$V_m^* = \frac{V_m}{1 + \frac{I}{K_i}}$$

En este caso también la enzima existe en forma de varios complejos, de los cuales solo ES puede dar productos, pero no existe ningún impedimento para la unión con el sustrato; la existencia de esos complejos determina una disminución del número de centros activos útiles en la preparación y por tanto, una disminución de la velocidad de reacción.

Los inhibidores no competitivos no son análogos estructurales del sustrato; el iodoacetato es un potente inhibidor no competitivo de las enzimas que poseen grupos sulfhidrilos en, o cerca de, su centro activo.

Algunos medicamentos utilizados diariamente en la práctica médica son inhibidores enzimáticos, como el caso de las sulfamidas que se emplea en el tratamiento de infecciones bacterianas.

En general las armas químicas suelen ser también inhibidores enzimáticos, que al bloquear determinadas reacciones pueden dañar un órgano o tejido específico, si la enzima que resulta inhibida está presente solo en él, o al organismo en su totalidad, si la enzima inhibida está muy distribuida en la economía.

La lucha contra la producción, almacenamiento y utilización de las armas químicas debe constituir una posición de principio de todo científico, pues es parte del comportamiento ético impedir el uso de los avances de la ciencia en perjuicio de la humanidad.

Resumen

La cinética enzimática es la parte de la enzimología que se ocupa del estudio de la velocidad de las reacciones enzimáticas y de los factores que la modifican.

En los estudios cinéticos se deben observar algunas reglas que permitan hacer una interpretación adecuada de los resultados, como son medir siempre velocidades iniciales y variar en cada experimento solo uno de los factores que pueden alterar la velocidad. Los principales factores que influyen sobre la velocidad de la reacción son las concentraciones de enzimas, sustratos y cofactores, la temperatura, el pH y la presencia de activadores o inhibidores.

La velocidad de las reacciones enzimáticas es directamente proporcional a la concentración de enzima, lo cual constituye el fundamento de toda la cinética enzimática. La concentración de sustrato influye sobre la velocidad de forma muy característica.

A medida que la concentración de sustrato aumenta se produce un aumento de la velocidad, pero en concentraciones muy elevadas de sustrato se produce un estado de satura-

ción de la enzima que no permite mayores incrementos de velocidad. Para explicar este comportamiento se emplea la teoría de Michaelis-Menten, según la cual bastan dos parámetros para explicarlo, uno, la K_m define la afinidad de la enzima por el sustrato y el otro, V_m es un indicador de la capacidad catalítica de la enzima.

Cuando en la reacción intervienen dos sustratos, uno de los aspectos más importantes que se debe determinar es el orden en que se ligan los sustratos y se liberan los productos. Atendiendo a este punto de vista se describen los mecanismos ordenados, los azarosos y el *ping-pong*.

La influencia de la concentración de los cofactores es similar a la del sustrato.

La velocidad varía con el pH y existe una zona de pH óptimo donde la velocidad es la mayor. Variaciones del pH en ambos lados de esta zona determinan una disminución de la velocidad.

Al aumentar la temperatura la velocidad de reacción aumenta, pero pasado un límite comienza a disminuir, pues se producen alteraciones de la estructura tridimensional de la enzima.

Los activadores producen un aumento de la velocidad de la reacción, se distinguen dos tipos principales, aquellos que se unen a la enzima libre y los que se unen al sustrato. Por su parte, los inhibidores disminuyen la velocidad de la reacción, bien porque modifican la K_m , en cuyo caso son de tipo competitivo, o por alteraciones de la V_m , que reciben el nombre de no competitivos.

Los estudios cinéticos son importantes para el conocimiento del mecanismo de acción de las enzimas, con el propósito de conocerlo y modificarlo. Muchos medicamentos y algunas armas químicas suelen ser inhibidores enzimáticos específicos.

Ejercicios

1. ¿Cuáles son las razones por las que en los estudios cinéticos debe siempre medirse velocidades iniciales?
2. En una experiencia cinética se observa que al aumentar la concentración de enzima no se produce el esperado aumento proporcional de la velocidad. ¿A qué factores pueden deberse estos resultados?
3. Si dos enzimas actúan sobre el mismo sustrato con K_m de $4 \cdot 10^{-4}$ y $7 \cdot 10^{-6}$, respectivamente ¿qué conclusiones pueden derivarse de estos valores?
4. Calcule el número de recambio de una enzima que al estar en una concentración de 10^4 M forma $3 \cdot 10^{-2}$ M del producto en 1 s.
5. Una enzima cataliza la reacción:



en un experimento realizado a $\text{pH} = 8$ y a 30°C se obtienen los datos siguientes:

[ala]mM	V_o (mmol de CO_2 min $^{-1}$)
4	2,50
3	2,24
2,25	1,95
1,50	1,55

Calcule la K_m para la reacción.

6. En el estudio de la reacción:



se encontró que el β -hidroxiaspártico era un inhibidor de la enzima. Al tratar de determinar qué tipo de inhibidor era, se obtuvieron los datos siguientes:

[L-aspártico] mmol l ⁻¹	v _o (mmol de CO ₂ min ⁻¹) (mg de proteína) ⁻¹	Sin inhibidor	Con inhibidor
25	17		-
33,3	21,3		5,7
50	27,8		8,1
100	41,7		14,7
200	52,6		25,0

Construya una gráfica de $1/v_o$ vs. $1/[S]$ y determine de qué tipo de inhibidor se trata.

Capítulo
17

Regulación de la actividad enzimática

En el capítulo anterior se estudiaron algunos de los factores que influyen sobre la velocidad de las reacciones enzimáticas, lo cual permitió hacer un estudio detallado de las características cinéticas de las enzimas. Muchos de estos factores son estudiados *in vitro* y contribuyen de una manera importante a la profundización de nuestro conocimiento sobre las enzimas; pero en condiciones normales en el organismo humano, tanto en las células como en el espacio extracelular, donde las enzimas realizan su actividad de manera constante, muchos de esos factores pueden tener un menor significado.

Los cambios de velocidad observados al variar la temperatura no se perciben en nuestro organismo, que mantiene una temperatura constante; lo mismo sucede con los cambios de pH, pues cada órgano tiene un pH relativamente constante que se corresponde aproximadamente con la zona de pH óptimo de sus enzimas; igual ocurre con los compartimentos subcelulares.

Los inhibidores estudiados son por lo general, materiales de laboratorio que solo entran al organismo accidental o criminalmente. Con excepción del intestino y el hígado, las células presentan un medio de composición casi constante, por lo cual no experimentan grandes variaciones en la concentración de sustratos; estas y su influencia sobre las velocidades de reacción son más manifiestas en dichos órganos; no obstante, existen mecanismos intracelulares que permiten una mejor adaptación de las velocidades de reacción a las condiciones celulares.

En este capítulo se estudiarán los principales mecanismos de que dispone la célula para regular la actividad de sus enzimas y se discutirán las ventajas que cada uno de estos presenta, así como las características estructurales de las enzimas que los hacen posibles.

Formas básicas de la regulación enzimática

Las velocidades de las reacciones catalizadas por enzimas pueden ser reguladas modificando la cantidad o la actividad de las enzimas.

Cuando un sistema o proceso es capaz de variar su comportamiento, como respuesta a cambios que se produzcan en su entorno, de forma que la respuesta directa o indirectamente tiende a modificar el estímulo para volver a la situación inicial, se dice que este sistema o proceso está regulado.

En estos sistemas existe un patrón estructural o funcional que tiende a mantenerse estable frente a los cambios que se operan en el entorno. El sistema de regulación está

encaminado a mantener ese patrón estructural o funcional; cuando este último se mantiene, gracias a mecanismos intrínsecos, se dice que el sistema está autorregulado, y es el caso de los sistemas vivientes.

En la regulación tanto el estímulo como la respuesta tienen carácter específico, estos cambios de comportamiento generalmente se manifiestan por un aumento o disminución de la velocidad de algunas etapas que componen el proceso, aunque pueden manifestarse de otras formas.

La regulación existe como posibilidad antes que como realidad, o sea, los componentes del proceso deben poseer características estructurales y funcionales que les permitan responder a los cambios del entorno cuando estos se produzcan.

La regulación enzimática se refiere a la posibilidad que tienen las enzimas de variar la velocidad de las reacciones que estas catalizan al producirse determinados cambios en el medio; esa posibilidad viene dada por características estructurales de las enzimas y que son una vez más manifestaciones del vínculo que existe entre la estructura y la función de las biomoléculas.

Los cambios de velocidad observados durante el proceso de adaptación son debidos a cambios cuantitativos o cualitativos de los centros activos, y atendiendo a esto las formas básicas de la regulación enzimática se manifiestan por variación en la cantidad o la actividad de las enzimas.

Si se considera que el volumen celular no cambia apreciablemente durante el proceso, un aumento de la cantidad de enzima significa un aumento de su concentración y ya sabemos que la velocidad de la reacción es directamente proporcional a la concentración de la enzima. Modificar la cantidad de enzima es variar la cantidad de centros activos presentes y esta es la causa de los cambios de velocidad.

Existen dos mecanismos básicos que producen modificaciones en la cantidad de enzimas, conocidos como inducción y represión. En el primero, la presencia de una sustancia en la célula puede activar el proceso de síntesis de la enzima y por tanto aumentar su cantidad. En el segundo, el estímulo determina la disminución de la síntesis enzimática por lo cual la cantidad de enzima disminuye. Estos mecanismos serán estudiados detalladamente en el capítulo 34. Si la cantidad de enzima no varía, solo es posible modificar su actividad aumentando o disminuyendo la fracción de centros activos útiles, pues el número total no cambia; esto se logra mediante dos mecanismos conocidos como modificación alostérica y modificación covalente, que son objeto de estudio en este capítulo. También serán estudiados otros mecanismos reguladores como: proteólisis limitada, variación en el estado de agregación, interacciones proteína-proteína, translocalización, cambios en la especificidad e isoenzimas.

Antes de estudiar cada tipo específico de regulación es bueno señalar que existen enzimas que están sometidas a varios mecanismos de regulación simultáneamente, lo cual puede ser un índice de su significación para el metabolismo celular.

Componentes de un sistema de regulación

Los sistemas de regulación enzimática más simples están constituidos por la señal, el estímulo, el receptor, el transductor y el efector.

Aun cuando existen diferencias notables entre un sistema de regulación y otro, un análisis detallado de todos estos implica que, a pesar de sus diferencias, presentan un grupo de componentes que son esenciales para su funcionamiento (Fig. 17.1). Así sucede con los sistemas de regulación de la actividad enzimática.

La mayoría de las enzimas se encuentra en el interior de la célula y su actividad puede modificarse como respuesta a un cambio que se produzca en esa célula, en otra célula del organismo y aun en el medio.

El primer componente de un sistema de regulación es la señal, que es un portador material de información. En la célula, en el organismo y en el medio existen numerosas señales que pueden ser de naturaleza física o química. Cuando esas señales varían de intensidad, de forma que son capaces de generar una respuesta, se dice que se han convertido en un estímulo; esa transformación señal-estímulo es el primer componente de todo sistema de regulación.

Para que el estímulo pueda provocar una respuesta debe existir una estructura capaz de captarlo y esta es el receptor. Casi siempre las señales extracelulares no pueden directamente provocar respuestas, por lo que se hace necesario convertir esa señal-estímulo en otra reconocible por los componentes celulares, esa función la desarrolla el transductor. Por último, debe existir una estructura que genera la respuesta directamente y ese es el efecto. En los sistemas de regulación enzimática el efecto es una enzima específica, que como resultado de su acción aparece la respuesta, que es el resultado final del sistema. En muchas ocasiones entre el transductor y el efecto existe un componente que tiene como función potencializar la acción del estímulo, de manera que la respuesta presente una intensidad mucho mayor que el estímulo que le dio origen, esa estructura es el amplificador.

Los receptores y algunos transductores serán estudiados en el tomo II, aquí solo se harán algunos comentarios sobre los demás componentes del sistema.

La señal más empleada en el interior del organismo es la concentración de alguna sustancia en un líquido o tejido corporal; la variación de la concentración puede ser el estímulo. Existen sustancias que solo desarrollan el mecanismo cuando su concentración aumenta, unas cuando disminuye y otras tanto al aumentar como al disminuir su concentración.

Las enzimas son los efectores de estos sistemas, existen dos formas fundamentales de su actuación: la primera es variar la velocidad de las reacciones que estas catalizan, aumentándola o disminuyéndola, de manera que toda la vía metabólica en la cual participan se adapte a la situación reflejada por el estímulo; la segunda es variando su especificidad, donde solo se conocen algunos casos que serán discutidos.

Como el efecto es una (o varias) enzima, la respuesta que se obtiene es siempre de una intensidad mayor que la del estímulo que dio origen, debido a la elevada capacidad catalítica de las enzimas, pero se ha incluido en el esquema la existencia del amplificador porque en ocasiones existe un componente del sistema, cuya función fundamental es la de amplificar la respuesta; más adelante se puede ver un ejemplo en el acápite de modificación covalente.

La característica sobresaliente de la respuesta es que tiende a modificar el estímulo que le dio origen, tratando de que este vuelva a su situación inicial, con lo cual el sistema de regulación quedaría desconectado; si el sistema se conecta cuando la concentración de una sustancia en sangre aumenta, la respuesta tiende a provocar la disminución de ese componente en la sangre, con lo cual el sistema se desconectaría.

En algunas enfermedades metabólicas el organismo no es capaz de responder de forma adecuada a un estímulo y pueden aparecer los llamados círculos viciosos, donde, por ejemplo, la elevación de la concentración de una sustancia genera una respuesta que tiende a aumentar esa concentración, lo cual estimula otra vez el mecanismo y así sucesivamente.

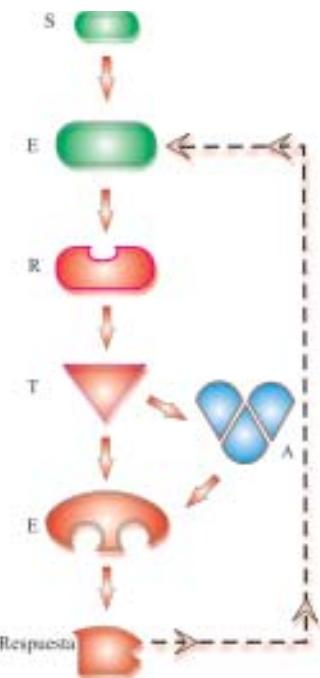


Fig. 17.1. Componentes de un sistema de regulación. La señal (S) existe generalmente como la concentración de una sustancia específica cuya variación la convierte en estímulo (E) que es captado por el receptor (R). El transductor (T) convierte el estímulo en una señal interna del sistema, que bien puede transmitirse al amplificador (A) que aumenta la intensidad de la señal, o pasar de manera directa al efecto (E), que da lugar a la aparición de la respuesta. Esta respuesta, tarde o temprano, modifica el estímulo inicial cerrando el ciclo de regulación.

Regulación alostérica

La regulación alostérica se basa en cambios en la conformación de la enzima, debidos a la unión no covalente de efectores, que determinan cambios en la actividad catalítica.

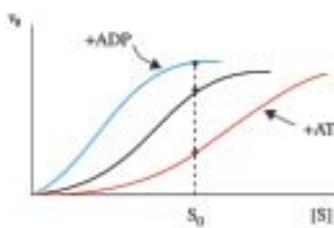


Fig. 17.2. Modificación de la actividad de una enzima alostérica. La fosfofructoquinasa es una enzima alostérica, como se deduce del comportamiento de su velocidad al variar la concentración de sustrato (en negro). La presencia de ATP desplaza la curva hacia la derecha (en rojo) y por tanto actúa como un inhibidor. La concentración de ADP desplaza la curva hacia la izquierda (en azul), actúa como un activador.

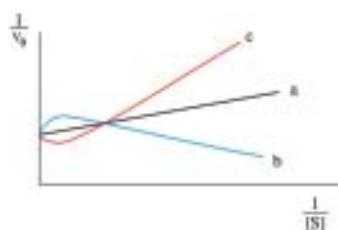


Fig. 17.3. Efectos cooperativos. Al construir la gráfica doblemente recíproca, si no existen efectos cooperativos se obtiene la recta que aparece en (a). La aparición de una concavidad inferior en el inicio de la curva (b) indica un efecto cooperativo negativo, mientras que la concavidad superior (c) indica que el efecto es positivo.

Cada vez es más numerosa la cantidad de enzimas que al estudiarse el comportamiento de la velocidad de las reacciones, por estas catalizadas en función de la concentración de sustrato, se obtienen curvas diferentes a la hiperbólica de Michaelis - Menten, que en la mayoría de los casos tienen un aspecto sigmoidal (en forma de S alargada). Estas curvas se desplazan a lo largo del eje de las abcisas cuando se añaden a la reacción algunas sustancias específicas, como se muestra en la figura 17.2 para la enzima fosfofructoquinasa. Se observa que para la misma concentración de sustrato (S_0) pueden obtenerse diferentes velocidades de reacción al variar la concentración de las sustancias añadidas, luego una característica esencial de estas enzimas es presentar una actividad variable. Las enzimas que así se comportan reciben el nombre de alóstéricas.

Un concepto muy ligado al fenómeno alóstérico es el de cooperatividad aunque existen diferencias entre ambos; se dice que hay cooperatividad cuando la unión de un ligando a una enzima (y por extensión a cualquier macromolécula) influye sobre la unión posterior de otros ligandos. La cooperatividad puede ser positiva cuando la unión del primer ligando aumenta la afinidad por otros ligandos, o negativa cuando la disminuye. La cooperatividad positiva puede identificarse, en los estudios de velocidad a función de la concentración de sustrato, por la aparición de una concavidad hacia arriba en la gráfica doblemente recíproca $1/v$ vs $1/[S]$ (Fig. 17.3). Por el contrario, la cooperatividad negativa (o anticooperatividad) puede demostrarse por la aparición de una concavidad hacia abajo en la gráfica doblemente recíproca.

Estas interacciones de los ligandos dan lugar a dos tipos de efectos, el homotrópico y el heterotrópico. Se denomina efecto homotrópico cuando la unión de un ligando influye sobre la unión subsiguiente del mismo ligando a la enzima, y heterotrópico cuando la influencia se realiza sobre un ligando diferente.

Cuando la unión de una molécula de sustrato aumenta o disminuye la afinidad de la enzima por otras moléculas del mismo sustrato, el efecto es de tipo homotrópico, y cuando la unión de un activador aumenta la afinidad por el sustrato, entonces el efecto es heterotrópico.

Se estudiarán ahora los modelos propuestos para explicar el fenómeno del alosterismo.

Modelo simétrico o concertado

El modelo simétrico se basa en la existencia de la enzima en dos conformaciones de diferente actividad que se encuentran en equilibrio.

Se han propuesto varios modelos para explicar las causas del comportamiento de las enzimas alóstéricas; desarrollaremos aquí una exposición sobre los dos modelos principales: el simétrico o concertado y el secuencial. El modelo simétrico o concertado fue elaborado en 1965 por Jacques Monod, Jeffries Wyman y Jean-Pierre Changeux, del Instituto Pasteur de París, fue el primer modelo propuesto en términos moleculares y el más sencillo.

Según este modelo, las enzimas alóstéricas existen en dos estados conformativos interconvertibles, que denominaron R (relajado) y T (tenso). Estas enzimas son

oligoméricas, están formadas por varias subunidades (estructura cuaternaria) y todas se encuentran en el mismo estado conformacional, de ahí el nombre de simétrico. El tránsito de una subunidad, en un estado conformacional hacia otro, se transmite a las otras subunidades, haciendo que todas estas adopten la misma conformación, por lo que reciben el nombre de concertado. Si existen cuatro subunidades en una enzima alostérica pueden darse solo dos situaciones: la forma RRRR o TTTT, ya que las formas híbridas RTTT, RRTT y RRRT no son posibles según este modelo.

A la enzima puede unirse no solo el sustrato, sino algunas sustancias específicas (ligandos), pero la enzima presentará diferente afinidad para cada uno de estos, de acuerdo con el estado conformacional en que se encuentre. Como cada estado conformacional presenta diferente afinidad por cada uno de los ligandos, puede simplificarse mucho el análisis, si se parte del supuesto caso que en uno de esos estados la afinidad para alguno de los ligandos es cero y por lo tanto, los ligandos podrán unirse a la enzima en solo uno de sus estados conformacionales; este es un caso extremo para adecuar la explicación a los estudiantes. Si el sustrato puede unirse al estado R y no al T, entonces R representa la conformación activa, pues no puede haber transformación sin unión, lo que indica que en el estado R existe una conformación del centro activo que facilita la unión del sustrato, mientras que en el estado T la unión del sustrato al centro activo no es posible.

Además del centro activo, existen en las subunidades otros sitios de unión específicos para los ligandos, pero también cada sitio presenta una conformación adecuada para cada ligando solo en una de sus dos conformaciones, nunca en las dos. Estos sitios son muy específicos, en lo cual se parecen al centro activo, pero en ellos no se produce la transformación del ligando; los ligandos se unen a esos sitios por fuerzas no covalentes y de forma muy reversible; cuando la concentración de un ligando aumenta en el medio, se favorece su asociación, y al disminuir ocurre la disociación. La existencia de estos sitios es lo que determinó la denominación de alóstérico, palabra que proviene de las voces griegas *allo*, que significa otro, diferente, y *stereo*, que significa espacio, sitio, lugar; por tanto las enzimas alóstéricas son aquellas que presentan otros sitios diferentes al centro activo. Como puede colegirse de su descripción, los sitios alóstéricos al igual que el centro activo son sitios de reconocimiento molecular; un caso bien sencillo permitirá analizar ahora el funcionamiento del modelo: una enzima contra ligandos, uno de los cuales es el sustrato (S), los demás son el ligando A, que solo puede unirse al estado R, y el I, que solo lo hace al estado T.

En ausencia de los tres ligandos la enzima existe en un equilibrio entre los dos estados conformacionales, caracterizados por una constante de equilibrio que recibe el nombre de constante alóstérica (L).



$$L = [T] / [R]$$

Al comenzar a añadir el sustrato, este se une a la forma R, formando el complejo RS, equivalente al complejo ES ya estudiado; en este momento se produce una disminución de la concentración de R y el equilibrio se desplaza, aumentando la concentración de R y disminuyendo la de T; mientras más aumenta S, también R y con ello la velocidad de la reacción. El paso de T a R significa un aumento de la fracción de centros activos útiles y de ahí el efecto sobre la velocidad; esta situación explica por qué la unión del sustrato a la enzima favorece la unión sucesiva de los sustratos, o sea, un efecto cooperativo que es homotrópico positivo.

La acción de los efectores es desplazar el equilibrio de las conformaciones, los activadores hacia la forma más activa y los inhibidores hacia la menos activa.

Si añadimos al sistema la sustancia A, esta se une a la forma R, formando el complejo RA, que aumenta el desplazamiento del equilibrio hacia la conformación activa. Como A y S se unen por sitios diferentes, se darán las situaciones siguientes:



Se observa que existen cuatro formas para el estado activo y solo la forma R está en equilibrio con T, por lo que los incrementos de velocidad son considerables.

A las sustancias que como A se unen al estado activo y con ello favorecen un incremento de la velocidad de reacción se les denominan efectores positivos o activadores alostéricos.

Si en vez de A, al sistema en equilibrio se le añade el ligando I, este se une al estado T, formando el complejo TI que provoca un desplazamiento del equilibrio en el sentido contrario al observado anteriormente, con lo cual la concentración del estado T aumenta y la del R disminuye; mientras mayor sea la concentración de I añadido, mayor será la fracción de enzima en estado T, lo cual implica un decremento en la velocidad de reacción, pues es menor el número de centros activos con la conformación favorable para la unión con el sustrato.

A las sustancias que como I se unen al estado inactivo y que provocan una disminución de la velocidad de la reacción, se les conoce como efectores negativos o inhibidores alostéricos; estos aspectos en forma generalizada aparecen en la figura 17.4.

Modelo secuencial

A diferencia del modelo simétrico, el secuencial permite que las subunidades cambien de conformación con relativa independencia unas de otras. Es posible la existencia de híbridos conformacionales.

No todas las enzimas alostéricas pueden ser explicadas mediante el modelo simétrico o concertado, por lo cual se han propuesto otros modelos; uno de estos es el modelo secuencial desarrollado por Daniel Koshland, Jr., que se basa en los aspectos siguientes:

1. Existen dos estados conformacionales (R y T) posibles para cada una de las subunidades de la enzima.
2. La unión del sustrato cambia la conformación de la subunidad a la cual se une, pero la conformación del resto de las subunidades no se altera apreciablemente.
3. La transconformación ocurrida en la subunidad que ha ligado al sustrato puede incrementar o disminuir la afinidad por el sustrato de las demás subunidades de la misma enzima.

En la figura 17.5 se muestra la unión del sustrato a una enzima alostérica, según el modelo secuencial.

La unión es cooperativa si la afinidad de R TTT, RRTT o RRRT por el sustrato es diferente que la de TTTT.

Este modelo difiere del anterior en varios aspectos, primero, no se postula la existencia de un equilibrio entre las conformaciones de la enzima, previo a la unión con el sustrato, sino que la transición T → R es inducida por la unión del sustrato. El cambio de

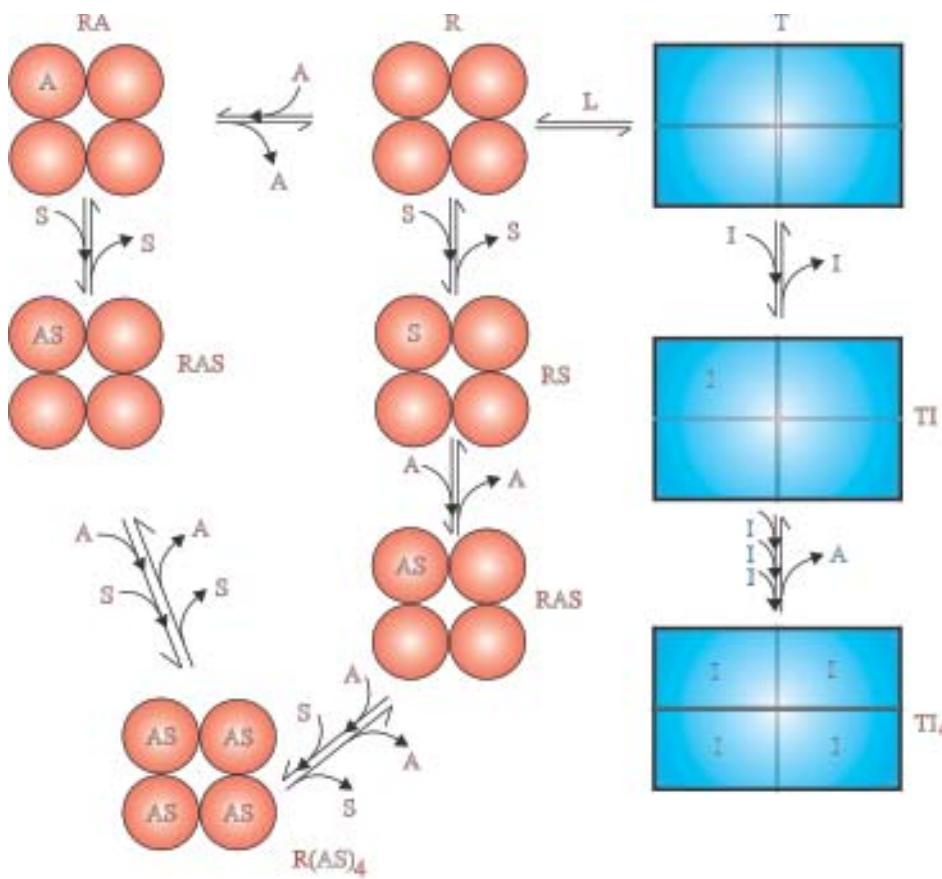
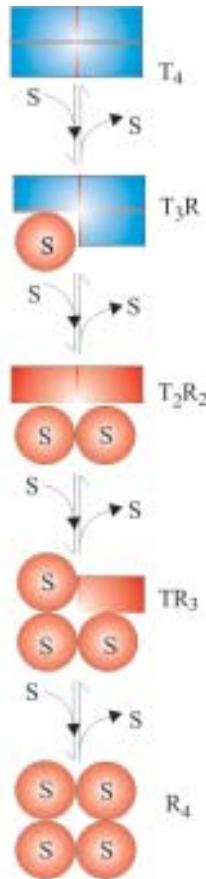


Fig. 17.4. El modelo simétrico o concertado. La enzima se presenta en dos conformaciones (R y T) que están en equilibrio según la constante L. La adición del sustrato (S) o del activador (A) desplaza el equilibrio hacia la forma R, dando lugar a la formación de diferentes complejos. La presencia del inhibidor (I) desplaza el equilibrio hacia la forma T, con lo cual disminuye la velocidad de la reacción. La velocidad global de la reacción depende de la fracción de enzima que se encuentra en estado R.



conformación T → R en las diferentes subunidades es secuencial y no concertado, de manera que los estados conformacionales híbridos, inaceptables en el modelo concertado, tienen en el secuencial una función predominante.

El modelo concertado supone que la simetría molecular es esencial para la interacción de las subunidades y por tanto requiere que esa simetría se conserve durante la transición alostérica; por el contrario, el modelo secuencial plantea la posibilidad de interacciones entre las subunidades, aun cuando estas presenten conformaciones diferentes.

Por último, este modelo difiere en que las interacciones homotrópicas son siempre positivas en el modelo concertado, pero pueden ser positivas o negativas en el modelo secuencial. Si la segunda molécula del sustrato puede unirse de forma más o menos fuerte que la primera, depende de la naturaleza del cambio inducido por la unión de la primera molécula del sustrato.

Cabe preguntarse entonces cuál de los dos modelos es el correcto. Estudios detallados con numerosas enzimas han puesto de manifiesto que en algunos casos el modelo concertado es el aplicable, mientras que en otros es el secuencial. Sin embargo, existe un grupo numeroso de enzimas en que no es aplicable ninguno de los dos; esto hace necesaria la aparición de otros modelos que puedan generalizar los conocimientos existentes y proporcionar una herramienta cognoscitiva de gran alcance para el estudio de las enzimas alóstéricas.

Fig. 17.5. El modelo secuencial. A diferencia del modelo simétrico, las formas R y T no están en equilibrio y la unión del sustrato se produce de manera secuencial, pues solo afecta la conformación de la subunidad a la cual se ha unido. El modelo admite la formación de híbridos conformativos. La velocidad global de la reacción dependerá de la fracción de subunidades que estén en la conformación más activa.

Características generales de las enzimas alostéricas

Las enzimas alostéricas responden con gran sensibilidad a sus efectores y se encuentran generalmente al inicio de las vías metabólicas, propiciando una regulación más eficiente.

No obstante, independientemente del modelo que se aplique, existen algunas características generales de estas enzimas, que pudiéramos resumir como:

1. Son proteínas oligoméricas de peso molecular elevado y estructura compleja con raras excepciones.
2. Las enzimas existen en varios estados conformacionales interconvertibles y con un grado de afinidad diferente para cada uno de sus ligandos.
3. Los ligandos se unen a la enzima en sitios específicos por fuerzas no covalentes y de forma reversible, afectando el estado conformacional de las enzimas.
4. Los cambios conformacionales en una subunidad se comunican en mayor o menor grado al resto de las subunidades.
5. La curva de velocidad en función de la concentración de sustrato siempre presenta una forma diferente a la clásica curva hiperbólica de Michaelis-Menten.

Lo importante de este tipo de modificación es que los activadores e inhibidores no son materiales de laboratorio, como en los casos estudiados anteriormente, sino sustancias propias de la célula y cuya concentración varía como consecuencia de la propia actividad celular. En ocasiones el activador y el inhibidor forman una pareja cuyas concentraciones varían de manera contraria, cuando aumenta la de uno de ellos, disminuye la del otro. Estas variaciones de concentración constituyen estímulos metabólicos que adaptan el funcionamiento de las enzimas a las condiciones celulares en constante cambio.

La pareja que con mayor frecuencia cumple estas funciones es la formada por el ATP y el ADP, sus concentraciones relativas controlan un gran número de actividades enzimáticas y con ello de rutas metabólicas enteras; para comprender esta situación es conveniente recordar el ciclo general del ATP.

Formación de ATP:



Formación de ADP:



Como se aprecia en las reacciones, al formarse el uno del otro, las concentraciones de estos compuestos varían de forma contraria, así, al aumentar las concentraciones de ATP disminuyen las de ADP y viceversa.

En el ejemplo de la fosfofructoquinasa, tratado al inicio, el ATP es un efecto negativo (inhibidor) y el ADP es positivo (activador); como las concentraciones de ambos no pueden aumentar simultáneamente, en cada momento la enzima solo estará expuesta a elevadas concentraciones de uno de ellos y así será su respuesta. Esta enzima no presentará entonces una actividad fija, por el contrario, su actividad variará de forma tan amplia como sea la variación de concentración de ATP y ADP; pero como las concentraciones de ATP y ADP varían como consecuencia de la actividad celular, y cada una de ellas representa situaciones celulares diferentes, la actividad de esta enzima estará adaptada a las situaciones celulares y podrá cambiar cuando la situación varíe.

Otro aspecto importante de estas enzimas es su ubicación en las rutas metabólicas; para la transformación total de un sustrato se requieren numerosas reacciones químicas,

cada una produce un cambio gradual en la estructura del sustrato (Fig. 17.6). Para la conversión de A en G se necesitan seis reacciones, cada una de estas catalizada por una enzima diferente, que van originando los intermediarios B, C, D, E y F

Las enzimas alostéricas casi siempre catalizan una de las primeras reacciones, con lo cual estas rutas se regulan desde el inicio, permitiendo que funcionen solo en condiciones celulares adecuadas. Esta ubicación hace posible que la célula utilice la cantidad indispensable de sustancia y energía para su funcionamiento, sin gastos excesivos. Esta situación, que se observa como una regularidad en casi todas las rutas metabólicas, es la que hemos expresado bajo la denominación de principio de la máxima economía.

Existen otras formas de manifestarse el alosterismo en diferentes tipos de enzimas, hay casos en que los sitios reguladores y catalíticos están en la misma subunidad y otros en diferentes, destacándose la subunidad catalítica y la reguladora; los cambios provocados por el efecto pueden influir sobre el estado de asociación de las enzimas que tienen la posibilidad de existir como monooligómeros y polioligómeros, por lo que en unos casos puede ser activo el monooligómero y en otros el polioligómero. Hay otros casos de mayor complejidad que salen de los marcos de este texto.

Por último, es bueno señalar que el alosterismo no es privativo de las proteínas enzimáticas y aparece también en proteínas que realizan otro tipo de funciones; la primera proteína alostérica estudiada fue la hemoglobina, que no es una enzima, sino un transportador de oxígeno en la sangre. Otras proteínas no enzimáticas con propiedades alostéricas incluyen a los transportadores de membrana, como se estudiará en el tomo II, Fig. 17.6. Ubicación de las enzimas reguladoras. La conversión de A en G requiere el concurso de seis enzimas, una de ellas tiene propiedades reguladoras y se encuentra ubicada al principio de la vía, de forma que al controlarse la reacción en que participa, de hecho se está controlando la vía completa. En el esquema la enzima reguladora es E2 (en rojo) y por tanto todo el funcionamiento de la vía dependerá de la velocidad de formación del intermediario C.

El alosterismo constituye un fenómeno muy difundido en el comportamiento de numerosas proteínas que realizan funciones diversas, y que desarrollan un mecanismo básico por el cual la acción de esas proteínas es modulada.

Modificación covalente

La modificación covalente se fundamenta en cambiar la actividad de la enzima por medio de una modificación covalente de su estructura.

Existe otro grupo de enzimas que se regula de forma diferente a las anteriores; estas enzimas existen en las células en dos formas que difieren en su composición, lo cual las distinguen de las alostéricas; esta situación da origen a estados conformacionales alternativos en dependencia de la composición. La diferencia en la composición se debe a los grupos químicos de naturaleza no proteínica que se unen a la enzima; lo que distingue a estas enzimas de las alostéricas es que dichos grupos están unidos a la enzima de forma covalente, de ahí el nombre del mecanismo, e implica una forma de la enzima modificada y otra no modificada; estas formas son interconvertibles pero, como se trata de la formación o ruptura de enlaces covalentes, se requiere de una pareja de enzimas para catalizar el paso de una forma a la otra (Fig. 17.7).

Lo más importante para el mecanismo es que las dos formas difieren en su grado de actividad y siempre una de estas será mucho más activa que la otra.

En los sistemas de modificación covalente no existe una forma general de describir los estados activos o inactivos, como en las enzimas alostéricas, pues en este caso cada pareja de formas enzimáticas tiene sus peculiaridades, en una determinada enzima la forma más activa es la modificada, en otra es la no modificada.

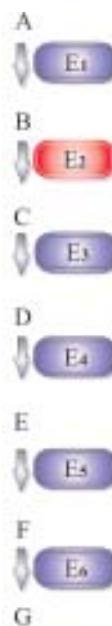
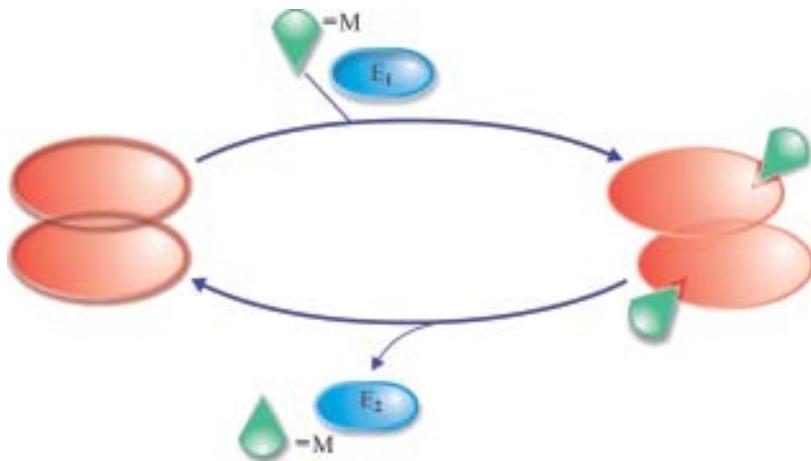


Fig. 17.7. La modificación covalente. En la regulación por modificación covalente e las enzimas se presentan también en dos formas, pero en este caso se diferencian por su composición; la diferencia consiste en la presencia de un grupo químico relativamente pequeño (en verde) que está unido covalentemente a la enzima. La actividad de la enzima puede aumentar o disminuir en dependencia de que presente o no el grupo adicional. En el mecanismo hay dos enzimas adicionales, una (E_1) incorpora el grupo modificador (M) y la otra (E_2) lo retira; estas dos enzimas están sometidas a mecanismos específicos de regulación.



Los sistemas de modificación covalente más estudiados son los de fosforilación-desfosforilación, adenilación-desadenilación, acetilación-desacetilación y el intercambio sulfihidrilo-disulfuro. Se describirán los dos primeros por estar más difundidos en la naturaleza.

Modificación por fosforilación-desfosforilación

El mecanismo más frecuente de modificación covalente es el ciclo de fosforilación y desfosforilación de las enzimas.

Este parece ser el mecanismo más difundido en la naturaleza; la diferencia entre las dos formas de la enzima consiste en que una de estas presenta uno o varios grupos fosfatos unidos de manera covalente a residuos de aminoácidos de la enzima.

Todos los sistemas de fosforilación-desfosforilación presentan al menos dos componentes esenciales: una proteína quinasa que fosforila las enzimas, y una fosfoproteína fosfatasa que hidroliza el enlace éster fosfórico. Las proteínas quinasas se clasifican en dos grupos: aquellas que incorporan el grupo fosfato a residuos de serina o treonina y las que lo hacen a la tirosina; solo estudiaremos las primeras. Estas proteínas exhiben un grado variable de especificidad de sustrato, pues algunas de ellas pueden fosforilar un número considerable de proteínas enzimáticas o no y por eso se les designa como proteínas quinasas; otras son casi específicas para un sustrato y por eso se identifican con el nombre de este, como es el caso de la glucógeno fosforilasa quinasa.

Existen numerosas proteínas quinasas, pero quizás la mejor caracterizada de todas es la proteína quinasa A (PK-A) dependiente de AMPc; esta enzima ha sido localizada en numerosas especies desde la levadura hasta los mamíferos, pero no ha sido localizada en procariotes y la que está presente en plantas superiores difiere notablemente de la de los mamíferos.

La enzima de los mamíferos está compuesta por dos tipos de subunidades: la reguladora (R) y la catalítica (C), cada molécula de enzima contiene dos de cada una, para una fórmula subunitaria $R_2 C_2$.

Existen dos tipos principales de proteínas quinasas dependientes de AMPc que se distinguen por las características de la subunidad R. Las dos isoenzimas se diferencian por su distribución hística, la secuencia de aminoácidos, la habilidad para autofosforilarse, la unión con el AMPc y la interacción con las subunidades C.

La holoenzima se presenta como una proteína tetramérica inactiva de 150 a 170 kD. La subunidad C tiene una masa molecular de 40,5 kD y las subunidades R (R_I R_{II}) de 42 y 45 kD, respectivamente. Cuando el AMPc se une a la subunidad R, el complejo se

disocia formando R_2AMPc_4 y dos subunidades C activas; una vez disociada la holoenzima, la subunidad C es la que cataliza la fosforilación de las enzimas (Fig. 17.8).

Las fosfoproteínas fosfatases también presentan diferente grado de especificidad de sustrato, por lo cual se acostumbra a clasificarlas como específicas e inespecíficas; entre las primeras se encuentra la piruvato deshidrogenasa fosfatasa que es específica para esa enzima; por su parte las inespecíficas se subdividen en dos grandes grupos, denominados 1 y 2. Las fosfoproteínas fosfatases 1 son generalmente particuladas y pueden ser inhibidas por péptidos específicos, en tanto las de tipo 2 son solubles y no se les conocen péptidos inhibidores. Estas últimas se subdividen a su vez en tres grupos designados A, B y C, atendiendo al tipo de cationes divalentes que requieren para su funcionamiento; su función es hidrolizar los enlaces ésteres que se forman entre el grupo fosfato y los residuos de aminoácidos de las proteínas, convirtiendo de ese modo la forma modificada en no modificada.

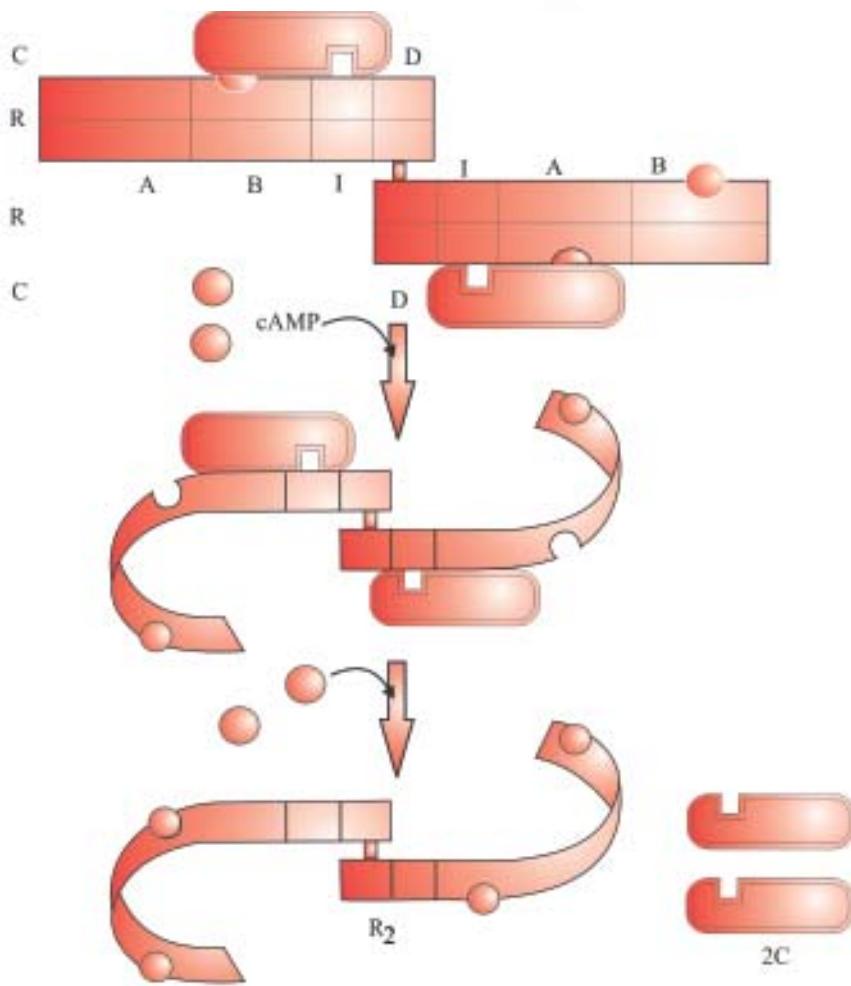


Fig. 17.8. Activación de la proteinquinasa dependiente de AMPc. La enzima se presenta como un tetrámero inactivo formado por dos subunidades reguladoras (R) y dos catalíticas (C). En la subunidad R se distinguen al menos cuatro dominios, dos para la unión al AMPc (A y B), uno que es el inhibidor de la actividad catalítica (I) y el último el de dimerización (D). La unión del AMPc a uno de los sitios de las subunidades reguladoras produce una transconformación que expone el segundo sitio que, al ser ocupado por el AMPc, provoca la disociación del tetrámero de forma que las subunidades catalíticas pasan a su forma disociada activa.

Se han identificado dos proteínas inhibidoras de las fosfoproteínas fosfatases 1 y se nombran I y II. La proteína inhibidora I de las fosfatases existe en dos formas, una fosfatada que es activa y otra no fosfatada que es inactiva. Cuando la proteína quinasa A se activa no solo fosforila las enzimas, sino que, además, dificulta su desfosforilación al activar al inhibidor de las fosfatases.

En ocasiones, entre la proteína quinasa y la enzima que realiza el efecto metabólico existen otras proteínas quinasas con un mayor grado de especificidad.

El sistema de regulación del catabolismo del glucógeno es un ejemplo muy ilustrativo de cómo opera la modificación covalente en la regulación del metabolismo. La enzima glucógeno fosforilasa (GP) cataliza la ruptura de enlaces glucosídicos del glucógeno por acción del ácido fosfórico; esta enzima presenta una forma fosfatada (GPF) de elevada actividad y otra no fosfatada, prácticamente inactiva; mientras mayor sea la concentración de GPF, mayor número de enlaces glicosídicos serán rotos.

La quinasa que cataliza la conversión de la forma no fosfatada en fosfatada también presenta dos formas de composición diferentes: una fosfatada y otra no fosfatada. Esta enzima casi específica para la glucógeno fosforilasa recibe el nombre de glucógeno fosforilasa quinasa (GFK), pues ahora su sustrato es una enzima; por tanto para activar la GFK se requiere de otra quinasa y para inactivarla, de otra fosfatasa.

La enzima que activa la GFK es la proteína quinasaA (PK-A) dependiente de AMPc.

El mecanismo funciona de la forma siguiente:

- El AMPc actúa sobre PK-A y pasa a su forma activa



- La subunidad C de la PK-A fosforila la GFK con el ATP como fuente de fosfato



- La GFK-P fosforila la GP, también con el uso de ATP



- La GP-P produce la ruptura de los enlaces glicosídicos con ácido fosfórico



Como conclusión podemos decir que la aparición del AMPc provoca, a través de todo el mecanismo, un aumento en la velocidad de ruptura de los enlaces del glucógeno.

Modificación por adenilación-desadenilación

El ejemplo mejor estudiado es la enzima glutamina sintetasa de *E. coli*. Esta enzima cataliza la formación de glutamina a partir de glutámico y NH₃ dependiendo de la hidrólisis del ATP. La molécula consta de 12 subunidades de 50 kD cada una, forma dos estructuras hexagonales que se superponen.

Esta es una enzima central en el metabolismo, pues regula el flujo de nitrógeno que una vez incorporado al grupo amida de la glutamina puede ser utilizado en la síntesis de numerosos compuestos como triptófano, histidina, carbamilfosfato, glucosamina-6-fosfato, CTP y AMP. La enzima es inhibida de forma acumulativa por cada uno de esos productos y además por la alanina y la glicina; parece ser que posee un sitio de unión específico para cada uno de estos inhibidores, y su actividad cesa casi por completo cuando está ligada a todos estos.

Otro hecho significativo es que su actividad también se regula por modificación covalente al incorporarse un grupo adenilato (AMP) al grupo hidroxilo de una tirosina específica en cada subunidad. La forma adenilada es mucho más sensible a la inhibi-

ción acumulativa que la no adenilada. El grupo AMP puede ser retirado de la enzima por fosforólisis.

Uno de los hechos más curiosos de este proceso es que tanto la reacción de adenilación como la de desadenilación son catalizadas por la misma enzima, la adenilato transferasa. Esta enzima está controlada a su vez por una proteína reguladora – que habitualmente se designa como P_A – que está formada por dos subunidades y puede presentarse en dos formas: P_A y P_D . El complejo de la adenilato transferasa con P_A une el AMP a la glutamina sintetasa y con ello disminuye su actividad, mientras que el complejo de la transferasa con P_D cataliza la fosforólisis que elimina el grupo AMP.

Aquí aparece otro nivel de regulación covalente, pues P_A es convertida en P_D por la adición de uridín monofosfato (UMP) a cada subunidad, en una reacción catalizada por la uridiltransferasa; esta enzima es activada por el ATP y el ácido α -cetoglutárico e inhibida por la glutamina; a su vez los grupos UMP son eliminados de la proteína por hidrólisis. Un resumen de las principales características de la glutamina sintetasa se representa en la figura 17.9.

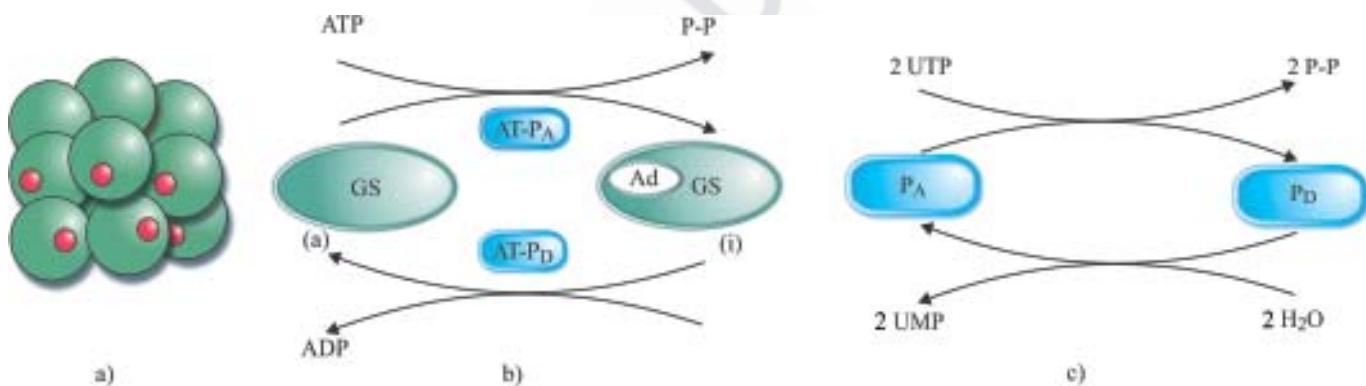


Fig. 17.9. Regulación de la glutaminasintetasa. La enzima está formada por 12 subunidades, agrupadas en forma de dos hexágonos (a). La adenilación se produce por la acción del complejo constituido por la adenilatotransferasa (AT) y la proteína P_A , y la desadenilación cuando la transferasa se une a la proteína P_D (b). La conversión de P_A en P_D se realiza por la uridiltransferasa, mientras la reacción inversa se lleva a cabo por hidrólisis (c).

El significado metabólico de este sistema es que la adenilación es inhibida y la desadenilación activada cuando el aporte de nitrógeno metabólicamente útil es bajo, y lo contrario cuando el suministro es adecuado.

Otros tipos de modificaciones

Hace más de 30 años se conoce que la actividad de algunas enzimas puede ser modificada por la formación de enlaces disulfuros en las proteínas enzimáticas; este tipo de modificación covalente puede ser resultado de la reacción con un agente externo que queda unido a la enzima



o por la formación de puentes disulfuro intramoleculares



Estas reacciones son similares a las de formación de los enlaces disulfuro que estabilizan la estructura terciaria de las proteínas, difieren de estos en que en la enzima nativa los disulfuros involucrados en la regulación deben estar accesibles a la reducción

por tioles externos, ya que la regulación por este mecanismo se realiza como respuesta a los cambios en el estado *redox* de la célula y solo puede ocurrir si la reacción es muy reversible.

La reacción de intercambio es catalizada por enzimas que están presentes en el citosol y el sistema de membranas de la célula; entre las enzimas reguladas por este mecanismo se encuentran la piruvatoquinasa, hexoquinasa y glucosa-6-fosfatasa hepática, y la fosfofructoquinasa y fructosa-1,6-bisfosfatasa del músculo. Aun cuando ha sido estudiado minuciosamente el significado metabólico de este mecanismo, no está esclarecido de manera convincente.

Otro tipo de modificación descrito en casi todos los eucariontes se produce por la transferencia a algunas enzimas del grupo 5'-ribosil-ADP proveniente del NAD. El significado de esta modificación no está del todo claro, aunque parece estar vinculado de alguna forma con los procesos de síntesis de las macromoléculas informacionales; un ejemplo de este tipo se trata en el capítulo 30. Menos estudiado es el caso de algunas enzimas bacterianas que se controlan por acetilación y desacetilación.

Por último, es conveniente añadir que como el alosterismo, la modificación covalente no es un mecanismo de modulación exclusivo de las enzimas y que se verá en otros tipos de proteínas como los transportadores de membrana, etcétera.

Fenómeno de amplificación

Los mecanismos de regulación por modificación covalente suelen amplificar la señal en cientos o miles de veces.

La presencia de estos dos mecanismos de regulación puede llevar a la pregunta de ¿cuál es más eficiente para la célula en el control del metabolismo? Los estudios experimentales han demostrado que ambos tipos de mecanismos son eficaces; estos resultados conducen a otras preguntas: ¿por qué existe la regulación covalente, si esta representa un gasto energético mayor y se obtiene la misma eficacia que con el alostérico? ¿No podría lograrse también con un mecanismo alostérico que representa incluso un ahorro de enzimas para la célula? Realmente así es, pero este mecanismo presenta una ventaja que no es posible obtenerla con el alosterismo.

Otra vez la regulación de la glucogenólisis proporciona el ejemplo más ilustrativo; suponga que las enzimas involucradas en el proceso son capaces de transformar 100 moléculas de sustrato por minuto, lo cual representa un número de recambio muy bajo, si se trata de enzimas; suponga, además, que en una determinada situación se forman cuatro moléculas de AMPc por minuto y observe qué sucede (p. 3.10): según la reacción (1), en un minuto se activa una molécula de PKA, que da 2C, pues se trata de un mecanismo alostérico, pero cada una de las moléculas de C en el minuto siguiente activará 100 moléculas de GFK, dando en total ($2 \cdot 100$) 200 GFK activas. Cada una de las GFK activará 100 de GP, pero como existen 200 moléculas activas, el número total será ($200 \cdot 100$) igual a 20 000 moléculas activas de GF-P. Cada molécula de GF-P rompe 100 enlaces del glucógeno, luego la ruptura total será de ($20\,000 \cdot 100$) igual a 2 000 000 enlaces. En resumen, por cada cuatro moléculas de AMPc se rompen 2 000 000 de enlaces glicosídicos, lo cual no es posible con el mecanismo alostérico, pues cada efecto solo actúa sobre una enzima en forma estequiométrica.

Cuando a partir de una señal metabólica determinada se produce una respuesta de intensidad considerablemente mayor que la intensidad del estímulo, se dice que el sistema posee la propiedad de amplificación.

La clave de este fenómeno de amplificación radica en que los intermediarios del proceso son enzimas, mientras mayor sea el número de intermediarios enzimáticos mayor será el grado de amplificación.

La amplificación de señales metabólicas es importante para muchos fenómenos biológicos, como la acción de las hormonas, la contracción muscular, la coagulación de la sangre, etcétera.

Es bueno señalar que no todas las modificaciones covalentes poseen un sistema de amplificación, ni toda amplificación se produce por un mecanismo de modificación covalente.

Otros mecanismos de regulación

Aun cuando los mecanismos de regulación alostérica y covalente son los más ampliamente distribuidos en los seres vivos, existen otros mecanismos que también contribuyen a la efectividad del metabolismo. En algunos casos tienen rasgos comunes con los mecanismos ya estudiados, pero por sus características singulares merecen un tratamiento diferenciado. A continuación se exponen los aspectos más notables de esos mecanismos, sin pretender agotar el tema.

Proteólisis limitada

La hidrólisis del enlace peptídico puede ser empleada para convertir una proteína inactiva en una enzima activa.

Algunas enzimas se sintetizan en forma de precursores inactivos, denominados zimógenos; la transformación al estado activo se logra cuando una enzima proteolítica cataliza la hidrólisis de uno o varios enlaces peptídicos en la molécula del zimógeno; como consecuencia de esta proteólisis limitada se produce una transconformación de la enzima que la hace activa, este caso no deja de ser una variedad de modificación covalente, pues se produce mediante la ruptura de enlaces peptídicos, aunque se diferencia por su carácter irreversible. A este tipo de mecanismo está asociada una gran amplificación, pues a veces basta con la ruptura de un solo enlace peptídico para provocar la transformación de un número considerable de moléculas del sustrato. Este mecanismo resulta de gran importancia en el proceso de la coagulación sanguínea (capítulo 63), así como en la activación de las enzimas digestivas (capítulo 54).

Variación en el estado de agregación

La velocidad de una reacción puede regularse al modificar el estado de agregación de la enzima.

Existen enzimas que se presentan en dos formas, como monómero y polímero, pero solo presentan actividad en una de estas, casi siempre el polímero. Este mecanismo de regulación consiste en modular la actividad de la enzima variando su estado de agregación; de esta forma los factores que promueven la formación del monómero o la inhibición de la polimerización disminuyen la actividad enzimática, en tanto los que favorecen la polimerización la incrementan. El caso mejor estudiado es la acetil-CoA carboxilasa, una enzima multifuncional cuya función metabólica se estudia en el capítulo 49.

La enzima es inactiva en su forma monomérica, pero es capaz de formar polímeros de hasta 20 unidades que exhiben una gran actividad catalítica; el ácido cítrico se une a la enzima y promueve la polimerización y es por tanto un activador. Los tioésteres de la coenzima A con ácidos grasos de cadena larga, especialmente el palmítico, favorecen el estado monomérico y actúan como inhibidores; es interesante que este estado de agregación también se regule por modificación covalente del monómero; la proteína quinasa A fosforila a la enzima en un residuo específico de serina e inhibe la polimerización, en tanto la proteína quinasa sensible a la insulina (ISPK) la fosforila en otro sitio y estimula la polimerización; de esta forma la actividad de la enzima depende de una parte de la concentración de sus efectores alostéricos (cítrico y acil-CoA) y de otra del nivel de actividad de las dos quinasas (ISPK y PK-A).

Interacción proteína-proteína

La actividad de una enzima puede modificarse cuando se une con otra proteína.

Cada día se conoce un mayor número de enzimas cuya actividad requiere de su interacción con otra proteína, la cual a su vez está sometida a algún mecanismo de regulación. No se conoce exactamente cómo esta interacción proteína-proteína provoca el incremento de la actividad enzimática, tal vez el caso más estudiado es el de algunas enzimas cuya actividad depende de los iones Ca^{2+} ; este catión puede actuar directamente sobre algunas enzimas y modular su actividad, pero en muchos casos esta acción reguladora depende de la calmodulina. La calmodulina es una proteína de 148 aminoácidos cuya secuencia está muy conservada de forma filogenética, posee un residuo de lisina en la posición 115 que está trimetilado y es portador de una carga positiva permanente, independiente del pH; su estructura terciaria se caracteriza por presentar dos dominios globulares, uno en cada extremo, unidos por una α -hélice de siete vueltas. En cada uno de los dominios globulares existen 6 sitios de unión para el Ca^{2+} como se muestra en la figura 17.10.

Todo parece indicar que la unión del catión provoca una transconformación de la proteína, que hace que alguna zona hidrofóbica crítica quede expuesta y por esta zona se produce la interacción con otras proteínas; esta unión promueve la actividad de la enzima.

Se conocen numerosas proteínas enzimáticas o no, cuya actividad depende de la calmodulina; entre estas existe un grupo de proteínas quinasas con variado grado de especificidad, como las proteínas quinasas dependientes de calmodulina I y II, glucógeno fosforilasa quinasa (capítulo 43), la quinasa de cadenas ligadas de miosina, etc.; al menos una de las isoformas de la adenilciclasa depende de calmodulina; un transportador activo de Ca^{2+} que utiliza la energía de la hidrólisis del ATP también es dependiente de la calmodulina, con lo cual el catión es capaz de regular su propia concentración intracelular.

Otros ejemplos de interacciones de enzimas y proteínas que serán estudiados posteriormente son: la proteína G trimérica con la adenilciclasa y algunas fosfolipasas, la proteína p21^{Ras} con proteínas quinasas y la proteína reguladora de la glucoquinasa (capítulo 42).

Translocalización de enzimas

Las enzimas pueden regularse manteniéndolas separadas del sustrato y en el momento oportuno ser transportadas hacia el sitio donde deben realizar su acción.

Este mecanismo consiste en trasladar la enzima de una localización donde es inactiva a otra donde es activa y viceversa; los agentes que favorecen la translocalización actúan como activadores o inhibidores, según el sentido del desplazamiento. Un ejemplo muy estudiado es la proteína quinasa C (PK-C), esta enzima se encuentra habitualmente en el citosol, donde es inactiva, en condiciones que promueven el incremento de la concentración intracelular de Ca^{2+} , este se une a la enzima y favorece su translocalización hacia la membrana plasmática, donde la enzima es activada por los diacilgliceroles producidos por la hidrólisis de algunos fosfolípidos de la membrana; de esta forma la enzima y su activador solo pueden entrar en contacto cuando las concentraciones intracelulares del catión lo permitan. Otro ejemplo de este tipo es la citidiltransferasa, que será estudiada en el capítulo 18.

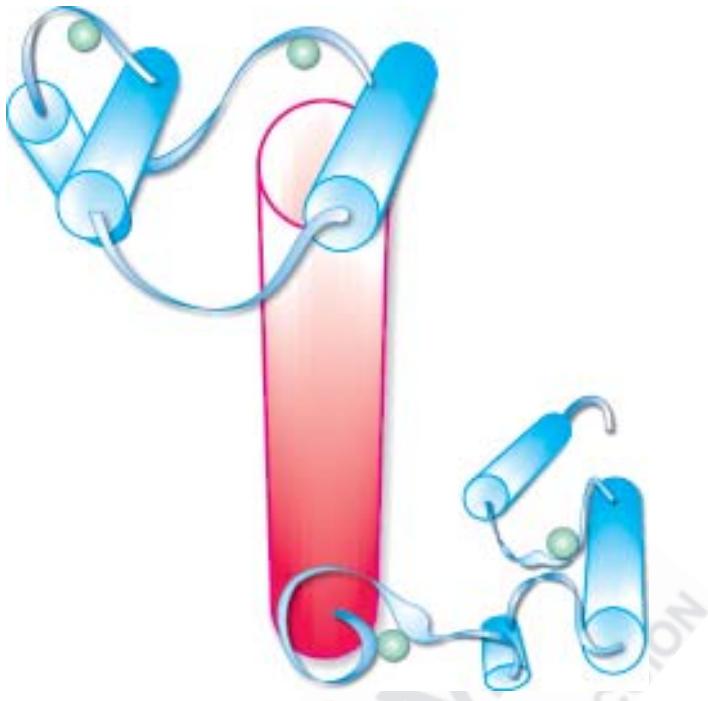


Fig. 17.10. Estructura de la calmodulina. El diagrama muestra la estructura tridimensional de la calmodulina con sus extremos, formando los dominios globulares (en azul) y la unión entre estas (en rojo). Los cilindros representan estructuras helicoidales y los círculos verdes los sitios de unión para el Ca^{2+} , que como se observa son dos en cada extremo.

Cambios en la especificidad

La actividad de las enzimas puede regularse si se hace variar su especificidad de sustrato, de acción o ambas.

Se conocen apenas una docena de enzimas cuyo mecanismo de regulación implica cambios en la especificidad de acción, de sustrato o ambos. La actividad de estas enzimas se regula a su vez por diferentes mecanismos como el alostérico covalente y la interacción con otras proteínas, en este capítulo solo se estudiarán algunos a modo de ilustración, pues otros casos serán estudiados con más detalles en capítulos posteriores.

Lactosa sintetasa. La lactosa es el azúcar de la leche; la glándula mamaria sintetiza grandes cantidades de este disacárido durante el periodo de lactancia y casi nada durante los periodos intermedios. La enzima galactosiltransferasa está presente en numerosos tejidos del organismo que cataliza la transferencia de un grupo galactosilo desde el UDP-galactosa hacia la N-acetyl-glucosamina para formar N-acetyl lactosamina; mediante esta reacción la enzima participa en la síntesis de oligosacáridos que después serán incorporados a proteínas en la formación de glicoproteínas. Esta enzima también se encuentra en la glándula mamaria y su concentración se incrementa durante el periodo de gestación.

En el momento del parto, por la acción estimulante de algunas hormonas, la glándula mamaria comienza la síntesis de una proteína denominada lactoalbúmina, que se une específicamente a la galactosiltransferasa y modifica su especificidad de sustrato; ahora el monosacárido acceptor pasa a ser la glucosa en vez de la N-acetyl-glucosamina y por tanto el producto de la reacción es la lactosa; al complejo formado por la galactosiltransferasa y la lactoalbúmina se le da el nombre de lactosa sintetasa (Fig. 17.11) (capítulo 46).

Fosfofructoquinasa-2/fosfofructofosfatasa-2. Esta es una enzima clave en el control del metabolismo de la glucosa (capítulo 44). Existen por lo menos cinco isoformas de la enzima que se encuentran distribuidas de manera específica en los diferentes tejidos, de

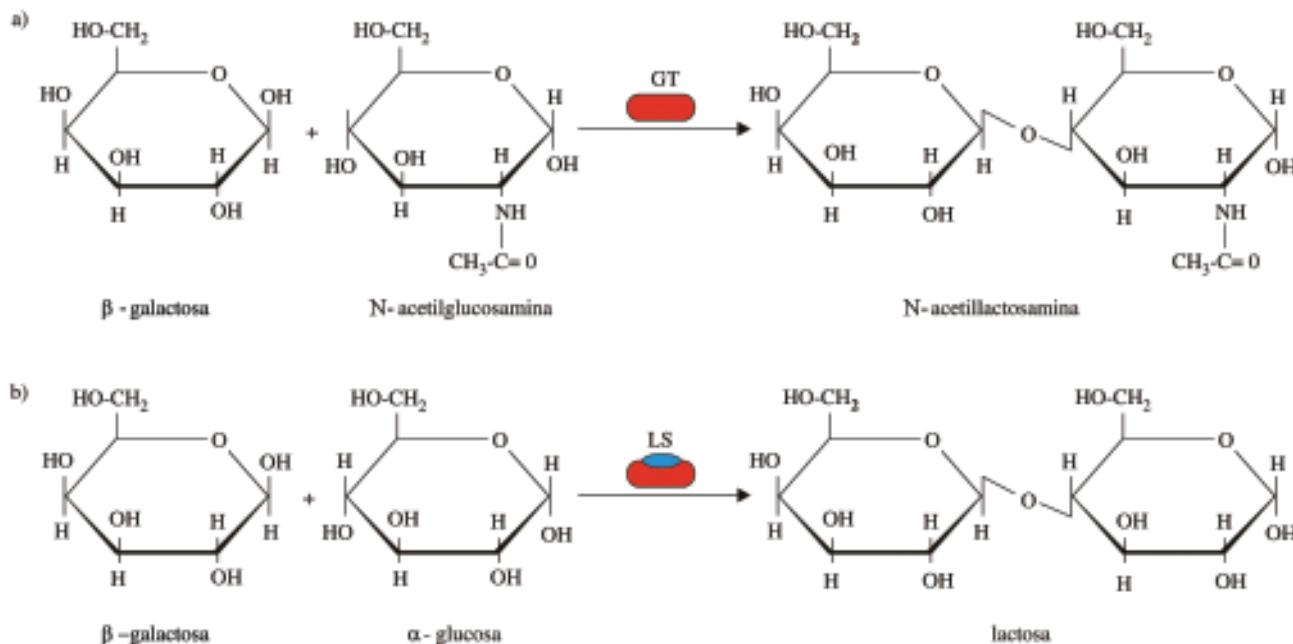


Fig. 17.11. Lactosa sintetasa. En (a) se muestra la reacción catalizada por la galactosil transferasa en ausencia de la lactoalbúmina y en (b) cómo la especificidad de la enzima, para el sustrato aceptor, cambia de la N-acetyl glucosamina a la glucosa, al unirse con la lactoalbúmina y formar la galactosa sintetasa.

estas solo la hepática y la cardíaca participan en este mecanismo. A modo de ilustración se estudiará la hepática.

La enzima tiene dos centros activos que catalizan reacciones opuestas, uno de estos transfiere un grupo fosfato del ATP hacia la fructosa-6-fosfato para formar fructosa-2,6-bisfosfato, o sea, actúa como una quinasa; el otro sitio cataliza la hidrólisis de la fructosa-2,6-bisfosfato para formar fructosa-6-fosfato, tiene actividad de fosfatasa. El mecanismo de regulación de esta enzima se realiza haciendo cambiar simultáneamente las especificidades de acción y de sustrato, de manera que en un momento determinado solo exista un tipo de actividad.

La enzima hepática está formada por dos subunidades idénticas de 55 kD cada una; hacia el extremo N terminal presenta la secuencia 27-arg-arg-arg-gli-ser-33, por lo que la serina 32 es el sitio de fosforilación por la proteína quinasa A. Al ser fosforilada la K_m para la fructosa-6-fosfato aumenta de 20 a 30 veces y la V_m disminuye a 50 o 65 % de la del estado no fosforilado, esto significa que se produce una profunda inhibición de la actividad de quinasa; por otra parte, en el estado fosforilado la V_m de la actividad de fosfatasa aumenta de dos a cuatro veces, sin cambios apreciables en la K_m para la fructosa-2,6-bisfosfato.

Estos datos indican que la enzima en su estado desfosforilado actúa como una quinasa y en el fosforilado como una fosfatasa (Fig. 17.12).

Estos cambios de especificidad permiten la adaptación del metabolismo hepático de la glucosa a las condiciones del organismo.

Otros ejemplos de este mecanismo son: la adeniltransferasa de *E. coli*, estudiada en este capítulo, relacionada con la regulación de la glutamina sintetasa; las quinasas dependientes de ciclinas que serán estudiadas en el capítulo 24 y la ribonucleótido reductasa que se estudiará en el capítulo 57.

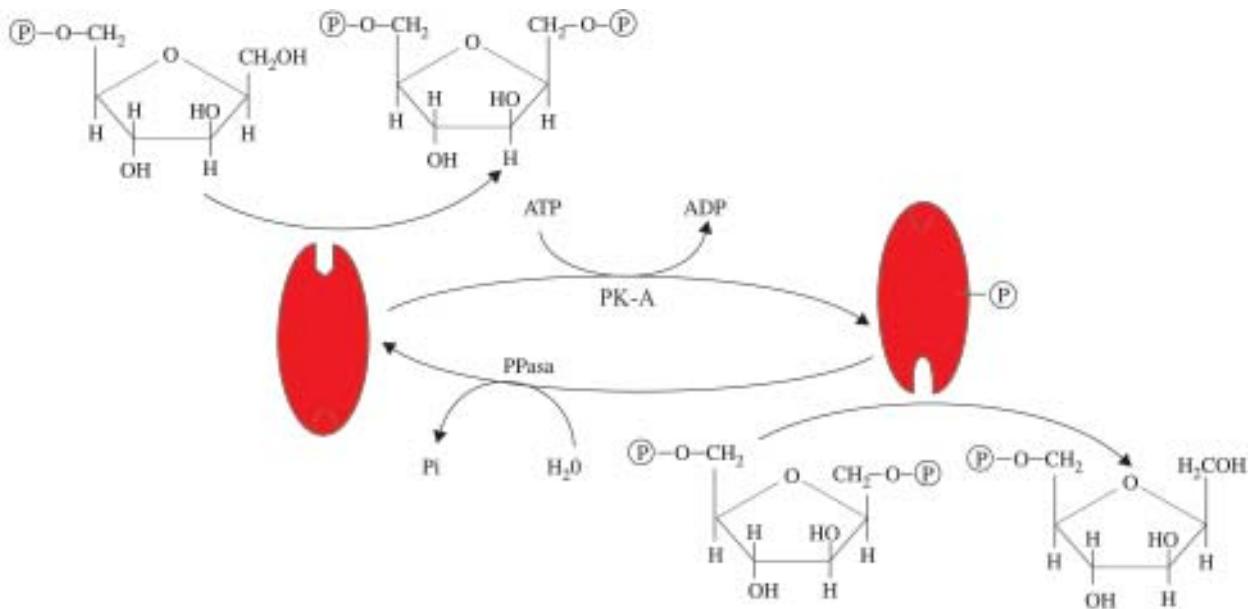


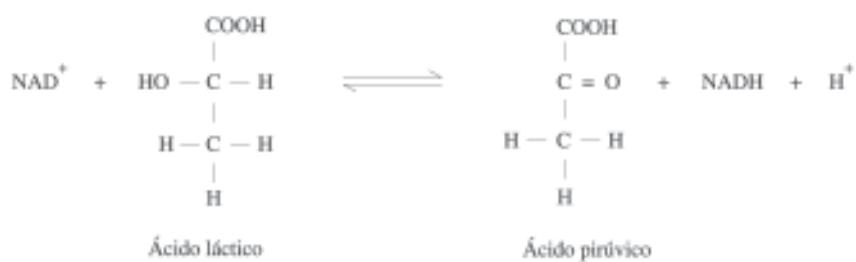
Fig.17.12. Fosfofructoquinasa-2/fosfofructofosfatasa-2. En la figura se esquematiza la regulación de esta enzima bifuncional. En el estado no fosforilada tiene actividad de fosfofructoquinasa transformando la fructosa-6-fosfato en fructosa-2,6-bisfosfato; al ser fosforilada por la proteína quinasa A (PK-A) se transforma en la fosfofructofosfatasa que hidroliza el enlace éster fosfórico de la posición dos de la fructosa-2,6-bisfosfato y la transforma en fructosa-6-fosfato. Es una de las pocas enzimas conocidas que cataliza dos reacciones contrarias, en este caso el estado de fosforilación de la enzima determina tanto su especificidad de sustrato como de acción.

Isoenzimas

Las isoenzimas son formas diversas de una enzima que les confieren peculiaridades metabólicas a los tejidos del organismo.

En este tipo de enzimas se presenta una situación que las diferencia de los casos anteriores. Las isoenzimas son proteínas que catalizan la misma reacción, con los mismos requerimientos, pero con propiedades cinéticas y fisicoquímicas diferentes, lo cual permitió su descubrimiento y estudio.

Aunque existen numerosas enzimas que presentan formas isoenzimáticas, el primer caso conocido y el más estudiado es la lactato deshidrogenasa (LDH); esta enzima existe en todos los tejidos y en todos estos cataliza la misma reacción.



En este caso el NAD⁺ es un cofactor que acepta los átomos de hidrógeno separados del lactato por la enzima (capítulo 19).

La isoenzima presente en el corazón tiene una mayor afinidad por el lactato y está favorecida la reacción de izquierda a derecha, mientras que la isoenzima del músculo esquelético tiene mayor afinidad por el piruvato, lo que favorece la reacción contraria.

La respuesta a esta situación surgió cuando se descubrió que la LDH está formada por dos tipos de cadenas polipeptídicas y que la molécula contiene en total cuatro cadenas.

Como la isoenzima del corazón contiene un solo tipo de cadena, se le denominó H (*heart* = corazón) y al darse la misma situación en el músculo sus cadenas se designaron M (*muscle* = músculo). La fórmula subunitaria de estas dos isoenzimas será por tanto H_4 y M_4 respectivamente; las procedentes de otros tejidos son híbridos que contienen los dos tipos de cadenas cuyas fórmulas subunitarias serán H_3M , H_2M_2 y HM_3 , y sus propiedades cinéticas y físicas-quinéticas son intermedias entre las otras dos primeras, lo que permite separarlas en una muestra donde existe una mezcla de todas estas (Fig. 17.13).

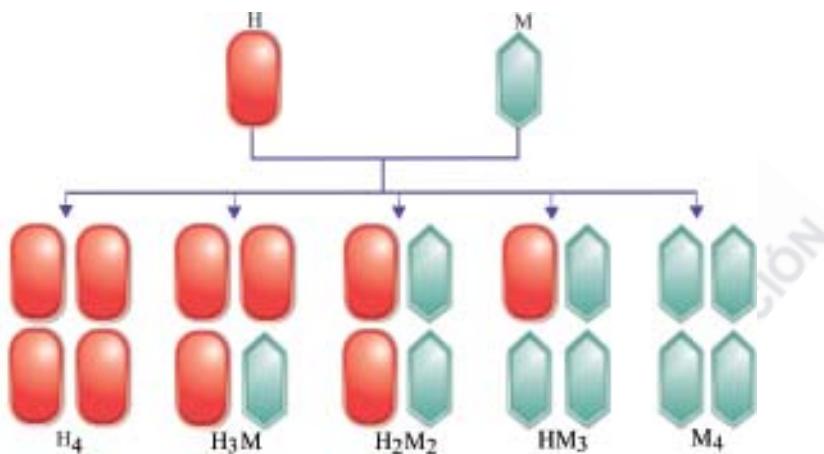


Fig. 17.13. Isoenzimas de la lactato-deshidrogenasa. Las isoenzimas de la LDH están formadas por dos tipos de cadenas, H y M, que, de acuerdo con la proporción en que aparezca cada una de estas en el tetramero, darán origen a las diferentes formas de la enzima.

La presencia de determinada isoenzima confiere características particulares a etapas metabólicas en diferentes tejidos, creando un comportamiento diferente ante situaciones similares, esto introduce determinado grado de regulación en cuanto al metabolismo del organismo como un todo.

Otro ejemplo interesante es la enzima pirúvico quinasa de mamíferos, de la cual existen al menos tres isoenzimas, la M del músculo y cerebro, la L del hígado y la A que se encuentra en casi todos los tejidos; esta enzima es un tetramero de 250 kD y las tres isoenzimas difieren en sus propiedades cinéticas e inmunoquímicas. El hecho más curioso es que las isoenzimas difieren en su forma de regulación, la M no parece estar regulada, en tanto la A y la L son reguladas de forma alostérica; ambas formas son inhibidas por el ATP y la alanina, y activadas por el fosfoenolpiruvato y la fructosa-1-6-bisfosfato.

La formación de un número creciente de isoenzimas, a partir de un número reducido de componentes estructurales, pone de manifiesto una idea que hemos venido desarrollando a lo largo de estos temas y que pudiéramos resumir diciendo: "En los sistemas biológicos la diversidad tiene como fundamento la simplicidad".

Resumen

Los organismos vivos para poder sobrevivir deben ser capaces de adaptarse a las condiciones cambiantes del medio natural que los rodea, de esta situación se deriva la necesidad de los mecanismos de regulación.

Cuando un sistema o proceso es capaz de variar su comportamiento, como respuesta a los cambios que se producen en su entorno, de forma que la respuesta directa o indirectamente tiende a modificar el estímulo, volviendo a la situación inicial, se dice que este

sistema o proceso está regulado. En la regulación tanto el estímulo como la respuesta tienen carácter específico.

La regulación enzimática se refiere a la posibilidad que tienen las enzimas de variar la velocidad de las reacciones que estas catalizan, al producirse determinados cambios en el medio; esa posibilidad viene dada por características estructurales de las enzimas, que son manifestaciones una vez más de la estrecha vinculación entre la estructura y la función de las biomoléculas. Los mecanismos que regulan la actividad de las enzimas son muy diversos, pero pueden agruparse en dos tipos fundamentales, los que varían la cantidad y los que modifican la actividad de las enzimas.

Todo sistema de regulación enzimática está constituido por varios componentes: el receptor que recibe el estímulo, el transductor que convierte el estímulo en una señal entendible por el sistema, el amplificador que aumenta la intensidad de la respuesta y el efector que realiza el cambio adaptativo directamente.

Entre los mecanismos que modifican la actividad se encuentran la modificación alostérica y la covalente.

Las enzimas alostéricas existen en varios estados conformacionales interconvertibles y en cada uno de estos presentan una afinidad diferente por sus ligandos. La unión del ligando introduce un cambio conformacional que se transmite al resto de la molécula, modificando la fracción de centros activos útiles y con ello la velocidad de la reacción. Los principales modelos propuestos para explicar el mecanismo de las enzimas alostéricas son el simétrico o concertado y el secuencial.

En la modificación covalente la enzima existe en dos formas de diferente composición, motivada por la adición o sustracción de un pequeño grupo unido de manera covalente a la proteína enzimática; cada forma de la enzima tiene una actividad cuantitativa diferente y al pasar de un estado a otro cambia la fracción de centros activos útiles. Los tipos más difundidos de modificación covalente son la fosforilación-desfosforilación, la adenilación-desadenilación y el intercambio de sulfhidrilos disulfuros; tanto el alosterismo como la modificación covalente pueden observarse en proteínas que no tienen carácter enzimático.

Casi siempre a los mecanismos de modificación covalente está asociada una gran amplificación, debido a que entre el receptor y el efector existen numerosos intermedios enzimáticos.

Otros mecanismos de regulación menos difundidos en los seres vivos son los de la proteólisis limitada, en el cual las enzimas se sintetizan como precursores inactivos y se activan por la ruptura de enlaces peptídicos; la variación en el estado de agregación de las enzimas que existen como monómeros y polímeros de diferente actividad, por la interacción de la enzima con otra proteína no enzimática que generalmente la activa, por el cambio de localización celular y por cambios en la especificidad de acción, de sustrato o ambos.

Las isoenzimas son formas diferentes de una misma enzima que se distinguen por sus propiedades cinéticas y fisicoquímicas, y hacen que las reacciones que estas catalizan presenten características diferentes en los tejidos donde se encuentran. El caso más conocido es el de la enzima lactato deshidrogenasa que cataliza la conversión reversible del lactato en piruvato.

Ejercicios

1. ¿Por qué para poder asegurar que un sistema está regulado, la respuesta debe modificarse al estímulo inicial?
2. ¿Por qué podemos afirmar que los mecanismos de regulación enzimática son una expresión del principio de máxima economía?

3. El fenómeno de cooperatividad se asocia generalmente a las enzimas alostéricas. ¿Pudiera usted explicar una situación en que una enzima no alostérica mostrase un efecto cooperativo?
4. ¿Por qué se afirma que el modelo secuencial puede explicar los efectos cooperativos homotrópicos negativos, mientras que el simétrico no?
5. ¿Cuál es la razón de que los modelos que tratan de explicar el comportamiento de las enzimas alostéricas supongan que estas presentan estructura cuaternaria?
6. Haga un esquema que explique la regulación de la fosfofructoquinasa por eATP y el ADP, según el modelo a) simétrico y b) secuencial.
7. Dos procesos metabólicos se regulan por modificación covalente y por fosforilación-desfosforilación, si en uno hay tres quinasas intermedias con una k_{cat} de 120 min^{-1} , y en el otro cuatro con k_{cat} de 80 min^{-1} , calcule el grado de amplificación para cada uno de ellos.
8. Existe una ruta metabólica en la cual la sustancia A puede ser convertida en D según varias reacciones, por otra parte D se convierte en A. ¿Pudiera usted diseñar un sistema de regulación tal que cuando la célula necesite la sustancia D, la vía funcione solo en la dirección A \longrightarrow D, y cuando necesite la sustancia A funcione solo en el sentido D \longrightarrow A?

Capítulo
18

Organización de las enzimas

La función fundamental de las enzimas es su participación en el metabolismo celular; el metabolismo celular está compuesto por miles de reacciones químicas catalizadas por enzimas y que ocurren de manera simultánea. Estas reacciones se encuentran organizadas en vías o rutas que están en relación con la transformación de una sustancia, donde el producto de una reacción es el sustrato de la siguiente; cada vía consta de un número determinado de reacciones y de enzimas. El conjunto de enzimas que participa en una vía metabólica se encuentra organizado de forma característica.

El primer nivel de organización viene dado por la distribución citotopográfica de las enzimas, por su ubicación en los diferentes compartimentos celulares, que dentro de estos cada uno de los conjuntos enzimáticos se organiza en variadas formas, pueden estar disueltas en el medio o unidas a las membranas, así como presentarse en forma aislada o en estructuras organizadas con diferente grado de complejidad.

La organización de las enzimas contribuye a la eficiencia de las vías metabólicas, eliminando la formación de productos secundarios, con lo que se logra la formación del mayor número posible de moléculas del producto, a partir del sustrato; las vías metabólicas también funcionan de acuerdo con el principio de la máxima eficiencia.

En este capítulo se estudiarán las diferentes formas de organización de las enzimas y las características que derivan de cada una de ellas.

Citotopografía de las enzimas

La distribución de las enzimas dentro y fuera de las células permite el funcionamiento armónico del organismo.

Todas las enzimas se sintetizan en el interior de las células y la mayoría realiza allí sus funciones, pero otras son segregadas y funcionan en la matriz extracelular: la sangre, el tubo digestivo u otros sitios del espacio extracelular. El número de diferentes tipos de reacciones químicas en cualquier célula es muy grande; una célula animal típica, por ejemplo, puede tener entre 1 000 y 4 000 tipos diferentes de enzimas, cada una cataliza una reacción única o un grupo de reacciones íntimamente relacionadas.

Algunas reacciones catalizadas por enzimas son comunes a la mayoría de las células y por eso hay enzimas que están presentes en casi todos los tejidos del organismo. Este

grupo incluye no solo aquellas enzimas relacionadas con la síntesis de proteínas, ácidos nucleicos y fosfolípidos, también las que catalizan la oxidación total de la glucosa hasta CO_2 y H_2O , que produce la mayor parte de la energía metabólica utilizada por la célula.

Algunos tipos de células –el hepatocito, las neuronas– llevan a cabo reacciones químicas que son exclusivas de estas células y, consecuentemente, algunas enzimas se encuentran solo en determinados tipos de células. Por último, muchas células –incluyendo los eritrocitos y las células epidérmicas– han madurado hasta un estado que ya no son capaces de sintetizar proteínas ni ácidos nucleicos, aun cuando estas células contienen grupos específicos de enzimas que ellas produjeron en estados tempranos de su diferenciación.

La distribución intracelular de las enzimas constituye, sin lugar a dudas, un nivel básico de organización, pues ella está determinada de manera genética, lo que significa que el material genético no solo contiene la información sobre el tipo de enzima que una célula puede formar, sino además de cuál será su ubicación dentro o fuera de la célula.

En los diferentes compartimentos celulares se agrupan las enzimas que están relacionadas funcionalmente en un proceso metabólico determinado, de esta manera todas las enzimas que participan en el proceso de conversión de glucosa en pirúvico se encuentran localizadas en el citosol. Un gran número de enzimas hidrolíticas que intervienen en los procesos de digestión celular se localizan en los lisosomas. Las enzimas relacionadas con la síntesis de lípidos se encuentran ubicadas en el retículo endoplásmatico liso (REL), y las relacionadas con la glicosilación de lípidos y proteínas se encuentran en el REL y en el aparato de Golgi.

Sin embargo, en ocasiones, para la transformación total de una sustancia se requiere la participación de enzimas ubicadas en más de un compartimento, como el caso de la síntesis de la urea donde participan enzimas del citosol y de las mitocondrias; estos compartimentos casi siempre están separados del resto de la célula por una estructura membranosa, aunque en ocasiones no sucede así, las enzimas se encuentran unidas a componentes del citoesqueleto y mantienen una posición relativamente fija dentro de la célula.

Aun dentro de cada compartimento puede existir una distribución característica de las enzimas, de esta forma se sabe que las ARN polimerasas se encuentran en el núcleo, pero en tanto la polimerasa I se localiza en el nucléolo, la II y la III se hallan en el nucleoplasma. Las enzimas mitocondriales pueden tener distinta ubicación dentro del organelo; las relacionadas con el ciclo de Krebs se encuentran en la matriz mitocondrial; las de la cadena transportadora de electrones y la fosforilación oxidativa, en la membrana interna; algunas están en el espacio intermembranoso y otras aun en la membrana externa.

Un aspecto interesante es la distribución de las isoenzimas, pues cada tipo se encuentra en un compartimento determinado, existe una malato deshidrogenasa del citosol y otra de las mitocondrias; lo mismo sucede con algunos grupos de enzimas, como los que forman el β -hidroxi- β -metil-glutaril-CoA a partir de acetil-CoA, que están presentes en el citosol y las mitocondrias; en este caso la citosólica funciona en la esteroidogénesis, en tanto la mitocondrial en la cetogénesis.

Como todas las membranas celulares poseen permeabilidad selectiva, muchos de los intermediarios de vías metabólicas se ven limitados a moverse dentro de un compartimento determinado, sin poder abandonarlo, o deben disponer de mecanismos específicos de transporte; en este compartimento se encuentra la o las enzimas que lo transforman, así ocurre con el ácido oxalacético o la acetil-CoA, que una vez formados dentro de la mitocondria no pueden salir de este compartimento.

Es bueno señalar que esta distribución de las enzimas ha dado lugar a la aparición de un mecanismo de regulación denominado compartmentalización, que será estudiado en detalle en el capítulo 61.

Formas básicas de existencia de las enzimas

El trabajo de purificación de las enzimas comenzó hace más de 100 años y alcanzó su primer éxito notable cuando en 1926 Northrop obtuvo la ureasa en forma cristalina; desde entonces se emplean diversos procedimientos para la obtención y purificación de las enzimas. De acuerdo con esos procedimientos se distinguen tres formas básicas de existencia de las enzimas en la célula: las enzimas libres –solubles o simples, como se denominarán aquí–, los sistemas o complejos multienzimáticos y las enzimas multifuncionales.

Enzimas simples

Una enzima simple cataliza una reacción única y se encuentra separada físicamente del resto de las enzimas.

Una enzima simple es aquella que cataliza una reacción única, como las descritas en el capítulo 16, a propósito de la clasificación. Estas enzimas pueden estar formadas por una sola cadena polipeptídica, como la hexoquinasa animal, que cataliza la fosforilación de varias hexosas y está constituida por una cadena polipeptídica de 100 kD, o estar compuestas por varias subunidades. Estas subunidades pueden ser iguales, como en la glutámico deshidrogenasa que convierte este aminoácido en ácido α -cetoglutárico y está formada por seis subunidades idénticas de 50 kD, cada una para una masa total de 336 kD; o diferentes como el caso de la glucógeno fosforilasa quinasa, mencionada en el capítulo 17, que está formada por cuatro tipos de subunidades diferentes, cada una se encuentra representada cuatro veces en la molécula, con lo cual contiene de esa forma 16 subunidades, con una masa total de 1 300 kD. En todos los casos se trata de una sola reacción.

El término de libres o solubles viene dado por el hecho de que con los procedimientos tradicionales de obtención y purificación de las enzimas estas se obtenían separadas del resto de los componentes celulares, lo que hacía pensar que se encontraban libres en las células, o sea, que durante el proceso catalítico estas enzimas no entraban en contacto físico con otras y que la formación del complejo enzima-sustrato era un proceso azaroso, que dependía fundamentalmente de la posibilidad de choque entre la enzima y su sustrato cuando ambos difundían de forma libre en el interior de la célula. Investigaciones recientes no parecen confirmar esta s ideas.

Complejos multienzimáticos

Los complejos multienzimáticos están formados por varias enzimas, unidas físicamente, y cada una de ellas cataliza una etapa de una reacción compleja.

El término sistema o complejo multienzimático se refiere a aquellas agrupaciones de enzimas que son posibles de obtener con los métodos tradicionales y catalizan varias reacciones relacionadas con una vía metabólica.

En estos casos siempre presentan una estructura compleja, compuesta de varias subunidades, y en ocasiones se caracterizan porque, al disociarse el complejo, ninguno de los componentes por separado presenta actividad catalítica, lo que sugiere la necesidad de las interacciones proteína-proteína para la realización de la catálisis.

En este tipo de organización las diferentes enzimas que forman el complejo se encuentran unidas por fuerzas no covalentes, lo que hace posible su disociación; este hecho representa un importante contratiempo en el proceso de purificación.

En estos complejos los intermediarios metabólicos entre el sustrato y el producto son transferidos prácticamente del centro activo de una enzima al de la siguiente, sin que exista la posibilidad de su separación de la superficie de la enzima y el proceso gana eficiencia (Fig. 18.1).

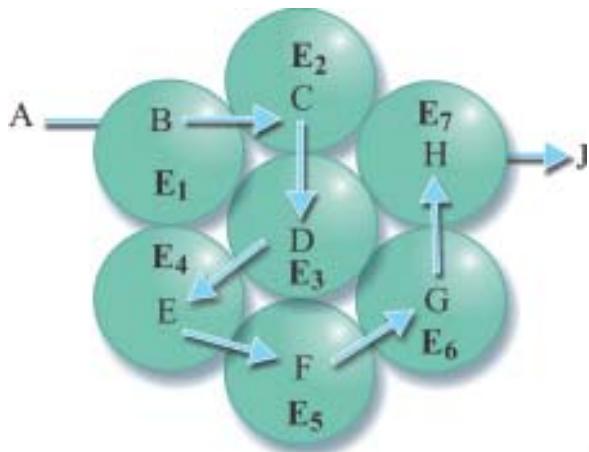


Fig. 18.1. Complejos multienzimáticos. Varias enzimas se unen por fuerzas no covalentes y forman un gran complejo que cataliza reacciones sucesivas en una vía metabólica.

Un ejemplo de este tipo de organización es el complejo pirúvico deshidrogenasa de los mamíferos, en su organización intervienen cinco tipos de enzimas que están representadas en proporciones diferentes en la estructura del complejo. La holoenzima contiene 30 moléculas de una descarboxilasa (cada una formada por dos tipos de subunidades para una fórmula $\alpha_2\beta_2$) de 152 kD cada una; 60 copias de la lipoiltransacilasa, de 52 kD cada una, y 30 de la dihidrolipoil deshidrogenasa, de 110 kD cada una; además, contiene de dos a tres moléculas de la piruvato deshidrogenasa quinasa (formada por una cadena α de 48 kD y una β de 45 kD) y varias copias de la piruvato deshidrogenasa fosfatasa, que intervienen en el mecanismo de modificación covalente de la enzima.

Desde el punto de vista teórico el descubrimiento de estos complejos tuvo una enorme importancia, pues le proporcionó una base física incuestionable al concepto de vía metabólica.

Enzimas multifuncionales

Las enzimas multifuncionales son proteínas con varios centros activos, cada uno de los cuales cataliza una reacción que forma parte de un proceso metabólico.

Se ha podido demostrar recientemente que en eucariontes, y sobre todo en mamíferos, existe una forma peculiar de organización de las enzimas que intervienen en una vía metabólica; estas enzimas están formadas por una cadena polipeptídica de gran tamaño, capaz de realizar varias actividades enzimáticas relacionadas, son las llamadas enzimas multifuncionales.

Estas enzimas presentan dos propiedades características: de manera estructural constan de una cadena polipeptídica y funcionalmente tienen actividades catalíticas múltiples, lo cual implica que los centros activos de las proteínas se generan como consecuencia de los plegamientos de sectores contiguos de la cadena polipeptídica, que producen estructuras globulares autónomas o dominios, cada uno con una actividad específica, pero diferente (Fig. 18.2).

Un ejemplo notable de este tipo de organización es el complejo acetil-CoA carboxilasa de los mamíferos. La enzima activa es un polímero con una masa de 4 000 a 8 000 kD que puede ser disociada en protómeros inactivos de 400 kD cada uno; como el protómero presenta las funciones de biotina carboxilasa, proteína portadora de carboxibiotina, transcarboxilasa y la zona de regulación alostérica, cada protómero es por tanto una enzima multifuncional.

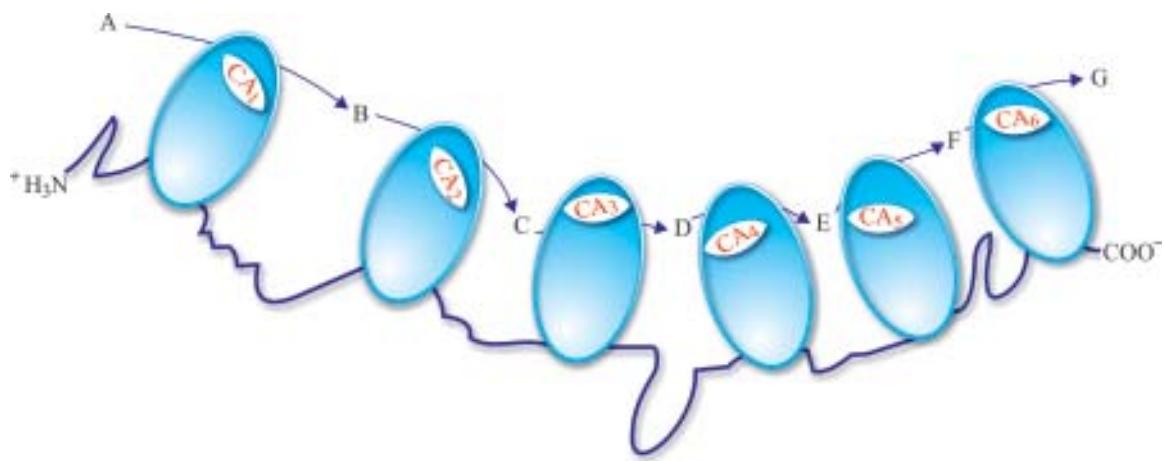


Fig. 18.2. Enzimas multifuncionales.
Una sola cadena polipeptídica se pliega de tal forma que da origen a varios centros activos, lo que permite catalizar varias reacciones sucesivas.

Como en el caso de los complejos multienzimáticos estas enzimas no permiten la fuga de los intermediarios aumentando la eficiencia del sistema, pero al estar formadas por una cadena polipeptídica única, la síntesis de todas las actividades enzimáticas puede ser regulada de manera coordinada, pues se trata de controlar la síntesis de una proteína. El ejemplo más sobresaliente es la sintetasa de ácidos grasos, que será estudiada en el capítulo 49.

Enzimas unidas a membranas

Las enzimas unidas a membranas realizan su función en un ambiente diferente al de otras enzimas, por eso tienen características peculiares.

Los sistemas membranosos constituyen una fracción importante de los componentes celulares, estos sistemas no solo separan un compartimento celular de otro, sino que muestran diferentes funciones, como actividades enzimáticas, debido a la asociación o integración de algunas enzimas con los componentes estructurales de las membranas.

Las enzimas que forman parte de las membranas se diferencian estructuralmente de las que aparecen en el interior de los compartimentos, porque en su estructura (al menos la que está en contacto con la membrana) los residuos apolares se colocan hacia el exterior y los polares hacia el interior.

De acuerdo con la posición relativa del sustrato y el producto de la reacción, con respecto a la membrana, podemos clasificar las enzimas membranas en dos grandes grupos: las no vectoriales y las vectoriales.

Las enzimas no vectoriales son aquellas que ligan el sustrato y liberan el producto del mismo lado de la membrana, en el interior o en el exterior (Fig. 18.3).

Un ejemplo sobresaliente por su importancia en muchos mecanismos de regulación es la enzima adenilciclase que cataliza la transformación del ATP en AMPc, como respuesta a determinados estímulos hormonales. Esta enzima está formada por una cadena polipeptídica que atraviesa la membrana 12 veces con dos grandes dominios citoplasmáticos, uno entre las hélices transmembranales seis y siete, y otro en la zona carboxilo terminal; se supone que el primero de estos dos dominios es el que posee la actividad catalítica de la enzima (Fig. 18.4).

Las enzimas vectoriales, por el contrario, son aquellas que ligan el sustrato en una cara de la membrana y liberan el producto en la otra, de esta forma tienen una doble función como enzimas y transportadores (Fig. 18.5). A este grupo pertenecen enzimas relacionadas con la glicosilación de proteínas en el REL y el aparato de Golgi, que ligan un monosacárido y su coenzima del lado citosólico, y liberan el monosacárido activado en la cara luminal de estos sistemas membranosos.

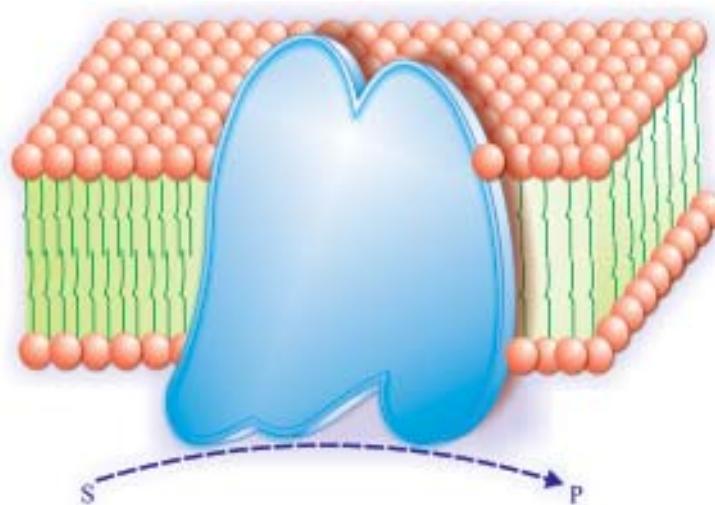


Fig. 18.3. Enzimas membranas no vectoriales. El centro activo de la enzima está orientado de forma asimétrica en la membrana.

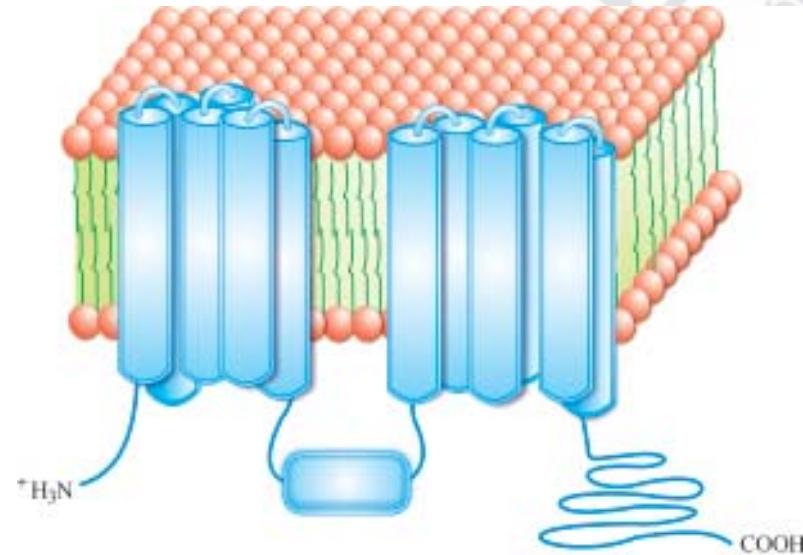


Fig. 18.4. Estructura de la adenilciclasa. Esta importante enzima está formada por dos grandes regiones transmembranales, separadas por un gran dominio citoplasmático, y termina con un largo dominio C terminal; en cada uno de los dominios transmembranales, la cadena polipeptídica atraviesa la membrana seis veces mediante estructuras helicoidales, esta estructura se asemeja a la de los transportadores membranales de iones.

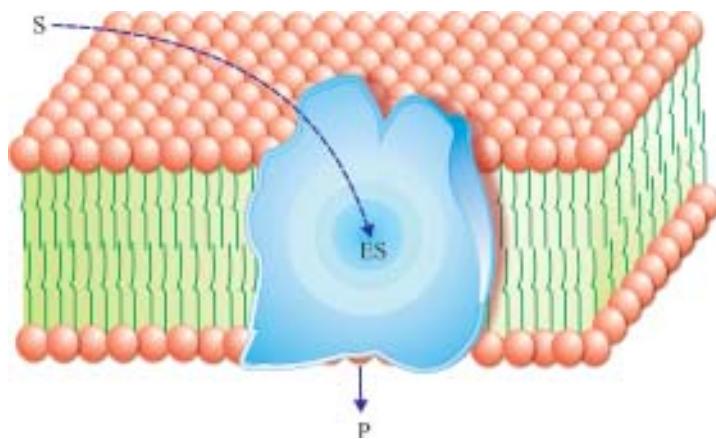


Fig. 18.5. Enzimas membranas vectoriales. La enzima liga el sustrato de un lado de la membrana y libera el producto del lado opuesto.

En el capítulo 39 se estudiarán los transportadores de electrones de la cadena respiratoria, cuya actividad vectorial crea un gradiente de protones, imprescindible para la síntesis de ATP.

Un ejemplo interesante de enzimas que pueden encontrarse unidas a membranas o libres en el citosol es la citidiltransferasa que participa en la síntesis de fosfátidos de glicerina y esfingolípidos que tiene lugar en el retículo endoplasmático liso con tres enzimas que forman parte de las membranas del retículo. Esta enzima está regulada de diferentes formas, es activada por fosfolípidos y ácidos grasos e inhibida por el CTP y la fosfocolina; por otra parte, la enzima puede ser modificada por fosforilación- desfosforilación y la forma activa es la no fosforilada. La fosforilación de la enzima determina su disociación de las membranas del retículo, mientras la forma desfosforilada está unida a las membranas, lo cual hace que la enzima esté en su forma activa cuando está con las demás enzimas que participan en el proceso.

Asociación enzimas-proteínas

La asociación de enzimas con proteínas no catalíticas puede favorecer la función catalítica y ganar en eficiencia.

En ocasiones, en las membranas se forman grandes complejos proteínicos en los cuales participa al menos una enzima que resulta el elemento fundamental, tal es el caso del sistema de la glucosa-6-fosfatasa. Como ya se ha estudiado, esta enzima cataliza la hidrólisis de la glucosa-6-fosfato y es muy importante en la regulación de la glicemia, como se verá en los capítulos 42, 43 y 44.

Este sistema forma parte del retículo endoplasmático liso y está constituido por seis proteínas: una proteína de 36,5 kD con actividad catalítica (G6P), cuyo centro activo es accesible desde la cara luminal de la membrana y es el componente principal del sistema, esta proteína no solo hidroliza la glucosa-6-fosfato, sino también el pirofosfato y el carbamilfosfato; el segundo componente es una proteína estabilizadora (SP), ligante de Ca^{2+} de 21 kD, que solo es accesible por el lado citosólico; el tercer componente es la proteína T1 que actúa como un transportador de glucosa-6-fosfato, pero no está muy bien caracterizada; el siguiente componente es el transportador de glucosa GLUT7 que presenta una elevada K_m para la glucosa y además están presentes las proteínas T2 α y T2 β que actúan como transportadores de fosfato; la T2 β es una proteína de 34 kD que también puede transportar pirofosfato y carbamilfosfato.

El funcionamiento de este sistema puede ser descrito de la forma siguiente: cuando aumenta en el citosol la concentración de glucosa-6-fosfato, esta es transportada por T1 hacia la luz del retículo, donde es hidrolizada por la unidad catalítica; la glucosa es transportada hacia el citosol por la GLUT7 y sale al exterior de la célula por el transportador de la membrana plasmática (GLUT2 en el hígado); el fosfato es transportado por T2 α o T2 β hacia el citosol, donde se vuelve a utilizar por la célula (Fig. 18.6).

Fenómeno de canalización

La asociación física de varias enzimas permite el flujo del sustrato entre estas, sin que difunda al entorno.

En muchas vías metabólicas existen sistemas multienzimáticos o enzimas multifuncionales que catalizan reacciones sucesivas. Evidencias recientes indican que hay interacciones específicas entre enzimas simples o solubles relacionadas funcionalmente, estos complejos han sido descritos tanto en procariontes como en eucariontes. Además, se indica que en la célula existen pocas enzimas libres, si es que hay alguna; también parece ser que a menudo estos complejos enzimáticos se encuentran unidos a componentes estructurales de la célula.

Una consecuencia importante de estos hallazgos es que muchos metabolitos pasan de un centro activo a otro sin equilibrarse con el resto de los metabolitos de la célula, este fenómeno recibe el nombre de canalización. Desde este punto de vista se distinguen dos tipos de vías metabólicas, aquellas que producen intermediarios multiutilizables y en las que solo el producto final es útil; un ejemplo del primer tipo es la glucólisis, donde la glucosa-6-fosfato y la fosfodihidroxiacetona son utilizados de múltiples formas, y del segundo, la síntesis de proteínas, donde los intermediarios no presentan funciones metabólicas, pero sí el producto terminado.

Un ejemplo hipotético proporcionará una idea más acabada del fenómeno de canalización; suponga que la enzima E_1 transforma al sustrato A en el producto B, que puede ser sustrato de la enzima E_2 , que lo transforma en C, o de la enzima E_3 que lo transforma en D (Fig. 18.7).

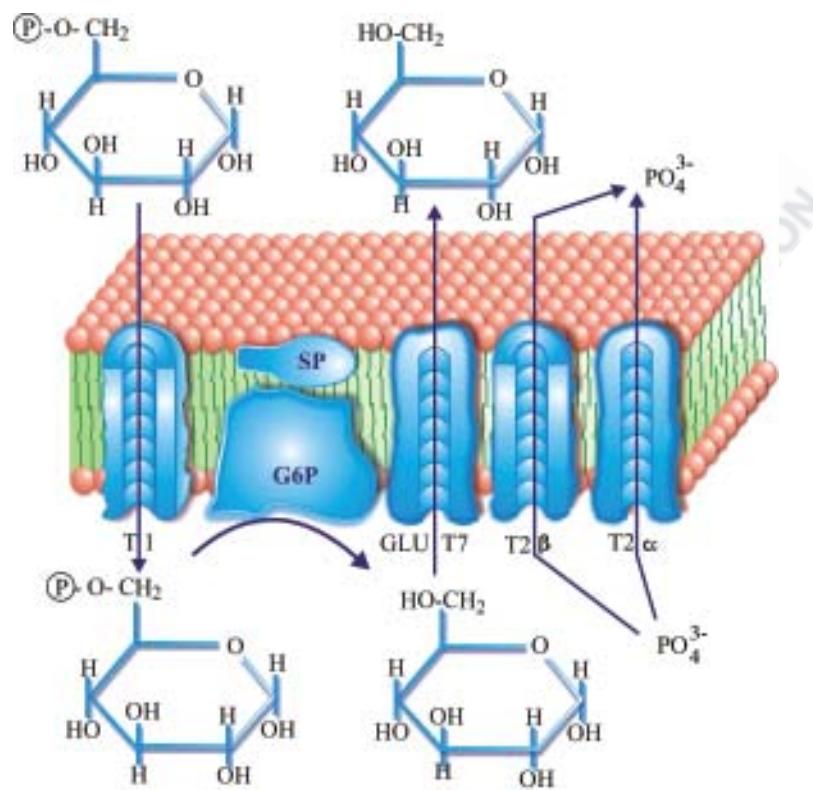


Fig. 18.6. Sistema de la glucosa-6-fosfataza. Este sistema complejo está incluido en la membrana del retículo endoplasmático liso y está formado por seis proteínas. Las flechas indican el movimiento de cada una de las sustancias implicadas en el proceso.

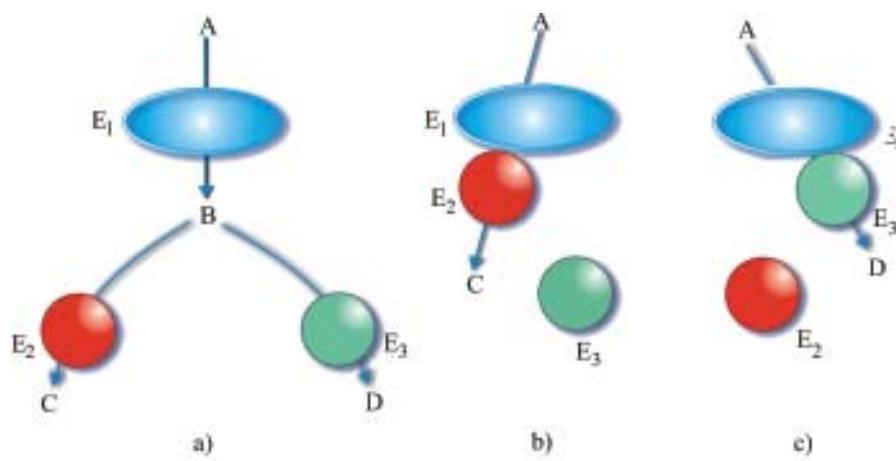


Fig. 18.7. Fenómeno de canalización. Tres enzimas están relacionadas de manera funcional, pues el producto de una es sustrato de las otras dos; si no existe canalización (a), los productos C y D se obtendrán en proporciones casi iguales. En (b) se observa que al existir interacciones entre las enzimas E_1 y E_2 solo se forma uno de los productos posibles, lo mismo ocurre en (c), pero con otra combinación de enzimas.

Si en una mezcla de reacción se colocan el sustrato A y las tres enzimas (supuestamente de una actividad catalítica similar), al alcanzarse el equilibrio se puede encontrar uno de estos tres resultados:

1. Se forman cantidades equivalentes de B, C y D.
2. Se forma solo el producto C.
3. Se forma solo el producto D.

En el primer caso no existe canalización, pues el intermediario B se libera de la enzima E_1 y difunde libremente, por lo cual tiene igual probabilidad de encontrarse con E_2 que con E_3 . En el resto de los dos casos existe canalización, el producto B no se libera de la enzima E_1 , sino que es transferido de forma directa al centro activo de E_2 en un caso, o de E_3 en el otro; esto es posible si las enzimas están unidas físicamente en forma de un complejo. Algunos experimentos han permitido establecer la existencia de este fenómeno y de interacciones entre las enzimas en numerosos casos.

Una ventaja de estas agrupaciones está representada por el hecho de que muchos de los intermediarios en rutas metabólicas se presentan en forma solvatada, pero la capacidad de solvatación de la célula es limitada. La canalización “sustrae” esos intermediarios, de manera que mantiene el grado de solvatación de la célula en niveles muy bajos.

También es posible controlar la actividad de esas enzimas haciéndolas pasar del estado libre al asociado y viceversa.

Asociaciones supraenzimáticas

En algunos procesos varias enzimas que intervienen en el mismo se asocian temporalmente y con ello incrementan la eficiencia del proceso.

Muchos ejemplos pueden citarse de este tipo de asociaciones que intervienen los tres tipos básicos de presentación de las enzimas. Estas asociaciones han sido descritas en el proceso de replicación del ADN (capítulo 25) del fago T4 que consta aproximadamente de siete enzimas diferentes. En eucariontes se ha aislado un complejo formado por seis enzimas que aparece solo en el momento de la síntesis del ADN.

Un ejemplo sobresaliente lo constituyen los gránulos de glucógeno, extraídos de músculo esquelético, que están formados por alrededor de 50 % de proteínas. Se ha podido demostrar que la mayoría de esas proteínas son enzimas del metabolismo del glucógeno, la glucógenofosforilasa β , la glucógenofosforilasa quinasa, la glucógenosintasa, la fosfoproteínafosfatasa 1 y la proteína quinasa dependiente del AMPc; además, se ha demostrado que estos gránulos contienen también todas las enzimas de la glicólisis, pues en ellos es posible la formación de lactato a partir del glucógeno.

Se ha observado que las propiedades cinéticas de algunas de esas enzimas son diferentes cuando forman parte del gránulo y cuando se encuentran libres en disolución, tal es el caso de la fosfoproteína fosfatasa 1 que es activa en la partícula pero inactiva en solución.

Otro ejemplo muy demostrativo tiene lugar durante la síntesis de nucleótidos de pirimidina; toda la vía está catalizada por una enzima simple y multifuncionales, la primera enzima que es trifuncional forma el ácido dihidroorótico a partir de NH₃, CO₂ y aspártico. El dihidroorótico es oxidado y pasa a ser ácido orótico por una deshidrogenasa que está unida a la membrana mitocondrial externa, y por último, una enzima bifuncional convierte este ácido orótico en uridímonofosfato.

El hecho de que todos los intermediarios se mantengan en una concentración muy baja dentro de la célula, puede indicar que las ds enzimas multifuncionales se asocian a la enzima simple en la membrana mitocondrial, de forma que se produzca el fenómeno de canalización. Un complejo similar se forma durante la síntesis de los ácidos grasos, donde intervienen tres enzimas multifuncionales, la citratolasa, la acetil-CoA carboxilasa y la sintetasa de ácidos grasos; cuando el citosol se somete a centrifugación en gradiente de sacarosa se obtiene una fracción de elevado peso molecular que contiene las tres enzimas.

Ejemplos como estos se han reportado en el metabolismo de los aminoácidos, la oxidación de ácidos grasos, la síntesis de fosfolípidos y esteroides, la glicólisis y el ciclo de Krebs. El ejemplo más asombroso de estas asociaciones enzimáticas es el complejo de preiniciación de la transcripción por la ARN polimerasa II; esta enzima está constituida por 12 subunidades y a ella se unen durante la formación del complejo más de 30 proteínas, muchas con actividad enzimática, formando un complejo que por su tamaño es mayor que la subunidad menor del ribosoma.

Estas formas características de organizarse los sistemas enzimáticos en la célula constituyen una evidencia más de que los sistemas biológicos operan según el principio de la máxima eficiencia.

Topografía de las enzimas

Las enzimas tienen una estructura compleja que permite la formación del centro activo, de sitios reguladores y de sectores que permiten su ubicación celular y su asociación con otras proteínas enzimáticas o no.

Como se ha observado, el centro activo es una zona pequeña en comparación con el tamaño total de la enzima, por ejemplo, la glucosa ocupa un volumen que es aproximadamente el 1 % del volumen de la hexoquinasa. ¿Cuál es entonces la función del resto de la molécula?

En un primer momento se pensó que el resto de la molécula solo tenía la función de mantener la arquitectura tridimensional del centro activo, pues es sabido que agentes desestabilizantes de esta estructura alteran de manera notable la actividad catalítica. Estudios experimentales, sin embargo, demuestran que en algunas enzimas se puede eliminar una parte considerable de su estructura, sin afectar sensiblemente su capacidad catalítica.

En la zona no catalítica de la enzima es donde radican los sitios de unión para efectores que regulan su actividad y , como se estudió en el capítulo 17, en algunas enzimas son varios los sitios de este tipo. Otra función es determinar la localización intracelular de la enzima, cada proteína contiene en su estructura secuencias específicas de aminoácidos que funcionan como señales de localización intra o extracelular. Se sabe que la secuencia lisina-aspártico-glutámico-leucina dirige las proteínas hacia el retículo endoplasmático; otras enzimas (como los zimógenos) poseen zonas de plegamiento que no permiten la accesibilidad al centro activo y las mantienen inactivas hasta llegar al sitio donde desarrollan su función; en ese lugar y generalmente por mecanismos de proteólisis limitada , es retirada una pequeña porción de la proteína, lo que permite el acceso al centro activo.

Otra función derivada de los aspectos discutidos en este capítulo es que las enzimas deben contener una zona de reconocimiento, que permita su asociación específica con otras enzimas, las cuales participan en reacciones sucesivas de una vía metabólica, de forma tal que pueda producirse la canalización de los intermediarios.

Las proteínas que se disuelven en agua se pliegan de manera que los residuos polares quedan hacia el exterior en contacto con el disolvente. Tanto el centro activo como otros sitios de la enzima requieren que residuos hidrofóbicos sean accesibles desde el exterior, como sucede con la quimotripsina. La exposición de esos grupos hacia el exterior es desfavorable desde el punto de vista energético y puede provocar la agregación y precipitación de las enzimas. Para que puedan permanecer solubles deben poseer numerosos residuos hidrofilicos en la superficie para compensar el efecto de los hidrofóbicos.

Por último, hay otro factor que contribuye al gran tamaño de las enzimas y es que las proteínas presentan regiones que reflejan su proceso evolutivo. Como todas las proteínas han surgido de otras proteínas, muchas contienen secuencias de aminoácidos de sus antepasados, pero, al parecer, no son imprescindibles para su funcionamiento actual.

Resumen

El metabolismo celular está formado por miles de reacciones químicas que ocurren de manera simultánea en el interior de las células, todas estas catalizadas por enzimas. Las enzimas que participan en una vía metabólica presentan una forma característica de organización; un primer nivel de organización viene dado por la ubicación intracelular de las enzimas en compartimentos separados unos de otros, por membranas o por otros componentes celulares, de esta forma existen enzimas nucleares, lisosomales, mitocondriales, etc. Este grado de compartimentación puede aún ser mayor si existe una topografía específica de las enzimas dentro de cada compartimento.

Las enzimas pueden encontrarse en tres formas fundamentales: las denominadas simples, que son aquellas que catalizan una reacción sencilla, aunque su estructura puede ser muy compleja; los complejos multienzimáticos, que están formados por agrupaciones de enzimas unidas por fuerzas no covalentes y que catalizan varias reacciones sucesivas en una vía metabólica, y las enzimas multifuncionales, que son enzimas de gran tamaño formadas por una cadena polipeptídica que, en el plegamiento que da lugar a la estructura terciaria, forman varios centros activos que les permiten la catálisis de varias reacciones sucesivas en una vía metabólica.

Estas formas de las enzimas pueden encontrarse solubles en el citoplasma o unidas a componentes estructurales de las células, donde las membranas constituyen el máximo exponente. Las enzimas unidas a membranas pueden ser no vectoriales, si ligan el sustrato y liberan el producto del mismo lado de la membrana, y vectoriales, si ligan el sustrato y liberan el producto en lados diferentes de la membrana, actuando a la vez como enzimas y transportadores.

Estas formas de organización de las enzimas permiten que los intermediarios pasen de un centro activo a otro, sin equilibrarse con el conjunto de compuestos de la célula, fenómeno que ha recibido el nombre de canalización.

Las enzimas simples, los complejos multienzimáticos y las enzimas multifuncionales pueden agruparse formando grandes asociaciones supraenzimáticas que catalizan una vía metabólica completa y en ocasiones, pueden estar unidas a membranas intracelulares.

Estas situaciones estudiadas aportan nuevos elementos sobre el problema del tamaño de las enzimas, pues además de los factores ya conocidos, se precisa la existencia de zonas de interacción que permitan su asociación con otras enzimas, al menos en algún momento de su funcionamiento.

Ejercicios

1. ¿Por qué podemos afirmar que la distribución de las enzimas en el interior y exterior de las células constituye un nivel de organización de estas?
2. ¿Qué ventajas tienen las enzimas multifuncionales sobre los complejos multienzimáticos?
3. ¿Cuál cree usted que debe ser la principal característica estructural de las enzimas vectoriales?
4. ¿Qué ventajas generales presenta el fenómeno de canalización?
5. ¿Por qué la existencia de canalización puede ser un indicio de asociaciones supraenzimáticas?
6. ¿Por qué son tan grandes las enzimas?

Capítulo
19

Cofactores enzimáticos

En numerosas ocasiones para poder catalizar una reacción, además de la enzima, se requiere de otra molécula de bajo peso molecular –en relación con el peso de la enzima. Estas moléculas realizan diversas funciones que contribuyen de manera decisiva al desarrollo de la reacción, son los llamados cofactores enzimáticos. Los cofactores enzimáticos son necesarios en muchas reacciones, ya que las enzimas poseen en la cadena R de sus aminoácidos un número limitado de grupos funcionales que no incluyen todos los necesarios para intervenir en los mecanismos de las reacciones metabólicas, aunque en algunos casos los cofactores no presentan grupos diferentes a los presentes en la enzima, como el -SH o el -S-S-, que no son diferentes a los de la cisteína y la cistina. Las características estructurales de estos cofactores le confieren capacidad de translocación –mover sus grupos reactivos de un sitio a otro dentro de la molécula– que no pueden realizar ninguno de los aminoácidos proteínicos; estos movimientos pueden ser esenciales en algunas reacciones metabólicas, catalizadas por complejos multienzimáticos.

Aun cuando la función determinante la desempeña la enzima, y de esta depende tanto la especificidad de acción como la del sustrato, la participación de los cofactores es imprescindible, pues se ha comprobado que sin estos hay reacciones que no son posibles.

En este capítulo se estudiará cada uno de los cofactores enzimáticos conocidos, tanto de forma estructural como funcional. Este conocimiento es necesario para la mejor comprensión de las rutas metabólicas, en particular, y de la actividad celular en general.

Tipos de cofactores

Los cofactores enzimáticos pueden ser iones inorgánicos o moléculas orgánicas.

Desde el punto de vista de su estructura química podemos distinguir dos tipos de cofactores: los iones inorgánicos y los compuestos orgánicos, a estos últimos se les denomina coenzimas.

No se ha podido elaborar una clasificación funcional de los cofactores, aunque algunos participan en un tipo de reacción, otros intervienen en un número tan variado que no es posible atribuirlos a ningún grupo.

Otro criterio utilizado anteriormente fue el grado de fortaleza de la unión entre el cofactor (especialmente las coenzimas) y la proteína enzimática, designando como

coenzimas aquellas que se unían débilmente y podían separarse por diálisis, y grupos prostéticos a los que se unían de manera fuerte, en ocasiones de forma covalente, que no eran separables por ese procedimiento. En este caso cabe la misma observación que en el anterior, ya que existen algunos tipos de cofactores que siempre se unen de manera fuerte a la enzima, en tanto otros unas veces se ligan con fuerza y otras no. Los ejemplos de cada caso se verán en todo el capítulo.

Formas de actuar los cofactores inorgánicos

Los iones inorgánicos pueden ser el centro catalítico, estabilizar la estructura enzimática o facilitar la unión entre la enzima y el sustrato.

Los iones inorgánicos participan en un amplio y variado número de reacciones bioquímicas; se estima que una tercera parte de las enzimas requiere de un ion inorgánico en algún momento de la catálisis.

Los cofactores inorgánicos son casi siempre cationes divalentes como el Mg^{2+} , Ca^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , etc., aunque también pueden ser monovalentes como el K^+ e incluso aniones como el Cl^- ; algunos de estos iones se encuentran unidos tan fuerte a la enzima, que se pueden obtener junto con ésta en el proceso de su purificación; otros lo hacen tan débil que una vez purificada la enzima deben ser añadidos para que esta recobre su actividad.

Aunque intervienen en múltiples reacciones podemos distinguir tres formas fundamentales de actuar:

1. Contribuyen a la unión entre la enzima y el sustrato, como si fueran una especie de “puente iónico” entre estos dos componentes de la reacción, como el caso del Mg^{2+} en las quinasas.
2. Estabilizan la proteína enzimática en su conformación más activa y de esta forma contribuyen a la catálisis, este es el caso del Ca^{2+} en algunas lipasas.
3. Constituyen de por sí el centro catalítico principal, pero al unirse a la proteína enzimática aumentan su eficiencia y adquieren especificidad, es el caso del Fe^{2+} en numerosas oxidorreductasas.

En ocasiones resulta difícil distinguir cuándo uno de estos elementos actúa como cofactor y cuándo como activador.

Formas de actuar las coenzimas

Las coenzimas transportan grupos químicos dentro de la enzima o entre dos enzimas.

Las coenzimas pueden definirse como moléculas orgánicas que poseen propiedades físico-químicas específicas, que no forman parte de la cadena polipeptídica de las enzimas, y actúan junto con estas en la catálisis de las reacciones bioquímicas.

En la mayoría de las reacciones, las coenzimas actúan transportando una pequeña parte del sustrato como electrones, átomos o grupos funcionales. Desde este punto de vista se distinguen dos tipos principales: los transportadores interenzimáticos y los intraenzimáticos.

El mecanismo general de la reacción en el primer caso comprende las etapas siguientes:

1. Combinación del cofactor (CoF) con una enzima (E1).
2. Transferencia de parte del sustrato (S-X) al cofactor .
3. Migración del cofactor (CoF-X) de una enzima (E1) a otra enzima (E2).
4. Transferencia del grupo al sustrato (M) de la segunda enzima.
5. Disociación del cofactor (CoF) de la segunda enzima.

Esta es probablemente la forma más frecuente de actuar las coenzimas, como cofactor de dos enzimas y como cosustrato de cada una de estas.

Los transportadores intraenzimáticos (también denominados grupos prostéticos) están unidos de manera covalente a la proteína enzimática y transfieren parte del sustrato de un sitio a otro dentro de la misma enzima o a otro cofactor.

Los cofactores orgánicos pueden realizar otras funciones que, aunque menos generales que las anteriores, no dejan de ser importantes, como: modificar el estado de agregación en enzimas multiméricas; molde o plantilla que dirige el orden de incorporación de los precursores en una macromolécula informacional; iniciador (*primer*) de la síntesis de macromoléculas, e intermediarios intercambiables, como sucede en el caso de las mutasas. En este capítulo trataremos principalmente coenzimas que actúan por los dos primeros mecanismos y para los cuales realmente se introdujo en la bioquímica esta denominación.

Coenzimas y vitaminas

Muchas coenzimas presentan una vitamina como parte de su estructura.

Las vitaminas son sustancias químicas que deben ser ingeridas por el organismo para su normal crecimiento y desarrollo. Un estudio detallado de estas, desde el punto de vista nutricional, se presenta en el capítulo 73 de la sección de nutrición. Es un hecho comprobado que muchas vitaminas, especialmente las hidrosolubles, tienen importancia funcional por ser componentes de la estructura de las coenzimas, por ello muchas veces se habla de formas coenzimáticas de determinada vitamina. En la porción vitamínica de la coenzima en general radica el grupo funcional específico de la coenzima, aquel que es transformado por la acción de la enzima; pero es necesario tener presente que no todas las vitaminas forman parte de coenzimas, ni todas las coenzimas contienen una vitamina en su estructura.

De inmediato se pasará al estudio sistemático de cada una de las coenzimas.

Piridín nucleótidos

Los piridín nucleótidos intervienen en reacciones de oxidación y reducción.

Estas coenzimas presentan la nicotinamida, integrante del complejo vitamínico B, como parte de su estructura, que está compuesta por un nucleótido de nicotinamida y otro de adenina, unidos por un enlace anhídrido fosfórico 5'-5'. Existen dos formas coenzimáticas: el nicotinadenindinucleótido (NAD⁺) y el nicotinadenindinucleótido fosfatado (NADP⁺), cuyas estructuras se muestran en la figura 19.1.

Tanto el NAD⁺ como el NADP⁺ participan en reacciones de oxidación-reducción, catalizadas por deshidrogenasas. Una reacción típica es la catalizada por la alcohol deshidrogenasa:



La mayoría de las enzimas que utilizan piridín nucleótidos son específicas para el NAD⁺ y el NADP⁺, excepcionalmente algunas pueden emplear cualquiera de los dos.

La conversión de NAD⁺ a su forma reducida NADH se acompaña de cambios evidentes en sus propiedades espectroscópicas. El NAD⁺ tiene una banda de absorción en 260 nm, que disminuye al reducirse, mientras aparece otra en 340 nm. Esta característica se emplea con frecuencia para medir la actividad de enzimas dependientes de NAD⁺ en ensayos continuos.

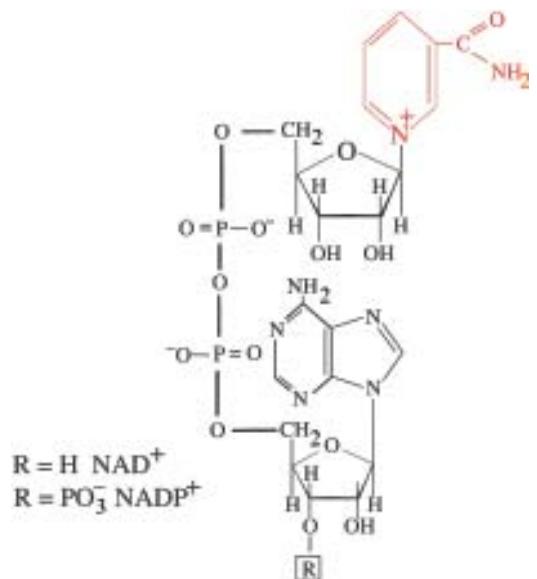
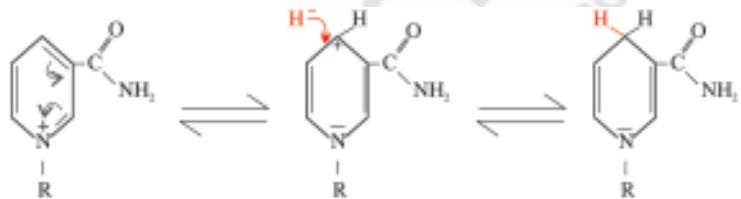


Fig. 19.1. Estructura de los piridín nucleótidos. Están formados por un nucleótido de nicotinamida (en rojo) y un nucleótido de adenina, unidos por un enlace anhídrido fosfórico. El NADP⁺ posee, además, un grupo fosfato en posición 2' del nucleótido de adenina.

El grupo funcional, que es transformado durante la catálisis, es el anillo de nicotinamida que puede captar o ceder un ion hidruro (H^-):



Los piridín nucleótidos funcionan con enzimas que sustraen (o incorporan) al sustrato dos átomos de hidrógeno, unidos (directa o indirectamente) al mismo átomo de carbono; como de los dos átomos de hidrógeno sustraídos al sustrato solo un ion H^- se incorpora a la coenzima, esto hace que se libere un H^+ al medio, por lo cual las reacciones exhiben una marcada dependencia del pH. Las deshidrogenaciones se ven favorecidas con un pH elevado y dificultadas con un pH bajo.

Esto se hace más claro si se analiza la reacción de la alcohol deshidrogenasa, ya mencionada:



cuya constante de equilibrio (capítulo 15) viene dada por:

$$K_e = \frac{[\text{CH}_3\text{-CHO}] [\text{NADH}] [\text{H}^+]}{[\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{OH}] [\text{NAD}^+]}$$

que reordenando tendremos:

$$K_e = [\text{H}^+] \cdot \frac{[\text{CH}_3\text{-CHO}] [\text{NADH}]}{[\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{OH}] [\text{NAD}^+]}$$

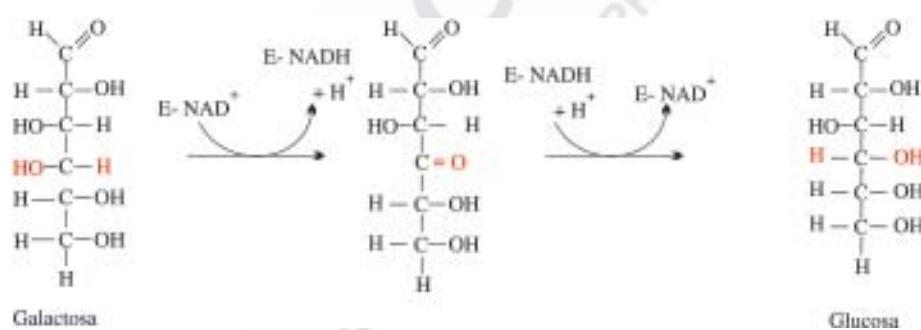
como se vio en el capítulo 14, para una temperatura y presión dadas el valor de K_e no se altera, por tanto, si el valor de $[H]$ aumenta –y por lo tanto el pH disminuye–, el valor de K_e se mantiene constante si disminuye el valor de la fracción que multiplica a $[H]$. Una disminución en el valor de la fracción significa una disminución en la concentración de los productos (que aparecen en el numerador) o un aumento en la concentración de los reactantes (que aparecen en el denominador) o ambos, lo cual equivale a decir que al disminuir el pH, el equilibrio se desplaza hacia la formación de los reactantes.

Los piridín nucleótidos transfieren equivalentes de reducción entre dos sustratos o entre un sustrato y otra coenzima, por lo cual su funcionamiento representa un ciclo de oxidación-reducción alternante.

En el metabolismo, el NAD⁺ funciona generalmente en reacciones de oxidación de sustratos, y el NADP⁺, en las de reducción, por lo cual el primero es eminentemente una coenzima catabólica y el segundo, anabólica. Existen enzimas denominadas transdeshidrogenasas, que catalizan la transferencia de hidrógenos de una a otra coenzima:



Existen otras reacciones como las de epimerización, aldolización o eliminación de algunos grupos del sustrato, donde el NAD actúa en un ciclo de oxidación-reducción del sustrato dentro de la misma reacción, promoviendo la aparición de grupos reactivos en el sustrato, que facilitan la acción de las enzimas. En estos casos, como el de la UDP-galacto epimerasa, el NAD⁺ actúa como un grupo prostético.



Además de la función del NAD⁺ en las reacciones de oxidación-reducción, que sin dudas es la más importante, esta coenzima participa en otras reacciones. Se conoce su participación en las reacciones catalizadas por la ADN ligasa (capítulo 25), donde actúa como donante de grupos adenilatos. Por otra parte, también es coenzima en reacciones donde se transfiere a proteínas uno o varios grupos 5'ribosil-ADP con lo cual se modifica la actividad de estas proteínas, como se verá en el capítulo 30. En el caso de los piridín nucleótidos se evidencia también el principio de multiplicidad de utilización.

Flavín nucleótidos

Los flavín nucleótidos participan en reacciones de oxidación-reducción.

Las flavinas constituyen un grupo numeroso de sustancias en la naturaleza; la riboflavina, o vitamina B₂, es la que forma parte de estas coenzimas. Se presentan dos formas coenzimáticas: el flavinmononucleótido (FMN) y el flavinadenindinucleótido (FAD), cuyas estructuras se reproducen en la figura 19.2.

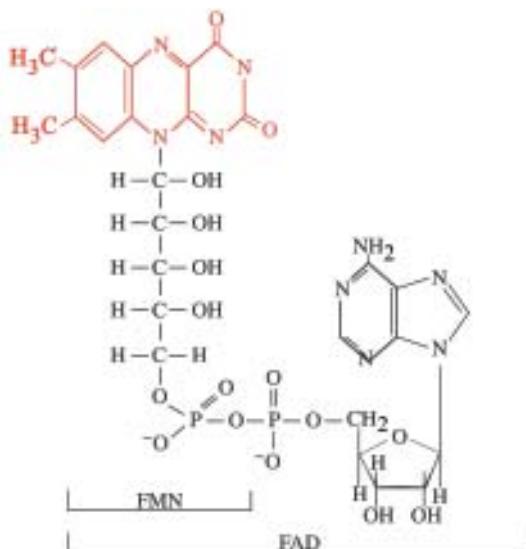


Fig. 19.2. Estructura de los flavín nucleótidos. Formados por un nucleótido de riboflavina y otro de adenina, unidos por un enlace anhídrido fosfórico; el grupo funcional es la isoaloxacina (en rojo).

Las dos formas participan en reacciones de oxidación-reducción, catalizadas por deshidrogenasas y oxidasa, un ejemplo de las primeras es la reacción catalizada por la succinato deshidrogenasa:



y de las segundas, la reacción catalizada por la glicina oxidasa:



que sumadas dan:



La reducción del FAD también se acompaña de cambios en su espectro de absorción, que se emplea con los mismos fines que en el caso del NAD⁺.

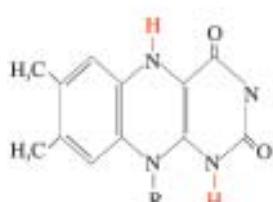
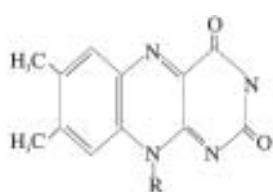
El grupo funcional de estas coenzimas es el anillo de isoaloxacina, que puede pasar de su forma oxidada a semirreducida y reducida, al captar uno o dos átomos de hidrógeno, sin liberar protones al medio.

Los flavín nucleótidos funcionan con enzimas (flavoproteínas) que sustraen dos átomos de hidrógeno de carbonos adyacentes, originando compuestos insaturados como en el caso de la succinato deshidrogenasa.

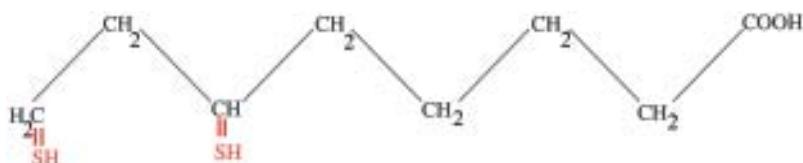
Los flavín nucleótidos se encuentran generalmente como grupos prostéticos y actúan entre un sustrato y una coenzima o entre dos coenzimas.

Ácido lipoico

El ácido lipoico presenta dos grupos sulfhidrilo que permiten su participación en reacciones de oxidación-reducción.

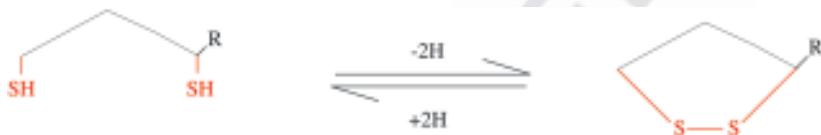


El ácido lipoico es también un componente del complejo vitamínico B (Fig. 19.3).



Casi siempre se encuentra unido de forma covalente a la enzima, por un enlace amida entre su grupo carboxilo y el grupo amino de la cadena lateral de una lisina (lipoamida); la parte funcional de la molécula está constituida por los grupos -SH que pueden reducirse y oxidarse de manera alternativa.

Fig. 19.3. Estructura del ácido lipoico. Una cadena carbonada de ocho carbonos, que presenta dos grupos funcionales -SH (en rojo) y el grupo carboxilo que le permite unirse a la proteína enzimática para formar la estructura de la coenzima.



El tipo de unión coenzima-enzima hace que el grupo funcional (-SH) esté unido a una larga cadena carbonada que le permite gran movilidad, por lo que puede trasladarse a grandes distancias dentro de la enzima.

La función metabólica de esta coenzima es participar en el complejo proceso de descarboxilación oxidativa de α -cetoácidos, como la reacción de conversión del α -ceto-glutárico en succinil-CoA, que se estudiará en el capítulo 38.

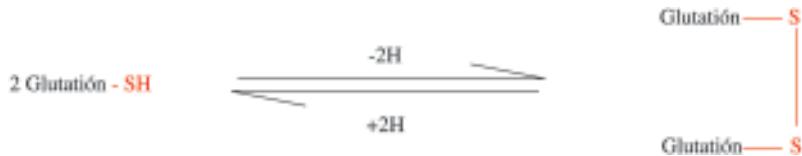
Glutatión

Por su grupo sulfhidrilo el glutatión contribuye al mantenimiento del estado *redox* de la célula.

El glutatión es un tripeptido que está distribuido de forma universal en los seres vivos (Fig. 19.4).

Además, gracias a la presencia de los grupos -SH, el glutatión funciona en reacciones de oxidación-reducción.

Esta coenzima es muy importante en los mecanismos involucrados en el mantenimiento de la estructura de las membranas celulares, especialmente en los eritrocitos, pues participa en los mecanismos de defensa contra el estrés oxidativo; su papel en el mantenimiento de la forma de los eritrocitos se tratará en el capítulo 63.



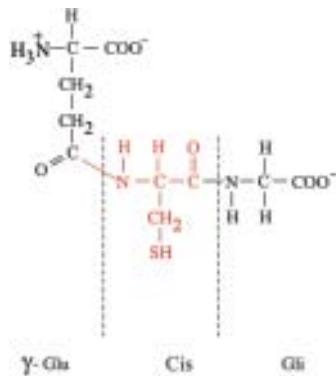


Fig. 19.4. Estructura del glutatión. El ácido glutámico se enlaza por el carboxilo de la cadena lateral a una cisteína que contiene el grupo funcional (en rojo) y por último a la glicina.

Porfirinas

El hierro de las porfirinas las hace buenas para participar en reacciones de oxidación y reducción.

Las porfirinas constituyen un grupo numeroso de sustancias de amplia distribución en la naturaleza, su estructura está formada por cuatro anillos pirrólicos sustituidos, unidos por puentes metínicos y un catión divalente coordinado de manera central y que con mayor frecuencia es el Mg^{2+} –como en la clorofila– o el Fe^{2+} –como en la hemoglobina. Posiblemente el representante de este grupo más abundante en la naturaleza es el grupo hemo (Fig. 19.5).

Estas coenzimas se unen a la enzima (hemoproteínas) de forma diversa y pueden actuar en estado de Fe^{3+} , Fe^{2+} o alternando de una a otra, de esta última forma intervienen como coenzimas de oxidación-reducción, tal es el caso de los citocromos de la cadena transportadora de electrones, que se estudiarán en el capítulo 39.

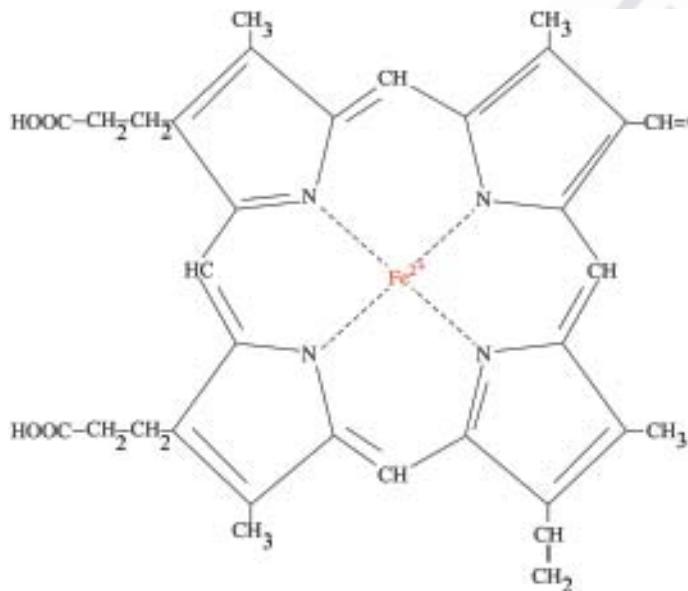


Fig. 19.5. Estructura del grupo hemo. Formado por cuatro anillos de pirrol, sustituido por cuatro grupos metilos en 1, 3, 5 y 8; dos vinilos en 2 y 4, y dos ácidos propiónicos en 6 y 7. El átomo de hierro central se coordina con los nitrógenos de los pirroles y otros dos sustituyentes que varían según la enzima.

Biotina

La biotina está unida de forma covalente a enzimas que catalizan reacciones de adición de grupos carboxilos.

La biotina constituye un compuesto esencial para el crecimiento y desarrollo de los seres humanos; está compuesta por un anillo de tiazol y un imidazol, fundidos y sustituidos, y una cadena lateral de ácido valérico (Fig. 19.6).

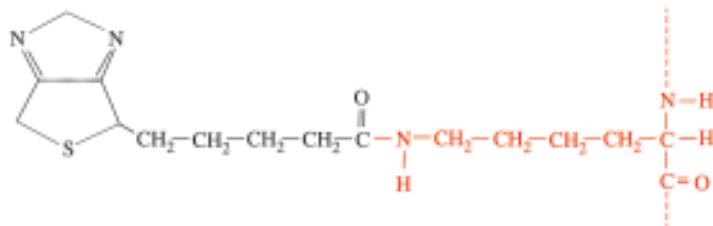
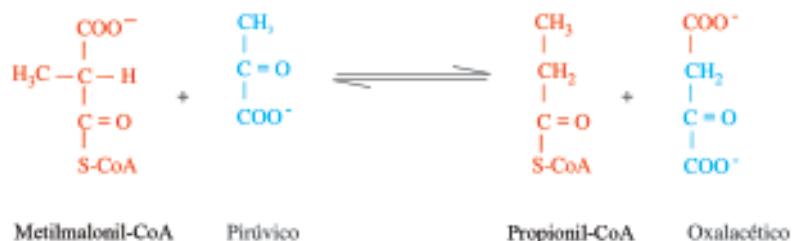


Fig. 19.6. Estructura de la biotina. Su unión con la lisina origina la biocitina. La estructura cíclica formada por el imidazol sustituido y el tiofeno y la larga cadena lateral forman la estructura de la biotina.

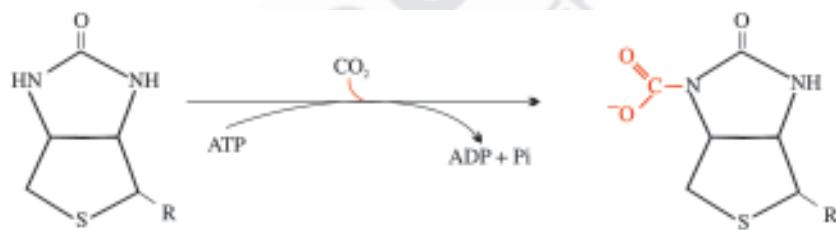
En general se encuentra unida de forma covalente a la enzima mediante un enlace amida, entre su grupo carboxilo y el amino de la cadena lateral de una lisina (biocitina); este tipo de unión le confiere al grupo funcional las mismas propiedades que las descritas para el ácido lipoico; participa en dos tipos de reacciones: la carboxilación dependiente de ATP que resulta hidrolizado en ADP y Pi, como en la acetil-CoAcarboxilasa:



y de transcarboxilación, como la catalizada por la metilmalonil: oxalacetato: transcarboxilasa.



El mecanismo de las reacciones dependientes de biotina incluye dos etapas; la primera, que requiere ATP, el CO_2 es incorporado al N-4 de la biotina liberando ADP y Pi; una segunda etapa, el CO_2 se transfiere al sustrato.



Pirofosfato de tiamina

El pirofosfato de tiamina es la forma coenzimática de la vitamina B₁ y participa en varias reacciones, entre estas la descarboxilación de cetoácidos.

El pirofosfato de tiamina es la forma coenzimática de la tiamina o vitamina B₆ en su estructura presenta un anillo de pirimidina sustituido, unido por un grupo metileno a un anillo de tiazol, también sustituido, unido a su vez por un grupo etilo al pirofosfato, como se muestra en la figura 19.7. La vitamina carece del grupo pirofosfato.

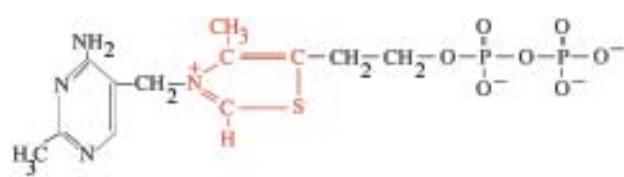


Fig. 19.7. Estructura del pirofosfato de tiamina. La estructura está formada por una pirimidina sustituida, enlazada por un metileno a un grupo tiazol sustituido, que se une al pirofosfato por un grupo etilo. El anillo de tiazol constituye el núcleo funcional de esta coenzima.

Esta coenzima, que está muy distribuida en la naturaleza, participa en tres tipos de reacciones:

1. La descarboxilación no oxidativa de α -cetoácidos.
2. La descarboxilación oxidativa de α -cetoácidos.
3. La formación de α -cetoles.

El sitio funcional de la molécula es el grupo tiazol, que puede disociar un protón, dando origen a un carbanión que reacciona con el grupo ceto del sustrato, que se descarboxila, y da origen a un compuesto intermediario muy reactivo.

Todas las reacciones que dependen del pirofosfato de tiamina (PPT) son básicamente similares; en cada caso, un enlace C-C adyacente al grupo ceto se rompe, dando un intermediario estable; la reacción de este intermediario con un H^+ genera un aldehído (descarboxilación no oxidativa), con un agente oxidante, como el ácido lipoico, origina un ácido (descarboxilación oxidativa) y con un grupo carbonilo, una α -cetol (formación de α -cetoles) (Fig. 19.8).

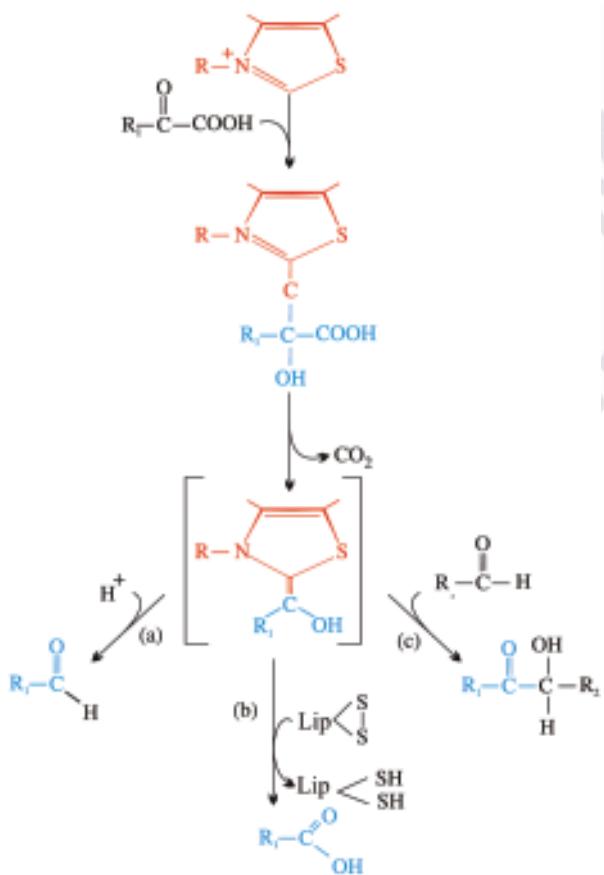


Fig. 19.8. Mecanismo general del pirofosfato de tiamina. La coenzima reacciona con el cetoácido y forma un intermediario estable (entre corchetes): (a) la reacción con un protón será el paso siguiente en la descarboxilación no oxidativa, (b) con un agente oxidante para la descarboxilación oxidativa y (c) con un aldehído en la formación de α -cetoles.

Ácido tetrahidrofólico

El ácido tetrahidrofólico participa en numerosas reacciones donde se transfieren grupos que contienen un átomo de carbono.

El ácido tetrahidrofólico (FH_4) es la forma coenzimática del ácido fólico; su estructura está formada por una pteridina, el ácido p-aminobenzoico y el ácido glutámico (Fig. 19.9); pueden encontrarse formas que contienen hasta siete moléculas de ácido glutámico unidas por enlaces isopeptídicos, aquellos donde interviene el grupo carboxilo de la cadena lateral.

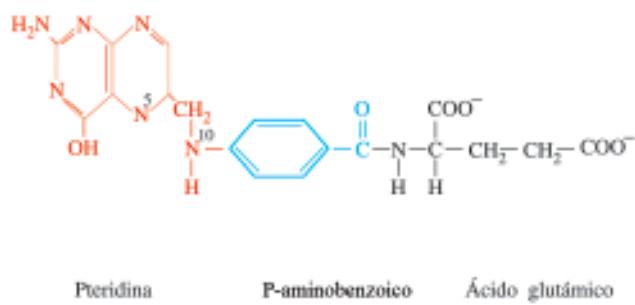


Fig. 19.9. Estructura del tetrahidrofolato. Formada por un anillo de pteridina, unido al ácido P-aminobenzoico y este al ácido glutámico. Los N de las posiciones 5 y 10 son los grupos funcionales de la coenzima.

La parte funcional de la molécula está representada por los nitrógenos que ocupan las posiciones 5 y 10, esta coenzima presenta múltiples formas interconvertibles (Fig. 19.10). Numerosos ejemplos de reacciones en que participa alguna de estas formas coenzimáticas se presentan en este texto.

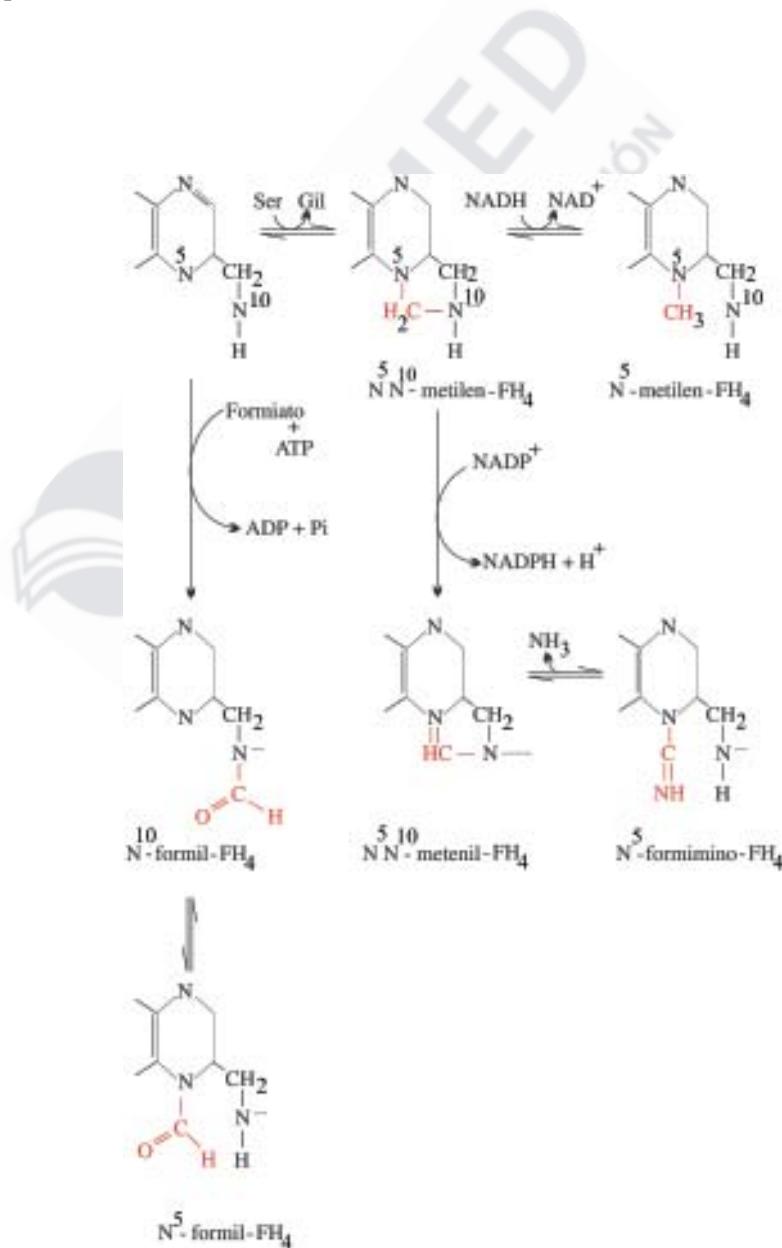


Fig. 19.10. Formas coenzimáticas del tetrahidrofolato. Distintas formas coenzimáticas del tetrahidrofolato y sus interconversiones.

S-adenosil-metionina

La S-adenosil-metionina es un derivado de aminoácido que interviene en reacciones donde se transfiere un grupo metilo.

Esta coenzima se forma por la reacción entre la metionina y el ATP, dando como resultado una estructura que contiene un grupo metilo muy lábil y por tanto puede cederse fácilmente, como se observa en la figura 19.11.

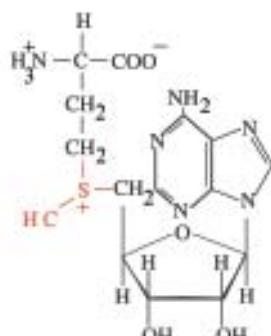
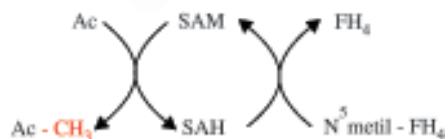


Fig. 19.11. Estructura de la S-adenosil metionina. Al unirse la metionina al grupo adenosilo, el metilo (en rojo) se torna extremadamente lábil y puede cederse de manera fácil en reacciones de metilación.

Presenta una interacción con el N⁵-metil-FH₄, que es necesario para regenerarla después de cada reacción, un ejemplo es la metilación del ácido guanidinacético para la formación de creatina.



Al ceder el grupo metilo la S-adenosil-metionina (SAM) se transforma en S-adenosilhomocisteína (SAH) que, al reaccionar con el N⁵-metil-FH₄, regenera la forma activa de la coenzima.



Coenzima A

La coenzima A por su grupo sulfhidrilo forma tioésteres que le facilitan portar y transferir grupos acilos.

La coenzima A es la más sobresaliente de las coenzimas que en los sistemas vivos transfieren grupos acilos; su existencia universal y la gran variedad de reacciones en que intervienen sus derivados enfatizan su importancia.

La estructura de la molécula es muy compleja y presenta numerosos grupos funcionales (Fig. 19.12).

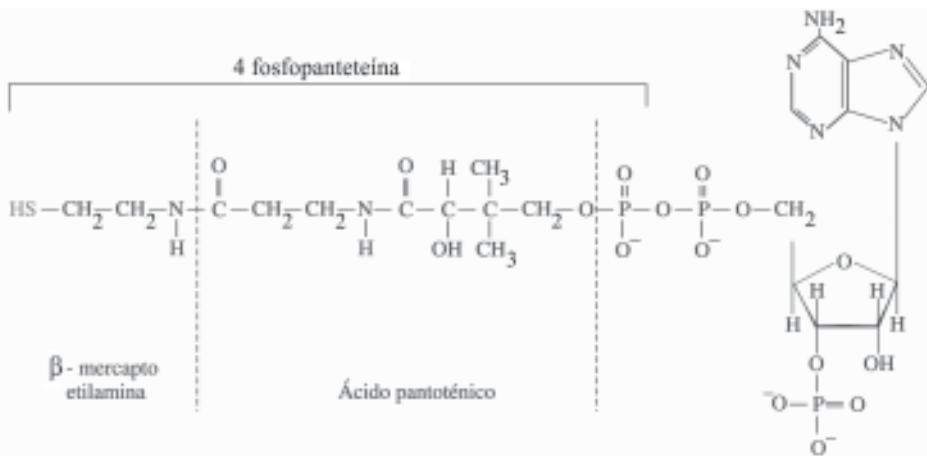


Fig. 19.12. Estructura de la coenzima A. Está formada por un nucleótido de adenina unido a un grupo de 4-fosfopanteteína; esta a su vez se forma por la unión del ácido pantoténico con la β -mercaptopantetilamina.

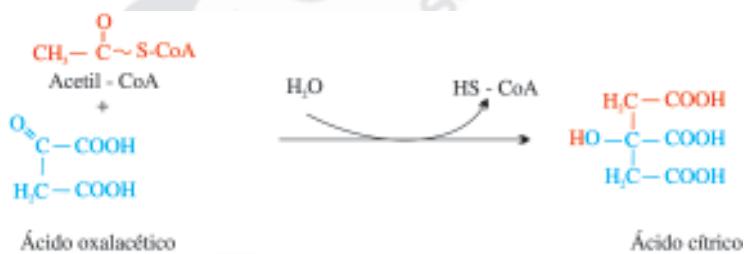
Entre estos grupos se destacan el ácido pantoténico (componente del complejo vitamínico B) y la β -mercaptopantetilamina, que juntos forman la 4-fosfopanteteína y un nucleótido de adenina.

Muchas experiencias han demostrado que la parte reactiva de la molécula es el grupo tiol ($-SH$) final; es común utilizar la abreviatura CoASH para denotar esta coenzima.

La formación de los derivados acílicos se cataliza por enzimas sintetasas y requieren ATP como fuente de energía:



Una vez unido el grupo acilo puede experimentar numerosas reacciones, como su transferencia a un aceptor en la reacción de la citrato sintasa, donde el grupo acetilo de la acetil-CoA se transfiere al oxalacetato con formación de citrato.



Cuando los grupos acilos son grandes, su unión con la CoASH proporciona una ventaja adicional, pues contribuye a la solubilidad de estos compuestos en el seno celular eminentemente acuoso.

El grupo de 4-fosfopanteteína se ha encontrado también unido de forma covalente a una proteína denominada proteína transportadora de acilos (PTA), que forma parte de la sintetasa de ácidos grasos.

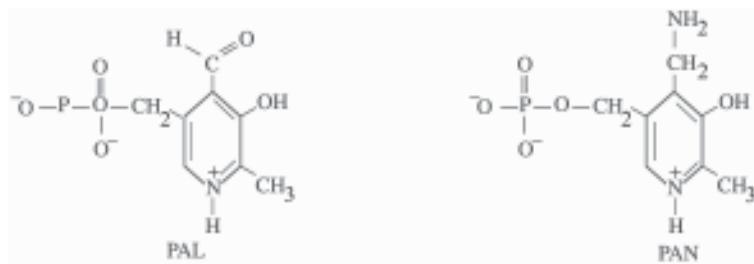
Fosfato de piridoxal

El fosfato de piridoxal es la forma coenzimática de la vitamina B₆ y participa en numerosas reacciones del metabolismo de los aminoácidos.

El fosfato de piridoxal es una de las coenzimas que intervienen en un mayor número de reacciones enzimáticas, casi todas relacionadas con el metabolismo de los aminoácidos; desde el punto de vista nutricional deriva de la piridoxina o vitamina B₆. Como vitamina

B_6 se reconocen al menos tres compuestos: piridoxol, piridoxal y piridoxamina; las formas fosfatadas de los dos últimos presentan actividad coenzimática (Fig. 19.13).

Fig. 19.13. Formas coenzimáticas de la piridoxina. Ambas formas contienen un anillo de piridina sustituido; si en la posición cuatro tiene un grupo aldehído se forma el fosfato de piridoxal (PAL), pero si es un grupo metilamina entonces será la piridoxamina (PAN). Estas son las dos formas coenzimáticas de la piridoxina o vitamina B_6 .

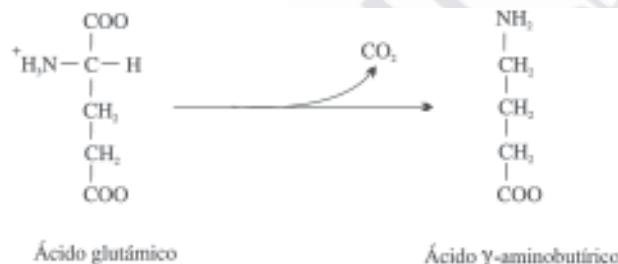


Entre las reacciones que interviene esta coenzima se encuentran:

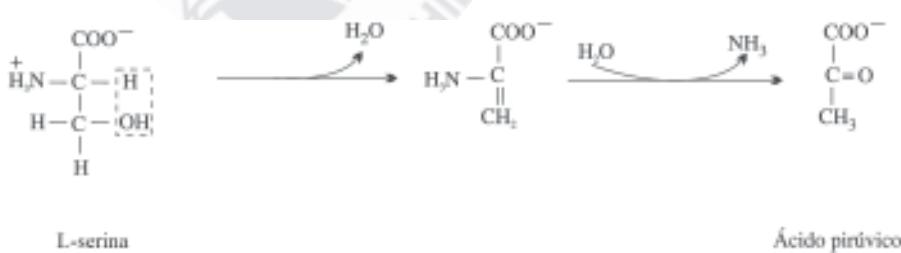
1. Racemización de aminoácidos, a partir de un enantiomorfo se obtiene una mezcla de los dos.



2. Descarboxilación de aminoácidos con formación de compuestos de gran actividad biológica, denominados aminas biogénicas.



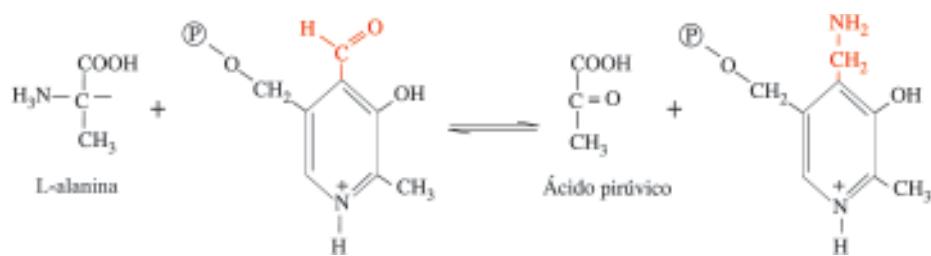
3. La deshidratación de la serina que produce pirúvico.



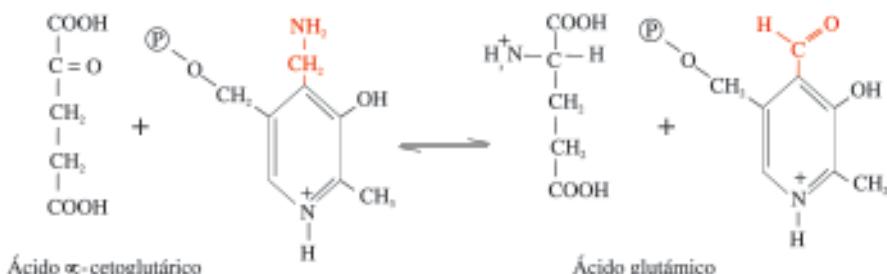
4. La desaldolización de la serina que da lugar a la formación de glicina.



5. Las reacciones de transaminación son las más importantes, interrelacionan el metabolismo de los aminoácidos con el de los glucídicos; en estas reacciones un aminoácido reacciona con el fosfato de piridoxal (PAL) unido a la enzima y origina el cetoácido homólogo y la coenzima es transformada en fosfato de piridoxamina (PAN).



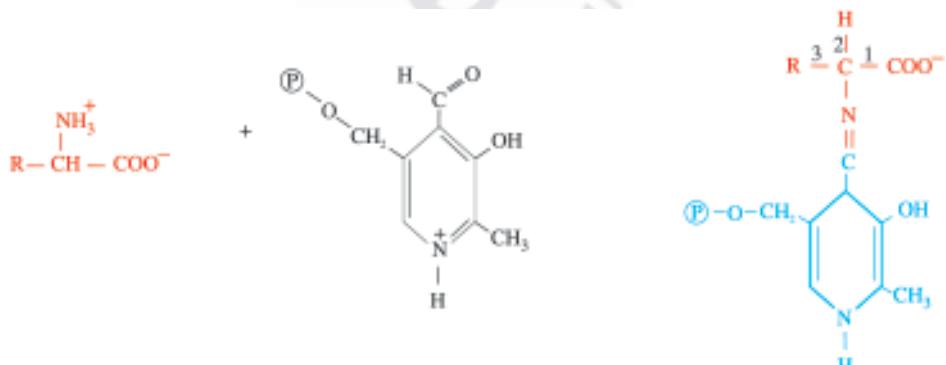
La reacción del P AN unido a la enzima con un cetoácido dará lugar a un nuevo aminoácido y la coenzima tornará a su estado inicial.



Este tipo de reacción fue tomado como ejemplo del mecanismo *ping-pong* en las reacciones con dos sustratos (capítulo 17).

En experiencias realizadas in vitro, donde la enzima era sustituida por un ion metálico polivalente, con temperatura cercana a los 100 °C, se observó que las reacciones ocurrían de forma inespecífica y de manera simultánea, esto llevó a pensar que debía existir alguna etapa común en el mecanismo de la reacción.

Se propuso que el paso inicial consistía en la formación de una base *Schiff* entre la coenzima y el sustrato.



Esto puede producir el debilitamiento de los enlaces 1, 2 o 3; si la enzima actúa sobre 1 estaríamos en presencia de una descarboxilación; si lo hace sobre 2 daría lugar a la eliminación de diferentes grupos de la cadena R de los aminoácidos, según el curso ulterior de la reacción y la actuación sobre 3, así como la hidrólisis posterior del intermedio son los caminos para las reacciones de transaminación.

Otras reacciones en que participa el P AL, como en la glucógeno fosforilasa, serán objeto de estudio en los capítulos correspondientes.

Coenzima B₁₂ (5-adenosil-cobalamina)

La coenzima B₁₂ es la forma coenzimática de la vitamina B₁₂ y participa en reacciones de isomerización muy particulares.

Esta coenzima es un derivado de la vitamina B₁₂, su estructura consiste en un anillo de corrina con un átomo central de cobalto; la corrina tiene como las porfirinas

cuatro anillos pirroles, solo dos de ellos (A y D) están enlazados directamente, además, están unidos a grupos metilos, propionamida y acetamida. El átomo de cobalto presenta seis valencias de coordinación, cuatro de ellas están enlazadas con los N de los pirroles; el quinto sustituyente es el nucleótido de 3'dimetilbenzoimidazol monofosfato que se une a la cadena lateral de acetamida del anillo D por un grupo aminoisopropanol; y el sexto sustituyente (que en la vitamina puede ser CN, OH⁻ o -CH₃) en la coenzima es el 5'desoxiadenosilo proveniente delATP (Fig. 19.14).

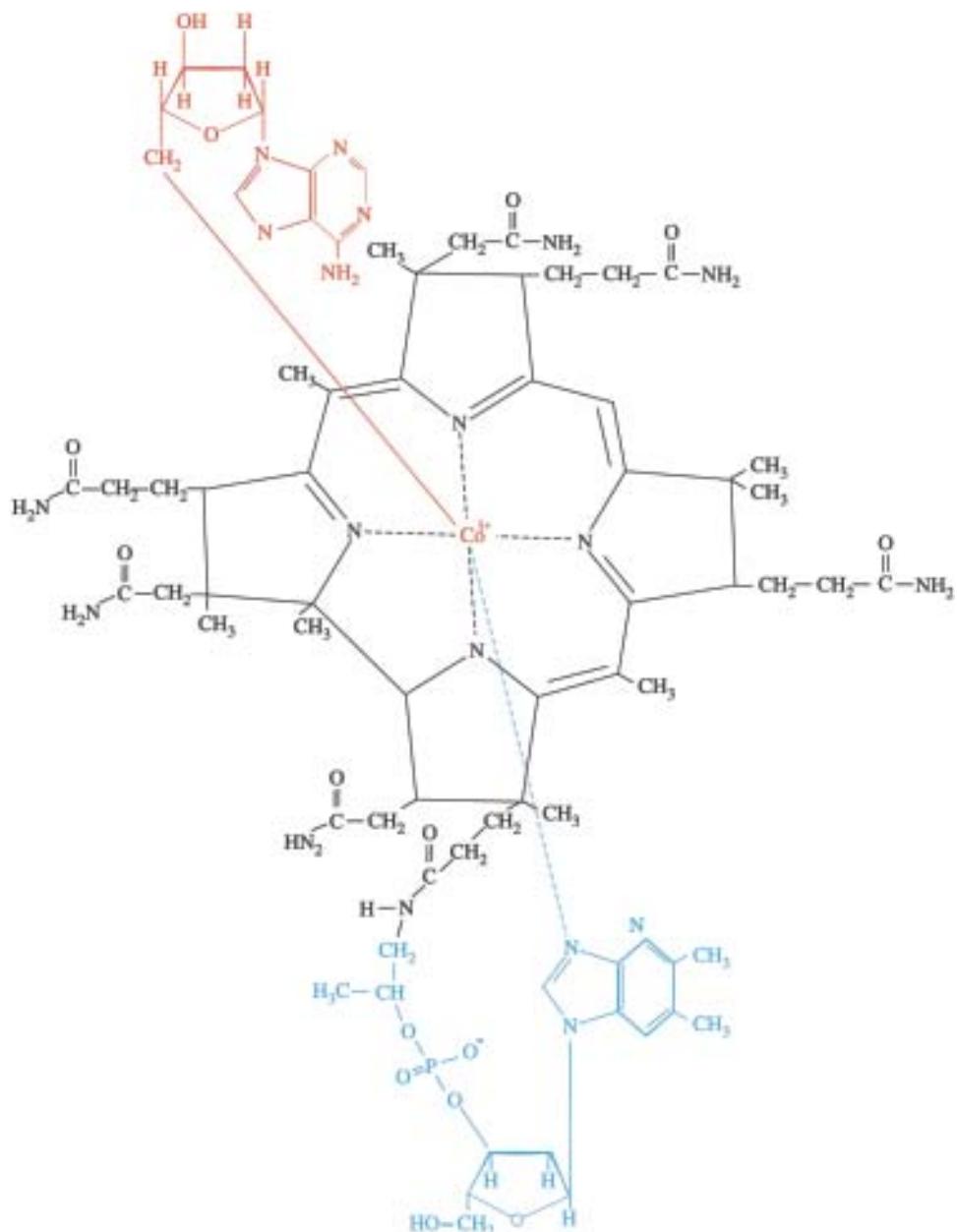


Fig. 19.14. Estructura de la coenzima B₁₂. Sus componentes estructurales son tres: un anillo de corriina muy sustituido (en negro), un nucleótido de benzoimidazol (en azul) y un nucleósido de desoxiadenosilo (en rojo).

Hasta el momento se ha podido comprobar la participación de la coenzima B₁₂ en cuatro reacciones enzimáticas: malonil-CoA mutasa, glutamato mutasa, diol deshidrogenasa y la conversión de homocisteína en metionina.

Solo se examinará la primera como ejemplo, donde se produce un reordenamiento de la molécula del sustrato originado por el cambio de posición de un H y del grupo CoASH entre carbonos adyacentes.



Esta reacción permite la oxidación del metil-malonil-CoA al transformarlo en succinil-CoA, que es un intermediario del ciclo de Krebs; se estudia detalladamente en el capítulo 38.

Nucleósidos trifosfatados

Los nucleósidos trifosfatados, especialmente el ATP, intervienen como cofactores en numerosas y diversas reacciones.

La estructura de estos compuestos se estudió en el capítulo 8, como precursores de los ácidos nucleicos, de estos, solo a los ribonucleótidos se les conocen funciones coenzimáticas.

Adenosintrifosfato (ATP). El ATP participa en numerosas reacciones, sirve como fuente de energía, de elementos estructurales o ambas; al primer grupo pertenecen aquellas reacciones donde los productos no contienen los grupos de la coenzima, como la formación de derivados acílicos de la CoASH ya estudiados.

Al segundo y tercer grupos pertenecen varios tipos de reacciones:

- ### 1. Transferencia de fosfato.



- ## 2. Transferencia de pirofosfato.



3. Transferencia de grupos adenilatos como en la reacción de la ADN ligasa de eucariotes, que se estudia en el capítulo 25.
4. Transferencia de adenosilo, como en la formación de la SAM ya estudiada.

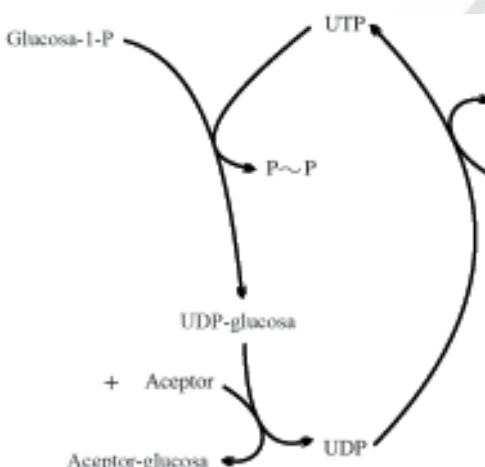
Guanosintrifosfato (GTP). Su función es menos generalizada que en el ATP, pues actúa casi siempre sirviendo de fuente de energía, como en la reacción de la fosfoenolpirúvico carboxiquinasa.

Actúa como coenzima de transferencia de derivados de monosacáridos en la síntesis de glicoproteínas, estos derivados se forman de manera similar a los derivados del UTP que se estudian a continuación.

La función del GTP en el proceso de síntesis de proteínas se discute en el capítulo 30.

Uridintrifosfato (UTP). Los nucleótidos de uridina intervienen como coenzimas que transfieren monosacáridos en forma de UDP-derivados, estos derivados se forman por la reacción entre el UTP con un monosacárido fosfatado.

En una reacción posterior, el monosacárido se transfiere a un aceptor y el UDP reacciona con el ATP, regenerándose el UTP.



Las reacciones en que intervienen se estudiarán en la sección dedicada al metabolismo de los glúcidos.

Citidín trifosfato (CTP). Actúa de forma similar al UTP, pero transfiere grupos al nivel de oxidación de alcohol; interviene fundamentalmente en la formación de fosfátidos de glicerina y esfingolípidos, su forma coenzimática se origina por reacción del CTP con un alcohol fosfatado, por ejemplo:



En una reacción posterior la colina se transfiere a un aceptor que pudiera ser un ácido fosfatídico y se libera CDP, que por acción de una quinasa en presencia de ATP regenera el CTP.

Como se puede apreciar, el conjunto de compuestos que pueden actuar como cofactores enzimáticos es numeroso y de gran diversidad estructural. La relación presentada no los incluye a todos, solo a los más importantes; algunas coenzimas que participan en reacciones muy específicas serán estudiadas cuando se analice esa reacción en particular.

Resumen

Los cofactores enzimáticos son sustancias de diferente naturaleza química, que participan en las reacciones enzimáticas debido a que las enzimas no poseen en su estructura todos los grupos funcionales necesarios para llevar a cabo la catálisis de todas las reacciones metabólicas; los cofactores no son componentes obligados de todas las reacciones.

Los cofactores pueden ser iones inorgánicos que facilitan la unión enzima-sustrato o estabilizan la estructura tridimensional de la enzima, o constituyen por sí los centros catalíticos que ganan eficiencia y especificidad al unirse a las proteínas.

Las coenzimas son sustancias orgánicas que aun cuando pueden funcionar de formas muy variadas, lo más frecuente es que lo hagan como transportadores interenzimáticos o intraenzimáticos; muchas coenzimas son formas funcionales de las vitaminas.

Las coenzimas pueden participar en reacciones de oxidación-reducción como los piridín y flavín nucleótidos, el ácido lipoico, el glutatión y las porfirinas.

La biotina participa en las reacciones de carboxilación y transcarboxilación; el pirofosfato de tiamina participa en el metabolismo de los α -cetoácidos en reacciones de descarboxilación oxidativa y no oxidativa, así como en la formación de α -cetoles.

El tetrahidrofolato interviene en reacciones de transferencia de fragmentos de un carbono, igual que la S-adenosil-metionina.

La coenzima A participa en numerosas reacciones donde se transfieren grupos acilos, especialmente con ácidos de cadena larga, a los cuales ayuda a solubilizar en el medio acuoso citoplasmático.

El fosfato de piridoxal interviene en numerosas reacciones relacionadas con el metabolismo de los aminoácidos, entre estas la más importante es la reacción de transaminación que relaciona el metabolismo de las proteínas con el de los glucidos.

La forma coenzimática de la vitamina B₁₂ participa en un número reducido de reacciones, especialmente en las catalizadas por mutasas.

Por último, pueden señalarse funciones coenzimáticas a los nucleósidos trifosfatados, el más sobresaliente de todos es el ATP.

Ejercicios

1. ¿Cómo podría determinarse experimentalmente si en una reacción de deshidrogenación interviene el NAD⁺ o el FAD, sin necesidad de realizar estudios sobre la estructura del sustrato y el producto?
2. Haga un estudio comparativo, tanto estructural como funcional, de las coenzimas que presentan grupos -SH en su estructura.
3. ¿En qué se asemejan la biotina, el ácido lipoico y la 4-fosfopanteteína?
4. ¿Por qué puede afirmarse que las coenzimas funcionan de acuerdo con el principio de multiplicidad de utilización?
5. ¿Por qué el estudio de los cofactores pone en evidencia que la especificidad de sustrato y de acción pertenece a la proteína enzimática?
6. Relacione los seis grupos principales de la clasificación de las enzimas con los cofactores estudiados en este capítulo.
7. ¿Cuáles son las principales diferencias entre las coenzimas que intervienen en reacciones de transferencia de fragmentos de un carbono?
8. Haga un esquema que refleje el funcionamiento de una coenzima que actúa como un transportador interenzimático.

Resumen de la sección

Los biocatalizadores constituyen un grupo importante de los componentes de los sistemas vivos que permiten el constante y necesario intercambio de sustancia, energía e información entre el ser vivo y el medio natural fuera de él.

Los biocatalizadores en general están constituidos por dos tipos de sustancias, las enzimas que son proteínas especializadas en la catálisis y los cofactores que pueden ser de distinta naturaleza química y que contribuyen al desarrollo de algunas reacciones enzimáticas.

La nota esencial en la estructura y función de las enzimas es el centro activo, una formación flexible donde se organizan, de manera armónica, grupos químicos de las cadenas laterales de los aminoácidos, en una distribución espacial determinada que permiten crear las condiciones idóneas para la catálisis enzimática; su ubicación en la superficie proteica lo hace accesible al sustrato y le permite liberar fácilmente el producto.

Los efectos de aproximación, inmovilización y orientación sobre los grupos reaccionantes del sustrato, que se logran gracias al ajuste perfecto entre este y la enzima, favorecen el desarrollo de las reacciones a velocidades extremadamente grandes; a su vez, la sensible estructura del centro activo lo hace “blanco” del efecto de numerosos factores que pueden modificarlo, unas veces lo hacen más eficiente, otras disminuyendo o aboliendo su eficacia.

Muchos de esos factores son componentes habituales de las células y contribuyen en mayor o menor medida a regular la actividad de las enzimas. Es precisamente a la estructura y las propiedades del centro activo que las enzimas deben sus propiedades distintivas, como la eficiencia catalítica, la especificidad de acción y la especificidad de sustrato.

Las enzimas manifiestan su actividad en el incremento notable de la velocidad de las reacciones y el estudio de estas ha proporcionado una inestimable información acerca de los mecanismos de acción de las enzimas. Las variaciones que se observan en la velocidad de reacción al modificar los factores que en ella intervienen, han brindado la posibilidad del diseño de fármacos, venenos, tóxicos, etc., que pueden ser usados para diferentes fines, según quien o quienes lo empleen. Los profesionales de las ciencias de la salud deben estar muy bien informados sobre estos tópicos.

La característica más sobresaliente de los seres vivos es su permanente intercambio con el medio exterior pero las condiciones ambientales como la temperatura, la humedad relativa, la disponibilidad de nutrientes, etc, cambian constantemente, haciendo necesario que el organismo viviente tenga que adaptarse a esos cambios con riesgo a perecer. Esos cambios tienen su fundamento último en las variaciones que tienen lugar en la intensidad y dirección de las vías metabólicas, cuyas reacciones están catalizadas por enzimas.

La posibilidad de las enzimas de variar la intensidad de su función como respuesta a estímulos específicos permite esas adaptaciones. La regulación de las enzimas y con ella la del metabolismo constituye un aspecto importante de la existencia de los seres vivos y sus alteraciones pueden conducir a la aparición de estados morbosos.

En los organismos pluricelulares existe el fenómeno de las especialización celular y en parte este se debe a la diferente dotación enzimática en cada uno de los órganos y tejidos. Asimismo hay una distribución diferenciada de las enzimas en los compartimentos intracelulares; esta situación crea un flujo de sustancia dentro del organismo que garantiza el funcionamiento armónico de los millones de células que lo integran.

La eficiencia de las enzimas es asombrosa, pero puede serlo aun más debido a la forma en que se organizan. Desde las enzimas sencillas hasta los grandes agregados supraenzimáticos contribuyen a incrementar notablemente todas las propiedades catalíticas de las enzimas, estas agrupaciones proporcionan una base física a las vías metabólicas y hacen que ella no dependan del encuentro casual entre el sustrato y la enzima.

A pesar de la gran diversidad de grupos químicos reactivos, presentes en las cadenas laterales de los aminoácidos, estos son insuficientes para funcionar como catalizadores en todos los tipos de reacciones en que participan las enzimas; por ello ha sido necesario la cooperación con sustancias de bajo peso molecular llamados cofactores, que aportan los grupos de los cuales carecen las enzimas.

Estos cofactores presentan una gran diversidad estructural y funcional de forma tal que pueden actuar con un buen número de enzimas con diferentes especificidades. El hecho de que en la composición de estos cofactores participan vitaminas y minerales vincula a los biocatalizadores con los aspectos más importantes de la nutrición. Una nutrición deficiente puede producir alteraciones en el funcionamiento de las enzimas y, por tanto, en el metabolismo celular que crea un grave peligro para la salud del individuo y se manifiestan por síntomas y signos que reflejan su carencia.

Por estas razones los biocatalizadores, y especialmente las enzimas, constituyen uno de los nódulos fundamentales en el conocimiento de los fenómenos vitales al nivel molecular.

Pero aún todo ello es solo una cara del problema, la aplicación práctica de la enzimología es de gran utilidad en campos tan diversos como la industria, la agricultura y las ciencias médicas, en estas últimas, las enzimas pueden ser utilizadas para el diagnóstico de numerosas enfermedades y en el tratamiento de algunas; aunque aún el campo de esta aplicación está limitado.

Mucho queda por conocer de las enzimas y su funcionamiento, pero el conocimiento actual nos permite tener determinada precisión de su importante función en el surgimiento y mantenimiento de la vida.

BIBLIOGRAFÍA

- _____. Ácidos nucleicos (2011). Disponible en: <http://www.genomasur.com/lecturas/Guia02-2.htm>
- _____. Ácidos nucleicos (2011). Disponible en: <http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/c1-1-1-3.html>
- Adelman, D. C., Aminoff, M. J., Baron, R. B., Bashore, T. and Berger, T. C., et al. (2006). *Harper's Illustrated Biochemistry*. 27th ed., The McGraw-Hill Companies.
- Alayón, G G (2010). *El origen de la vida*. Museo Nacional de Historia Natural. La Habana. Cuba.
- Alberts, B. (2003). *Molecular biology of the cell*. NCBI Garland Publishing. Taylor & Francis Group. 2 396 pp.
- Alberts, B., Bray D., Lewis, J., Raf, M., Roberts, K. and Watson J. D. (1983). *Molecular biology of the cell*. Garland Publishing Inc.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raf f, M., Roberts, K. and Walter P. (2002). *Molecular biology of the cell*. New York: Garland Publishing.
- Alberts, B. and Bray D. (2006). *Introducción a la biología celular*. Ed. Médica Panamericana, 740 pp.
- Alberty, R. A. (1956). Enzyme kinetics. *Advan. Enzymol.*, 17, 1-36.
- Alvarado, L., Flores, J. y Pérez García, G(2005). *Bioquímica: manual de prácticas*. McGraw-Hill, 88 pp.
- Ayala, F. (1978): *The mechanisms of evolution: A Scientific American Book*. W. H. Freeman and Co.
- Berg, J. M., Tymoczko, J. L. and Stryer, L. (2002). *Biochemistry*. 4th ed., NewYork: W. H. Freeman and Co.
- Berg, J. M., Tymoczko, J. L. and Stryer, L. (2002). *Biochemistry*. 5th ed., NewYork: W. H. Freeman and Company, 1 514 pp.
- Bredt, D. S. and Snyder S. H. (1994). Nitric oxide: a physiological messenger molecule. *Ann. Rev. Biochem.*, 63, 175.
- Bjork, G. R., Erieson, J. V., Gustafson, C. E. D., Hagervall, T. G., Jonson, Y. H. and Wilstrom, P. M. (1987). Transfer RNA modification. *Ann. Rev. Biochem.*, 56, 263-287.
- Bond, J.S. and Butler, P. E. (1987). Intracellular proteases. *Ann. Rev. Biochem.*, 56, 333-334.
- Brewster, R. Q. and McEwen, W. E. (1966). *Química orgánica*. La Habana: Ed. Revolucionaria.
- Calladine, C. R., Drew , H. R., Luisi, B. F . and Travers, A. A. (2003). *Understanding DNA*. Elsevier Academic Press.
- Campbell, P. N. (2006). *Bioquímica ilustrada: bioquímica y biología molecular en la era posgenómica*. España: Elsevier, 242 pp.
- Cardellá, L., Hernández, R., Upmann, C.,Vicedo, A., Pérez,A., et al. (1999): *Bioquímica Médica*. Tomo I. Biomoléculas. La Habana: ECIMED, 368 pp.
- Cardellá, L., Hernández, R., Upmann, C.,Vicedo, A., Sierra, S.,et al. (2010). *Bioquímica Humana*. La Habana: ECIMED, 332 pp.
- Cardinali, D. P. (2007). *Neurociencia aplicada: su fundamento*. Ed. Médica Panamericana, 503 pp.
- Clayton, J. (Ed.), (2003). *50 years of DNA*. Palgrave: MacMillan Press.
- Curtis, H. (2006). *Invitación a la biología*. Ed. Médica Panamericana, 768 pp.
- Darnell, J. E. Jr (1985). *RNA.Sci. Amer.*, 253(4), 69-78.
- De Robertis, E. D. P. and De Robertis, E. M. F . (1984). *Biología celular y molecular*. La Habana: Ed. Revolucionaria.
- Denhardt, D. T. (1996). Signal-transducing protein phosphorylation cascades mediated by Ras/ Rho proteins in the mammalian cell: the potencial for multiplex signalling. *Biochem. J.*, 318, 729-747.
- Devlin, T. M. (1997). *Textbook of biochemistry with clinical correlations*. 3th ed., Wiley-Liss, A. John Wiley and sons Inc. Publications.
- Dickerson, R. E. (1978). *Chemical evolution and the origin of life*. A Scientific American Book. Freeman and Co.
- _____. (1983). The DNA helix and how it is read. *Sci. Amer.*, 249(6), 94-111.
- _____. Disacáridos (2011). Disponible en: www.virtual.unal.edu.co/.../cap01/01_01_05.htm
- Doolittle, R. F. (1985). Proteins. *Sci. Amer.*, 253(4), 88-89.
- Draper, D. E. (1995). Protein-RNA recognition. *Ann. Rev. Biochem.*, 64, 593-620.

- Edelman, A. M., Blumenthal, D. K. and Krebs, E. G. (1987). Protein serine/threonine kinases. *Ann. Rev. Biochem.*, 56, 567-613.
- _____. Estructura de las proteínas (2011). Disponible en: <http://www.um.es/~molecula/prot.htm> Es propiedad: wwwprofesorenlinea.cl
- _____. Estructura de los ácidos nucleicos (2011). Disponible en: <http://www.ucm.es/info/genetica/grupod/Estruadn/estrudn.htm#Inicio>
- Felsenfeld, G. (1985). DNA. *Sci. Amer.*, 253(4), 58-67.
- Ferrer, D. (1975). *Esquemas de Histología*. Ed. Espaxa.
- Frank-Kamenetskii M. D. and Mirkin S. M. (1995). Triplex DNA structures. *Ann. Rev. Biochem.*, 64, 65-95.
- Frisell, W. R. (1982). *Human Biochemistry*. Mac Millan Publishing Co. Inc.
- Graves, J. D., Gotoh, Y., Draves, K. E., Ambrose, D., Chernoff, J., Clark, E. A. and Krebs, E. G. (1998). Caspase-mediated activation and induction of apoptosis by the mammalian Ste-20-like kinase Mst1. *EMBO J.*, 17, 2224-2234.
- Glinka, N. (1964). *General Chemistry*. Foreign Languages Publishing House.
- Harvey, L., Berk, A., Zipuesky SL., Matsudaira P., Baltimore D., Darnell JE. (2000) *Molecular Cell Biology*. 4th ed., New York: W.H. Freeman & Co.
- Hendrick, J. P. and Hartl, F. U. (1995). Molecular chaperone functions of heat shock proteins. *Ann. Rev. Biochem.*, 64.
- Herrera, E. (1986). *Bioquímica*. Emalsa SA.
- Hogerman, P. J. (1990). Sequence-directed curvature of DNA. *Ann. Rev. Biochem.*, 59, 755-781.
- Holley, R. W. (1966). The nucleotide sequence of a nucleic acid. *Sci. Amer.*, 214(2), 30-39.
- Holcberg, J. S. (1982). Enzyme therapy: problems and solutions. *Ann. Rev. Biochem.*, 51, 795-812.
- Huang, C. Y., Rhee, S. G and Chock, P. B. (1982). Subunit cooperation and enzymes catalysis. *Ann. Rev. Biochem.*, 51, 935-971.
- Johson, L. N. and Barford D. (1990). Glycogen phosphorylase. The structural basis of the allosteric response and comparison with other allosteric proteins. *J. Biol. Chem.*, 265, 2409-2412.
- Kaiser, E. T., Lawrence, D. S. and Rokita, S. E. (1985). The chemical modification of enzymatic specificity. *Ann. Rev. Biochem.*, 54, 565-595.
- Kaiser, K. and Meisterernst, M. (1996). The human general cofactors. *Trends Biochem. Sci.*, 21, 342-345.
- Kawamura, T., Ono, K., Morimoto, T., Wada, H., Hirai, M., et al. (2005). Acetylation of GATA-4 is involved in the differentiation of embryonic stem cells into cardiac myocytes. *J. Biol. Chem.*, 10, 1074.
- Kevin, M. and Dixon, W. (1994). Protein tyrosine phosphatases. *Ann. Rev. Biochem.*, 62, 19.
- Koolman, J. (2005). *Bioquímica: texto y atlas*. Ed. Médica Panamericana, 488 pp.
- Koshland, D.E. Jr., Nemethy, G. and Filmer, D. (1966). Comparison of experimental binding data and theoretical models in protein containing subunits. *Biochemistry*, 5: 365-385.
- Koshland, D. E. Jr. (1973). Protein shape and biological control. *Sci. Amer.*, 229(4): 52-64.
- Koshland, D. E. Jr. (1987). Switches, thresholds, and ultra-sensitivity. *Trends Biochem. Sci.*, 12: 225-229.
- Lehninger, A. (1985). *Principles de biochimie*. Flammarion Medicine Sciences
- Lehninger, A. L., Nelson, D. L. and Cox, M. M. (1995). *Principios de bioquímica*. 2da ed., Barcelona: Ediciones Omega, S.A.
- Lehninger, A. L. (2000). *Principles of biochemistry*. 3rd ed., Worth Publishers.
- Lesson, C. R. and LessonT. S. (1985). *Histología*. La Habana: Editorial Pueblo y Educación.
- Lewontin, R. C. (1978). *Adaptation*. A Scientific American Book. W. H. Freeman and Co., pp. 115-125.
- _____. Lípidos. (2011). Disponible en: www.virtual.unal.edu.co/.../cap01/01_01_05.htm
- Lipscomb, W. N. (1983). Structure and catalysis of enzymes. *Ann. Rev. Biochem.*, 52, 17-34.
- Lodish, H. (2000). *Molecular cell biology*. W. H. Freeman & Co.
- Lodish, H., Berk, A., Lawrence, Z., Matsudaira, P., Baltimore, D. and Darnell, J. (2002) *Biología celular y molecular*. Editorial Médica Panamericana.
- Mahler, H. R. y Cordes E. H. (1971). *Química Biológica*. Ed. Omega.
- Martin, D. W. Jr., Mayes, P. A. y Rodell, V. W. (1984). *Bioquímica de Harper*. Ed. El Manual Moderno S.A.
- Martin, D., et al. (1983). *Harper's Review of Biochemistry*. 19th ed., California: Lange Medical Publications.
- May, R. M. (1978). *The evolution of ecological systems*. A Scientific American Book. W. H. Freeman and Co., pp. 81-90.
- Mayr, E. (1978). *Evolution*. A Scientific American Book. W.H. Freeman and Co., pp. 2-11.
- Melo, V., Melo Ruiz, V. y Cuamatzi, O. (2007). *Bioquímica de los procesos metabólicos*. Reverte, 406 pp.
- Monod, J., Wyman, J. and Changeux J, P (1965). On the nature of allosteric transitions. *J. Mol. Biol.*, 12: 88-118.
- Montgomery, R., Conway, T. W. y Spector, A. A. (1999). *Bioquímica*. 6th ed., Harcourt Brace.
- Müller -Esterl, W. (2009). *Bioquímica. Fundamentos para Medicina y Ciencias de la Vida*. Reverte, 657 pp.
- Nelson, C. N. (2005). *Física biológica/Biological Physics: Sobre la nueva tradición del siglo XX/About The New Tradition For The XX Century*, Reverte, 642 pp.

- Nelson, D. L. and Cox, M. M. (2006). *Principles of Biochemistry-Lehninger*. 4th ed., 1124 pp.
- Newton, A. C. (1995). Protein kinase C: structure, function and regulation. *J. Biol. Chem.*, 270, 28 495-28 498.
- Noller, H.F. (1984). Structure of ribosomal RNA. *Ann. Rev. Biochem.*, 53, 119 162.
- Novick, R.P. (1980). Plasmids. *Sci. Amer.*, 243(6), 103 127.
- Oparin, A. (1968). Genesis and evolutionary development of life. Academic Press.
- Padgett, R.A., Grabowski, P. J., Konarska, M. M., Seiler, S. and Sharp P. A. (1986). Splicing of messenger RNA precursors. *Ann. Rev. Biochem.*, 55, 1119 1150.
- Pilkis, S. J., Kurland, I. J. and LangeA. J. (1995). 6-Phosphofructo-2-kinase/Fructose-2,6-bisphosphatase: a metabolic signaling enzyme. *Ann. Rev. Biochem.*, 64, 799-835.
- Pilkis, S. J., Weber, I. T., Harrison, R. W. and Bell, G. I. (1994). Glucokinase: structural analysis involved in susceptibility to diabetes. *J. Biol. Chem.*, 269, 21 925-21 928.
- Phillips, D. C. (1966). The three dimensional structure of an enzyme molecule. *Sci. Amer.*, 215(5), 78 90.
- (2011). Polisacáridos. Disponible en: www.eis.uva.es/~macromol/curso08-09/plstipos.htm
- (2011). Proteínas. Disponible en: superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/c1-1-1-2.html
- (2011). Proteínas. Disponible en: www.genomasur.com/lecturas/Guia02-2.htm
- Quagliano, J. V. (1960). *Chemistry*. Prentice-Hall Inc.
- Record, M. T. Jr., Mazur, S. J. S, Melancon, P., Roe, J. H., Shaner, S. L. and Unger L. (1981). Double helical DNA: Conformations, physical properties and interactions with ligands. *Ann. Rev. Biochem.*, 50, 997 1024.
- Ricard, J. and Cornish Bowden, A. (1987). Cooperative and allosteric enzymes: 20 years on. *Eur. J. Biochem.*, 166, 225 72.
- Ridley, M. and Crick, F (2006). *Discoverer of the genetic code (eminent lives)*. Harper Collins Publishers, 192 pp.
- Roach, P. J. (1991). Multisite and hierachal protein phosphorylation. *J. Biol. Chem.*, 266, 14 139-14 142.
- Rose, D.G and Wolfenden, R. (1993). Hydrogen bonding, hydrophobicity, packing, and protein folding. *Ann. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, 22, 381 415.
- Sasson, A. (1984). *Las biotecnologías: desafíos y promesas*. Unesco, Centro de Investigaciones Biológicas.
- Schramm, V. L., Horenstein, B.A. and Kline, P.C. (1994). Transition state analysis and inhibitor design for enzymatic reactions. *J. Biol. Chem.*, 269, 18 259-18 263.
- Schopf, J. W. (1978). *The evolution of the earliest cells*. A Scientific American Book, W. H. Freeman and Co., pp. 49-64.
- Siegel, V. and Walter P. (1988). Functional dissection of the signal recognition particle. *Trends Biochem. Sci.*, 13, 314 316.
- Sienko, M. J. y Plane, R.A. (1966). *Química*. La Habana: Ed. Revolucionaria.
- Silvestre, M., Pérez, M., Colado, H., Brito, R., Berovides, V., et al. (1975). *Biología General* 3: pp 134-199.
- Smith, J. M. (1978). *The evolution of behavior*. A Scientific American Book. W. H. Freeman and Co., p. 92 101.
- Steitz, J. A. and Tykowski K. T. (1995). Small RNA chaperones for ribosome biogenesis. *Science*, 270, 1626 1627.
- Scott, G. F. (2000). *Developmental Biology*. Sunderland (MA) Sinawer Associates, Inc.m
- Soderling, T. R. (1990). Protein kinases. Regulation by auto-inhibitory domains. *J. Biol. Chem.*, 265, 1823-1826.
- Srere, P. A. (1987). Complexes of sequential metabolic enzymes. *Ann. Rev. Biochem.*, 56, 89 124.
- Stryer, L . (1982). *Bioquímica*. Ed. Reverté S.A.
- (1996). *Biochemistry*. W.H. Freeman & Co.
- (2002). *Biochemistry* W. H. Freeman & Co.
- Symons, R. H. (1992). Small catalytic RNAs. *Ann. Rev. Biochem.*, 61, 641 671.
- Szmant, H. H. (1964). *Organic Chemistry*. EPUH.
- Taussig, R. and GilmanA. G (1995). Mammalian membrane-bound adenylyl cyclases. *J. Biol. Chem.*, 270, 1-4.
- Tejón, J. M. (2006). *Fundamentos de bioquímica estructural*. Editorial Tebar, 444 pp.
- Te Wu, T. (2002). *Analytical molecular biology*. New York: Kluwer Academic Publishers, 258 pp.
- Tipton, K. F. (1974). Enzyme kinetics. En: Bull, AT, Lagnado JR, Thomas JO, y Tipton KF. *Companion to Biochemistry*. Londres: Longman.
- Ueda, K. and Hayaishi, O. (1985). ADP Ribosylation. *Ann. Rev. Biochem.*, 54: 73 100.
- Varki, A., Cummings, R., Esko, J., Freeze, H., Hart, G and Mart J. (Eds) (1999) *Essentials of Glycobiology*. Plainviews (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Vincent Vela, M. C., Álvarez Blanco, S. y Zaragoza Carbonell, J. L. (2006). *Ciencia y tecnología de los polímeros*. Ed. Universidad Politécnica de Valencia, 127 pp.
- (2011). Virus. Disponible en: superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/c1-1-2-4.html
- Voet, D. and Voet, J. G (1995). *Biochemistry*. 2nd ed., John Wiley and Sons Inc
- Voet, J. G. (2006). *Bioquímica*. Ed. Médica Panamericana, 1 756 pp.

- Wakil, S. J., Stoops, J. K. and Joshi, V. C. (1983). Fatty acid synthesis and its regulation. *Ann. Rev. Biochem.*, 52, 537-579.
- Walsh, C. (1979). *Enzymatic reaction mechanisms*. W.H. Freeman and Co, San Francisco.
- Warren, G. (1994). Membrane partitioning during cell division. *Ann. Rev. Biochem.*, 62, p. 19.
- Watson, J. D. (2006). *Biología molecular del gen*. Ed. Médica Panamericana, 776 pp.
- Watson, J. D. (2007). *Avoid boring people and other lessons from a life in science*. New York: Random House.
- Watson, J. D. (2011). *The double helix: a personal account of the discovery of the structure of DNA*. Norton Critical Editions.
- Watson, J. D. and Crick, F. H. C. (1953). Molecular structure of nucleic acid. A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*, 171, 7378.
- Watson, J. D. and Crick, F. H. C. (1953). Genetic implications of the structure of deoxyribonucleic acid. *Nature*, 171, 964-967.
- Weinberg, R. A. (1985). The molecules of life. *Sci. Amer.*, 253(4), 48-57.
- Wells, R. D. (1993). Unusual DNA structures. *J. Biol. Chem.*, 268, 1095-1098.
- Wera, S. and Hemmings, B. A. (1995). Serine/threonine protein phosphatases. *Biochem. J.*, 311, 17-29.
- White, A., Handler, P. and Smith, E. (1973). *Principles of Biochemistry*. Mc Graw Hill Book Co.
- Yeaman, S. J. (1989). The 2-oxo acid dehydrogenase complexes: Recent advances. *Biochem. J.*, 257, 625-631.
- Ziegler, D. M. (1985). Role of reversible oxidation-reduction of enzymes thiols disulfides in metabolic regulation. *Ann. Rev. Biochem.*, 54, 305-329.
- Zimmerman, S. B. (1982). The three dimensional structure of DNA. *Ann. Rev. Biochem.*, 51, 395-427.
- Zubay, G. L., Parson, W. W. and Vance, D. E. (1996). *Principles of Biochemistry*. Wm. C. Brown Publishers.

ÍNDICE DE MATERIA

A

- α -hélice/7, 101, 204, 205, 208, 209, 218
Absorción/49, 50, 52, 122, 123, 179, 235, 267, 284, 335, 338
Accidentes de la doble hélice/175, 176
Accidentes en la doble hélice/173
Acetal/76, 115
Acetona/213, 221
Ácido/62, 63, 64, 74, 75, 76, 77, 79, 80, 83, 84, 87, 90, 93, 94, 95, 96, 97, 99, 100, 101, 104, 113, 114, 115, 121, 122, 123, 125, 126, 132, 141, 142, 149, 154, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 183, 194, 197, 198, 214, 219, 224, 226, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 235, 237, 238, 239, 240
2,3 bisfosfoglicérico/214
acético/5, 259
adenílico/123
araquidónico/231, 238, 239
aspártico/33, 93, 94, 97, 99, 100, 329
citidílico/123
desoxitimidílico/123
fólico/342
glucurónico/114, 132, 159, 160, 162
glutámico/33, 93, 94, 97, 99, 100, 104, 274, 340, 342, 343
hialurónico/132, 158, 159, 161, 162, 163
L-ascórbico/113
L-aspártico/298
linoleico/224
lipoico/338, 339, 341, 342, 351
oleico/224
oxalacético/322
palmitoleico/224
pantoténico/90, 345
siálico/232
tetrahidrofólico/342
tricloroacético/284
úrico/121
uridílico/123
urónico/158, 160
valérico/340
Ácidos/4, 5, 6, 7, 10, 16, 28, 29, 30, 31, 33, 34, 35, 36, 37, 44, 57, 59, 62, 63, 64, 68, 69, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 83, 84, 86, 89, 93, 94, 97, 99, 103, 113, 114, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 123, 124, 125, 126, 128, 129, 130, 133, 136, 138, 142, 145, 152, 155, 156, 158, 163, 165, 169, 170, 184, 186, 194, 195, 197, 198, 202, 205, 209, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 231, 232, 234, 235, 237, 239, 240, 241, 262, 267, 313, 322, 325, 327, 330, 340, 345, 349, 351, 354, 355
aldáricos/113
aldónicos/113
biliares/226, 234, 235, 240
fosfatídicos/229, 231
urónicos/113, 114
Ácidos grasos/5, 6, 16, 29, 31, 64, 69, 74, 77, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 232, 237, 239, 240, 313, 325, 327, 330, 345
grasos esenciales/227
grasos insaturados/223, 224, 225, 227, 228
grasos poliinsaturados/222, 224, 225, 227, 240
grasos saturados/222, 223, 226, 240
grasos sustituidos/225
Ácidos nucleicos/5, 7, 10, 28, 29, 30, 31, 33, 34, 35, 36, 37, 44, 57, 59, 64, 68, 72, 74, 76, 116, 117, 118, 119, 121, 123, 124, 125, 126, 128, 129, 130, 133, 136, 138, 145, 155, 165, 169, 170, 186, 194, 197, 241
funciones/165
tipos/165
Acilglicéridos/221
Acilgliceroles/76, 221, 226, 227, 228, 231, 239
Acoplamiento/23
Actina/52, 53, 54, 201
Activadores alostéricos/304
Activadores enzimáticos/292
Actividad catalítica/38, 64, 166, 214, 243, 262, 266, 273, 274, 285, 292, 302, 309, 313, 323, 325, 327, 329, 330
Actividades catalíticas múltiples/324
Adaptación inducida/271, 270, 282
Adenilato ciclasa/9, 239
Adenilato transferasa/311
Adenilo/125
Adenina/33, 35, 37, 116, 121, 123, 125, 170, 172, 174, 194, 195, 253, 335, 336, 338, 345

- Adenosilo/125, 344, 350
 Adenosín difosfato/123
 Adenosín monofosfato/37, 123
 Adenosín trifosfato/6, 30, 123, 252
 Adenosina/123
 ADN/7, 8, 10, 30, 31, 35, 36, 42, 43,
 45, 47, 49, 114, 119, 121, 124, 126,
 138, 147, 165, 166, 167, 168, 169,
 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176,
 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183,
 184, 185, 186, 187, 188, 190, 192,
 193, 194, 195, 196, 197, 247, 329,
 337, 350
 A/177, 190
 B/177
 estructura primaria/167
 estructura secundaria/171
 función/165, 166
 mitocondrial/182, 194
 superenrollado negativo/179
 superenrollado positivo/179
 Z/175, 176, 177
 ADP/123, 252, 290, 302, 306, 312, 320,
 337, 341, 356
 Adrenalina/9, 90
 Afinidad de la enzima por el sustrato/285, 287,
 294, 295, 297
 Agente desnaturalizante/136, 213, 284
 Agregados supramoleculares/31, 57
 Agrupaciones atómicas derivadas/75
 acetales/75
 anhídrido de ácido/77
 enlace amida/77
 enlace éter/76
 ésteres/76
 hemiacetales/75
 Agua/28, 29, 32, 33, 35, 38, 39, 40, 43,
 44, 57, 61, 62, 66, 67, 68, 75, 76,
 77, 82, 83, 84, 94, 102, 104, 111,
 129, 130, 135, 140, 141, 147, 156,
 161, 178, 200, 211, 213, 215, 221,
 222, 226, 233, 239, 246, 248, 249,
 254, 259, 269, 270, 277, 279, 331
 Agua de mar/28, 29
 Alanina/33, 90, 93, 94, 95, 100, 104, 188,
 189, 203, 216, 217, 291, 310, 318
 Albúmina/154, 162, 201, 219
 Alcance de la reacción/246
 Alcohol/73, 75, 76, 78, 94, 183, 201, 213,
 229, 230, 232, 240, 335, 336, 350
 Alcohol primario/73
 Aldehído/73, 74, 75, 78, 81, 84, 105, 106,
 113, 116, 231, 342, 346
 Aldolización/337
 Aldosas/106, 107, 109, 116
 Aldosterona/236
 Almacenamiento de energía/50, 151, 222,
 228, 241
 Almidón/39, 100, 132, 145, 151, 152, 155,
 156, 162, 163
 Amidas/75, 77
 Amilopectina/155, 156, 162
 Amilosa/155, 162
 Amina/74
 primaria/74
 secundaria/74
 terciaria/74
 Aminas biógenas/90, 101, 346
 Amino/72, 74, 75, 76, 77, 81, 84, 89,
 90, 94, 95, 97, 98, 99, 100, 101,
 102, 103, 115, 121, 157, 169, 197,
 198, 205, 215, 226, 276, 279, 291,
 339, 341
 Aminoácido/38, 81, 89, 90, 92, 93, 95,
 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103,
 104, 131, 197, 204, 205, 217, 229,
 278, 323, 344, 346, 347
 ácido/101
 básico/101
 Aminoácidos/5, 6, 7, 11, 12, 29, 30, 31,
 33, 34, 35, 36, 37, 39, 42, 54, 59,
 60, 64, 69, 72, 73, 74, 75, 77, 81,
 86, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96,
 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104,
 117, 118, 119, 129, 131, 136, 138,
 142, 147, 166, 188, 191, 197, 198,
 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206,
 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213,
 217, 218, 235, 241, 266, 268, 269,
 271, 273, 274, 275, 276, 282, 308,
 309, 314, 330, 331, 333, 345, 346,
 347, 351, 352, 353
 abreviatura/93
 características generales/89
 estructura/90
 formas iónicas/96
 funciones/89, 90, 101
 mezclas racémicas/95
 rotación específica/81, 95
 Aminoácidos cíclicos/92
 AMP/37, 123, 310, 311
 AMPC/309
 AMPc/54, 122, 237, 308, 309, 310, 312,
 325, 329
 Anabolismo/24
 Andrógenos/234, 236
 Anemia falciforme/12
 Anhidrasa carbónica/207, 287, 288
 Anhídrido de ácido/77, 125, 126
 Anillo de corrina/347, 348
 Anillo de isoaloxacina/338

- Anillo de nicotinamida/336
 Anillo de pirimidina sustituido/341
 Anillo de pteridina/343
 Anillo de tiazol/72, 340, 341
 Anillo indol/94
 Anillo oxano/237
 Anillos aromáticos/90, 101, 103, 179
 Anillos pirrólicos/340
 Anómero alfa/111
 Anómero beta/111
 Anómeros/111, 112, 117, 118
 Anticodon/189, 190
 Anticooperatividad/302
 Anticuerpos monoclonales/8, 17
 Antígeno/166
 Antimetabolito/121
 Aparato de Golgi/31, 46, 50, 322, 325
 Arginasa/279
 Arginina/8, 38, 93, 94, 95, 98, 99, 100, 104, 203, 269, 274, 276
 Armas químicas/296, 297
 ARN/165, 166, 169, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197
 estructura general/185
 TSL/192
 como material genético/193, 194
 de transferencia/188
 heterogéneo nuclear/192, 195
 mensajero/188, 192
 pequeños/192, 195
 polimerasas/322
 ribosomal/188, 191
 ARNm/188, 192, 193, 194, 195
 ARNr/188, 191, 192, 195
 ARNt/188, 189, 190, 191, 192, 195, 196
 Asialoglicoproteína/154
 Asimilación/25, 26, 47, 48, 49, 50, 56, 245
 Asociaciones supraenzimáticas/329, 331, 332
 Asparagina/93, 94, 100, 203, 205, 208
 Aspirina/238
 Aterosclerosis/235, 240
 Átomos/27, 29, 32, 43, 57, 59, 61, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 78, 79, 82, 83, 84, 103, 110, 117, 127, 142, 170, 173, 203, 222, 224, 225, 226, 227, 230, 232, 234, 235, 236, 240, 241, 245, 246, 247, 277, 317, 334, 336, 338
 ATP/6, 10, 30, 17, 123, 126, 212, 252, 253, 270, 277, 290, 302, 306, 310, 311, 314, 316, 318, 320, 325, 327, 341, 344, 345, 348, 349, 350, 351
 Azaguanina/121
 Azúcar/33, 36, 82, 116, 117, 119, 120, 121, 122, 124, 125, 126, 153, 177, 315
 Azúcares/73, 76, 113, 114, 116, 117, 120
 ácidos/113
 aminados/114, 116, 117
 Azufre/29, 32, 59, 61, 64, 72, 90, 217, 221, 241
- B**
- Bacteria/30, 31, 45, 158, 166, 182, 199
 Bacteriófagos/47, 181
 Balanceo en ADN/174, 176, 177, 194
 Base conjugada/62
 Base nitrogenada/119, 120, 121, 122, 124, 125, 167, 169, 185, 230, 231
 Bases/3, 5, 9, 12, 13, 19, 33, 35, 36, 37, 39, 42, 43, 62, 63, 76, 101, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 180, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 194, 195, 196, 241, 262
 Bases nitrogenadas/76, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 168, 171, 173, 178, 184, 185, 194, 196, 241
 Benceno/71, 91, 221
 Berthelot, Marcellin/5
 Berzelius, Jóns/4
 Bicapa lipídica/200
 Bilirrubina/114
 Bilis/235
 Biocatálisis/19, 22, 265
 Biocatalizadores/6, 10, 13, 23, 30, 243, 262, 263, 265, 274, 352, 353
 Biocitina/340, 341
 Biología molecular/5, 7, 10, 13, 277, 354, 357
 Biomoléculas/5, 9, 13, 19, 22, 23, 24, 28, 29, 30, 31, 33, 34, 35, 36, 38, 39, 42, 43, 44, 57, 59, 60, 61, 62, 64, 65, 66, 67, 69, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 79, 82, 83, 84, 85, 89, 90, 104, 117, 118, 125, 126, 138, 151, 162, 221, 239, 241, 249, 300, 319, 354
 átomos presentes/57
 características generales/64
 composición elemental/13, 28, 43, 64, 241
 Biopolímeros/10, 31, 35, 36, 38, 44, 60, 89, 241
 Bioquímica/1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 19, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 28, 42, 43, 44, 57, 127, 129, 244, 265, 277, 335, 354, 355, 356
 aplicación a las ciencias médicas/1

- aportes a otras ciencias/3
 categorías/1, 22, 24, 25, 2 6
 como ciencia/4, 6, 13, 21
 conceptos generales/1, 22, 24, 25, 26
 desarrollo histórico/3, 4
 disciplina/1, 21, 22, 24, 25, 26, 57
 método de estudio/25
 objeto de estudio/1, 3, 13, 19, 21
 principios/1, 22, 23, 25, 26
 Biotecnología/8, 9, 11, 13, 19
 Biotina/324, 340, 341, 351
 Biotransducción/10, 13, 19, 22, 49
 Bisfosfatidilgliceroles/231
 Bomba calorimétrica/4, 251
 Bradiquinina/199
 Braunstein, Alexander/6
 Buchner, Eduard/5
 Buchner, Hans/5
Buffer/63, 64, 83, 144, 145, 146, 184, 284
- C**
- Cadena respiratoria/209, 234, 327
 Cafeína/121
 Calcio/64, 201
 Calmodulina/201, 314, 315
 Cambio conformacional/270, 289, 319
 Cambios del entorno/300
 Capacidad catalítica/287, 294, 295, 297, 301, 330
 Carácter informacional conformacional/241
 Carácter informacional secuencial/213, 241
 Carácter metálico/66
 Carácter reductor/32, 116, 117
 Características generales de las macromoléculas/127
 Carbonilo/72, 73, 74, 75, 77, 84, 85, 105, 106, 109, 110, 113, 117, 201, 205, 342
 Carbono/4, 5, 28, 29, 32, 44, 59, 61, 64, 66, 67, 69, 70, 71, 72, 73, 78, 79, 82, 83, 85, 89, 94, 102, 103, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 121, 122, 123, 124, 129, 130, 170, 171, 198, 201, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 229, 230, 231, 232, 234, 235, 236, 237, 240, 241, 336, 342, 351
 anomérico/111, 115, 117, 121
 asimétrico/106, 107, 108, 111
 Carbonos/71, 79, 80, 81, 84, 85, 87, 102, 106, 107, 108, 109, 110, 112, 113, 115, 117, 120, 121, 170, 201, 204, 205, 218, 223, 224, 228, 231, 237, 238
 Carboxilación/341, 351
- Carboxilo/72, 73, 74, 77, 81, 84, 90, 92, 95, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 104, 113, 158, 197, 198, 205, 215, 222, 226, 235, 269, 274, 275, 325, 339, 340, 341, 342
 Carboxipeptidasa/209, 292
 Cardiolipinas/229, 231
 Caseína/4, 203
 Catalasa/141, 201, 215, 288
 Catalizadores/5, 36, 245, 261, 262, 263, 264, 265, 271, 353
 Categorías en la Bioquímica
 biocatálisis/22
 bioinformación/22
 biomoléculas/22
 biotransducción/22
 biotransformaciones/22
 Cationes/65, 124, 161, 309, 334
 CDP/123, 125, 126, 350
 Celobiosa/152, 153, 162
 Célula/11, 12, 16, 17, 18, 22, 31, 38, 40, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 54, 55, 56, 58, 77, 115, 140, 147, 158, 162, 181, 182, 183, 184, 186, 192, 194, 210, 222, 244, 245, 247, 251, 253, 299, 300, 301, 306, 307, 312, 320, 321, 322, 323, 327, 328, 329, 330, 331, 339
 primitiva/40, 44
 procarionte/31
 Células eucariontes/182, 183, 194
 Celulosa/123, 132, 151, 153, 155, 157, 162, 163, 216
 Centríolos/50
 Centro activo/210, 243, 244, 265, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 276, 281, 282, 289, 291, 292, 294, 295, 296, 303, 324, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 352
 de la quimotripsina/244, 274
 de la tripsina/274
 Centro de asimetría/79, 111, 117
 Centros activos útiles/273, 294, 296, 300, 303, 319
 Ceras/221, 227, 235, 239
 Cerebrósidos/232, 233
 Ceruloplasmina/154, 201
 Cetoácido/342, 346, 347
 Cetona/73, 75, 78, 84, 105, 106
 Cetosas/106, 107, 109, 116
 Chevreul, Michel/5
 Ciclo de Krebs/6, 349
 Cinética/6, 213, 283, 285, 292, 296, 297
 Cisteína/93, 94, 95, 100, 104, 203, 214, 333, 340

- Citidín difosfato/123
 Citidín monofosfato/123
 Citidín trifosfato/123
 Citidina/123
 Citidintrifosfato/350
 Citocromo C/141, 201, 211, 203, 209, 215
 Citocromo oxidasa/141, 201
 Citocromos/340
 Citoesqueleto/46, 50, 52, 322
 Citoplasma/43, 46, 49, 50, 56, 181, 192, 193, 331
 Citosina/35, 116, 121, 123, 125, 169, 170, 172, 174, 181, 190, 194
 Citosol/312, 314, 322, 327, 330
 Citrato sintasa/345
 Clasificación de las enzimas/276, 351
 Clasificación de los aminoácidos/93, 94, 104
 Clorofila/340
 CMP/123
 Coacervados/38, 44
 CoASH/345, 349
 Cobalto/64, 347, 348
 Cobre/64, 154, 201
 Código genético/7, 10, 17, 37, 42
 Coenzima/72, 234, 288, 289, 313, 325, 335, 336, 337, 338, 339, 342, 343, 344, 345, 346, 347, 348, 349, 350, 351
 Coenzima A/16, 313, 344, 345, 351
 Coenzima Q/234
 Coenzimas/266, 333, 334, 335, 337, 338, 340, 344, 345, 350, 351
 Cofactores/117, 124, 125, 211
 Cofactores inorgánicos/334
 Colesterol/8, 16, 17, 222, 227, 234, 235, 240
 Colina/125, 229, 230, 231, 232, 240, 350
 Compartimentos celulares/321, 322
 Compartimentos subcelulares/8
 Complejo/90, 102, 127, 142
 enzima-sustrato/267, 268, 270, 273, 281, 282, 285, 292, 323
 ES/267, 282, 285, 286, 287, 303
 Complejos intermedios/267
 Complejos multienzimáticos/323, 324, 325, 331, 332, 333
 Componente estructural común/201
 Componentes de un sistema de regulación/300, 301
 amplificador/301, 319
 efector/300, 301, 306, 307, 312, 319
 estímulo/299, 300, 301
 receptor/300, 301, 319
 respuesta/299, 300, 301
 señales/301
 transductor/300, 301
 transformación señal-estímulo/301
 Composición de bases delADN/168, 169
 Composición de la materia viva/64
 Comunicación celular/54
 Comunicación intercelular/45, 54, 55, 56, 58
 Concentración/62, 82, 83, 84, 87, 139, 140, 144, 146, 180, 184, 200, 240
 Concentración de la enzima/284, 285, 300
 Concentración de R/303
 Concentración de sustrato/283, 284, 285, 287, 288, 291, 293, 294, 296, 302, 306
 Conceptos generales en Bioquímica
 anabolismo-catabolismo/24
 conformación-transconformación/24
 estructura-función/24
 inhibición-activación/24
 medio-bioelemento/24
 sustrato-producto/24
 Condroitín-4-sulfato/159
 Condroitín-6-sulfato/159
 Conexina/201
 Conformación/103, 124, 137, 138, 157, 158, 169, 170, 171, 176, 177, 179, 198, 203, 204, 205, 207, 209, 210, 214, 218
 Conformación activa/303, 304
 Conformaciones/82, 169, 170, 171, 187, 198, 203, 210, 213, 302, 303, 304, 305
 Constante/23, 48, 61, 62, 136, 146, 247, 250, 254, 256, 257, 258, 259, 261, 262, 263, 269, 284, 285, 286, 287, 290, 296, 299, 303, 305, 306, 336, 337, 352
 Contenido calórico/248
 Contractilidad/48, 50
 Cooperatividad/302, 320
 Corey, Robert/7
 Corteza terrestre/28, 29
 Corticoides/238, 240
 Corticosteroides/234, 236
 Corticotropina/199
 Crecimiento/11, 15, 17, 28, 47, 49, 55, 56, 114, 156, 201, 211, 212, 335, 340
 Crick, Francis/7, 10, 173
 Cromosoma bacteriano/181, 182
 Cromosoma eucarionte/182
 Cromosomas/15, 19, 49, 138, 179, 182, 183
 CTP/123, 310, 327, 350
 Cuerpo humano/29
 Curva hiperbólica/287, 306

D

Darwin, Charles/5, 38, 41, 44, 5 7
Derivados glicosídicos/115
Desarrollo/1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 17, 18, 19, 21, 27, 28, 32, 40, 41, 42, 43, 44, 47, 51, 57, 64, 127, 154, 168, 179, 245, 259, 271, 284, 333, 335, 340, 352
Desasimilación/47, 48, 49, 50, 5 6
Descarboxilación/90, 229, 339, 341, 342, 346, 347, 351
Deshidrogenasas/277, 289, 335, 338
Desmosomas/52, 53, 54, 56
Desnaturalización/136, 148, 179, 180, 213, 214, 218, 292
Desoxirribosa/33, 36, 114, 116, 117, 119, 121, 122, 126, 168, 170, 171, 172, 173, 174, 185
Desoxitimidín/123
 difosfato/123
 trifosfato/123
Detergencia/227
Detoxicación/114
Dextrógiro/81
DG/248, 249, 250, 251, 252, 253, 258, 259, 260, 261, 263, 264
DH/248, 249, 251, 258, 264
Diabéticos/11, 117
Diacilgliceroles/227, 228, 240, 314
Diálisis/334
Diastereoisómeros/81, 109, 118
Diferenciación/13, 45, 46, 49, 50, 51, 56, 154, 201, 322
Difosfatidilgliceroles/229
Difracción de rayos X/267
Difusión/249
Diglucuronato de bilirrubina/114
Dinitrogenasa/201
Disacáridas/153
Disacáridos/115, 152, 153, 159, 162
Distribución/30, 32, 67, 78, 127, 134, 137, 154, 173, 215, 273, 308, 321, 322, 332, 340, 352, 353
Dominios/7, 52, 210, 216, 218, 309, 314, 315, 324, 325, 326
dTDP/123
dTMP/123, 126
dTTP/123

E

Ecuación/62, 63, 83, 134, 249, 250, 251, 252, 254, 255, 256, 257, 258, 261, 263, 264, 285, 286, 287, 288, 294, 296

de Arrhenius/261
de Henderson-Hasselbach/63, 83
de Michaelis/286, 287, 288
Efecto/227, 238, 271, 284, 285, 286, 291, 292, 293, 302, 303, 309, 320, 331, 352
de la concentración de cofactores/291
de la temperatura/292
de los activadores/292
de los inhibidores/293
del pH/291
homotrópico/302
Pasteur/5
Efectores/301, 302, 303, 304, 306, 313, 330
Elastina/161, 201, 216
Electroforesis de los aminoácidos/100
Electrones/65, 66, 67, 68, 69, 84, 102, 209, 214, 276, 277, 278, 322, 327, 334, 340
Electrostáticas/213
Elementos en los seres vivos/28
Embden, Gustav/6
Emulsión/142, 143, 226, 227
Enantiómeros/80, 8 1
Enantiomorfos/87
Encefalina/199
Energética de las reacciones químicas/246
Energía/6, 10, 13, 22, 23, 24, 27, 28, 30, 33, 35, 39, 43, 49, 50, 57, 65, 66, 68, 77, 103, 151, 153, 156, 162, 203, 213, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 266, 271, 276, 277, 292, 307, 314, 322, 345, 349, 350, 352
cinética/213, 259
de activación/259
de ionización/65, 66
libre/77, 203
de reacción/261
potencial/247, 248, 249, 263
radiante/247
Enfermedad de células/154
Enlace/89, 102, 103, 104, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 167, 168, 169, 170, 177, 178, 182, 185, 187, 192, 194, 197, 198, 201, 202, 204, 205, 207, 208, 218, 246, 248, 263, 266, 275, 308, 313, 317, 335, 336, 338, 339, 341, 342
amida/77, 84, 226, 232, 240, 339, 341
covalente/35, 66, 67, 84, 115, 148, 154, 158, 161, 182, 204, 208
disulfuro/74

- éster/77, 122, 126, 230, 232, 235, 246, 239, 240, 327, 350
 308, 317
 clasificación/232
 funciones/233
 fosfodiéster/76, 124, 125, 167, 168, 170, 178, 185, 194
 Esfingomielinas/232, 233, 240
 Espacio extracelular/299, 321
 Especialización/13, 17, 49, 50, 51, 56, 58, 353
 Especies iónicas de los aminoácidos/97, 98
 Especificidad/6, 7, 17, 18, 22, 23, 61, 142, 151, 173
 de acción/274, 277, 281, 315, 319, 333, 352
 de sustrato/273, 274, 277, 281, 308, 309, 315, 317, 352
 de sustrato absoluta/273
 de sustrato relativa/273
 Estados conformacionales/24, 270, 302, 303, 304, 305, 306, 319
 Esteroides/114, 221, 222, 227, 234, 235, 236, 239, 240, 330
 Esteroles/227, 234, 235
 Estrógenos/234, 236
 Estructura de las proteínas/197
 Estructura de los ácidos nucleicos/165, 170
 Estructura del centro activo/268, 269, 270, 272, 273, 281, 352
 Estructura primaria de las proteínas/7, 200
 Estructura primaria del ADN/167
 Estructura secundaria del ADN/171
 Estudios cinéticos/283, 284, 296, 297
 Eteno/70
 Éter/76, 78, 94, 221, 231
 Eucarionte/31
 Evolución biológica/38, 40
 Excitabilidad/47
 Excreción/49
- F**
- FAD/337, 338, 351
 Fago/56, 166, 181, 193, 329
 Farmacología/13, 19, 57
 Fenilalanina/93, 95, 100, 104, 190, 203, 216, 274, 275, 278
 Denilbutazona/238
 Fenómeno/8, 25, 27, 44, 136, 137, 138, 139, 149, 180, 182, 213, 264, 265, 271, 291, 302, 307, 312, 320, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 353
 Fenómenos/10, 22, 27, 31, 32, 245, 247, 313, 353
 Fermentación/5, 6
 Fermentos/5
 Ferredoxina/203
 Ferritina/201
 FH₄/342, 344

- Fibrinógeno/141, 215
 Fischer, Emil/5, 6, 18
 Flavinas/337
 Flavinnucleótidos/201
 Flavoproteínas/201, 338
 Formas cíclicas de los monosacáridos/109
 bote/112, 113
 silla/112, 113
 Formas de presentación delADN/181
 Fosfatidilcolina/229, 230, 240
 Fosfatidilcolinas/230, 231
 Fosfatidiletanolaminas/229
 Fosfatidilgliceroles/229, 231
 Fosfatidilinositoles/229, 230, 231
 Fosfatidilserinas/229
 Fosfátidos de glicerina/77, 221, 222, 226, 229, 230, 231, 232, 239, 240, 327, 350
 clasificación/229
 estructura/229
 funciones/231
 Fosfato de piridoxamina/346
 Fosfoglicéridos/125, 221
 Fosfolípidos/230, 232, 314, 322, 327, 330
 Fosfoproteínas/201, 309
 Fosforilación oxidativa/6, 322
 Fosforilación-desfosforilación/8, 308, 319
 Fósforo/29, 33, 59, 61, 64, 221, 232, 241
 Fotosíntesis/10, 45, 49, 247
 Fox, S./33, 36, 38, 39
 Fructosa/107, 108, 109, 110, 112, 118, 312, 316, 317, 318
 Fucosidosis/154
 Fuerzas de Van der Waals/69, 101, 135, 208, 209, 218, 269, 281
 Función de estado/251, 263
 Funciones de los ácidos nucleicos/165
 Furano/72, 110
- G**
- Galactosa/86, 108, 109, 114, 118, 152, 159, 162, 232, 280, 315, 316
 Galactosamina/114
 Galactósido/152
 Gangliósidos/154, 232, 233
 Gay Lussac, Joseph/5
 GDP/123
 Generación espontánea/31, 40
 Gibbs, Josiah Willard/203, 248, 249
 Gliceraldehído/30, 78, 81, 84, 94, 95, 106, 114, 250, 260
 Glicerídios/221, 227
 Glicerina/4, 5, 77, 221, 222, 226, 229, 230, 231, 232, 239, 240, 327, 350
 Glicerol/73, 226, 227, 228, 229, 231, 239, 270
 Glicina/33, 90, 93, 94, 100, 101, 104, 132, 203, 207, 208, 217, 235, 310, 338, 340, 346
 Glicoescingolípidos/154, 232, 233, 240
 Glicoformina/154
 Glicolípidos/117, 151, 232
 Glicoproteínas/117, 138, 149, 151, 154, 162, 163, 201, 315, 350
 Glicosaminoglicanas/132, 151, 152, 158, 161, 162
 Glicosaminoglicanos/163
 Glucagón/9, 55, 133, 199
 Glúcidos/10, 30, 44, 49, 57, 105, 117, 151, 156, 201, 232, 240, 346, 350, 351
 Glucógeno/8, 15, 39, 46, 50, 125, 132, 147, 151, 152, 155, 156, 157, 162, 163, 201, 247, 308, 310, 312, 314, 323, 329, 347
 Glucoquinasa/270, 271, 314
 Glucosa/5, 11, 12, 15, 39, 81, 85, 86, 87, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 114, 117, 118, 125, 132, 147, 152, 153, 155, 156, 157, 162, 232, 246, 247, 248, 252, 253, 254, 270, 271, 290, 312, 315, 316, 322, 327, 328, 330
 Glucósido/152, 153
 Glucosilamina/114
 Glutamato deshidrogenasa/141
 Glutamato mutasa/348
 Glutámico deshidrogenasa/202, 323
 Glutamina/93, 94, 100, 203, 310, 311, 316
 Glutatión/199, 201, /339, 340, 351
 GMP/123
 GMPc/8, 122
 Gonadotropina coriónica/154
 Grado de desorden/248, 249
 Gramicidina S/199
 Gránulos de glucógeno/46, 50, 329
 Grupo acetilo/345
 Grupo acilo/345
 Grupo amino/74, 75, 76, 77, 84, 89, , 95, 97, 98, 101, 102, 103, 115, 121, 157, 197, 198, 226
 Grupo carboxilo/73, 74, 77, 90, 92, 95, 97, 98, 99, 101, 102, 104, 113, 158, 197, 198, 222, 226, 235, 274, 275, 339, 341, 342
 Grupo fenólico/96
 Grupo guanidino/95, 96, 99
 Grupo hemo/43, 208, 340
 Grupo hidroxilo/72, 106, 109, 185, 234, 310
 Grupo metilo/344
 Grupo sulfidrilo/74, 84, 9 6

Grupo tiazol/341, 342, 345
Grupos/8, 15, 23, 24, 30, 61, 65, 66, 68, 69, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 81, 84, 85, 90, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 103, 104, 109, 112, 113, 114, 117, 119, 120, 122, 123, 124, 125, 126, 130, 131, 135, 137, 138, 145, 156, 158, 161, 170, 171, 173, 175, 176, 185, 188, 191, 195, 198, 201, 202, 204, 205, 212, 213, 214, 215, 217, 218, 221, 224, 226, 231, 234, 235, 237, 240, 246, 269, 268, 269, 270, 271, 273, 274, 277, 278, 279, 281, 282, 291, 292, 296, 307, 308, 309, 311, 322, 325, 331, 333, 334, 335, 337, 338, 339, 340, 342, 343, 344, 345, 347, 348, 349, 350, 351, 352, 353

Grupos sanguíneos/15
GTP/9, 123, 350
Guanina/33, 35, 116, 121, 123, 125, 170, 172, 174, 192, 194
Guanosín difosfato/123
Guanosín monofosfato/123
Guanosín trifosfato/123, 350
Guanosina/123

H

Haldane, J. B. S./32
Halogenación/227
Hallett, Henry/15, 267
Haworth, Walter Norman/110, 1, 11, 1, 13
Hemiacetal interno/75, 85, 109, 110, 117
Hemiacetales/75, 84, 110
Hemo/43, 201, 208, 212, 214, 340
Hemoglobina/7, 12, 42, 43, 200, 212, 214, 215, 219, 267, 307, 340
Hemoproteínas/201, 340
Henseleit, Kurt/6
Heparina/158, 160, 162
HETE/239
Heterociclos/71, 84, 90, 123, 124, 178
Heterodisacáridos/152
Heteropolisacáridos/155, 158, 162, 241
Heterotrópico/302
HETES/239
Hexoquinasa/290, 312, 323, 330
Hialoplasma/49
Hibridomas/8
Hidrocarburos/69, 70, 71, 83, 84
Hidrofóbicas/178, 194, 200, 205, 208, 209, 210, 213, 218
Hidrogenación/227, 262
Hidrolasas/154, 277, 279, 281
Hidrólisis/246, 252, 253, 254, 260, 266,

274, 275, 276, 277, 310, 311, 313, 314, 316, 327, 347
Hidroxilo anomérico/111, 114, 115, 116, 121, 152
Hidroxiprolina/90, 92, 103, 104, 132, 217
Hierro/32, 201, 340
Hipoxantina/123, 125
Histidina/93, 94, 95, 98, 99, 100, 101, 104, 203, 269, 274, 276, 282, 310
Hoja plegada/101, 206, 207
Homocisteína/344, 348
Homodisacáridos/152
Homopolisacáridos/117, 152, 155, 163, 241
Homotrópico/302, 303
Hormonas/8, 9, 11, 16, 17, 54, 55, 89, 90, 114, 154, 162, 199, 222, 236, 239, 240, 313, 315
HPETE/239

I

Imidazol/36, 92, 95, 96, 99, 100, 269, 340
Inclusiones citoplasmáticas/46, 49, 5 0
Indol/91, 9 4
Inducción/199, 300
Información conformacional/137
Información genética/7, 10, 13, 16, 19, 35, 117, 119, 125, 165, 166, 167, 173, 178, 187, 192, 195, 197
Ingeniería genética/8, 9, 10, 11, 13, 19
Inhibición/16, 24, 238, 293, 295, 310, 313, 316
Inhibidores/13, 125, 144, 193, 244, 272, 284, 288, 293, 294, 295, 296, 297, 299, 303, 304, 306, 309, 310, 313, 314
Iniciador (*primer*)/335
Inmunoglobulinas//10, 13, 201, 211
Inmunología/7, 8, 9, 10, 11, 19, 21, 43, 57
Inosín difosfato/123
Inosín monofosfato/123
Inosín trifosfato/123
Inosina/123
Inositofosfátidos/229, 230
Interacciones/10, 23, 24, 35, 61, 68, 69, 74, 101, 102, 103, 124, 129, 133, 135, 136, 137, 148, 160, 162, 167, 173, 178, 187, 188, 190, 191, 192, 194, 195, 200, 205, 210, 212, 213, 214, 218, 265, 266, 267, 269, 270, 273, 274, 281, 300, 302, 305, 314, 323, 327, 328, 329
débiles/68, 135, 136, 161, 178, 193, 198, 204, 208, 211, 213, 214,

- 218, 269, 270, 273
electrostáticas/69
hidrofóbicas/68, 124, 274
salinas/124, 135
- Intermediarios/30, 90, 117, 227, 228, 252, 253, 267, 307, 312, 319, 322, 324, 325, 328, 329, 330, 331, 335
- Iones inorgánicos/31, 43, 57, 64, 266, 292, 333, 334, 351
- Irritabilidad/47, 49
- Isoenzimas/244, 300, 308, 317, 318, 319, 322
- Isoleucina/86, 93, 94, 100, 203, 216
- Isomaltosa/152, 153, 162
- Isomerasas/277, 280, 281
- Isomería/78, 79, 84, 86, 103, 123, 229
de cadena/78
de función/78
de posición/78
espacial/79
estructural/78, 84
geométrica/79, 103
óptica/79, 84, 229
- Isómeros ópticos/79, 80, 81, 84, 8 7
- K**
- Katchalsky, A./37
- Ke/258, 259, 263, 264, 337
- Keilin, David/6
- Kendrew, John/7
- Ki/62, 294, 296
- Km/285, 286, 287, 288, 293, 294, 295, 297, 316, 327
- Km*/294
- Knoop, Franz/6
- Kohl, Adolf/5
- Koshland, Daniel Jr/304
- Krebs/6, 8, 16
- Krebs, Hans/6
- L**
- Lactamas/123
- Lactato deshidrogenasa/141, 277, 317, 319
- Lactosa/152, 153, 162, 315, 316
- Lavoiser, Antoine/4
- Lecitinas/229, 230, 231
- Leder, Philip/7
- Leucina/81, 86, 93, 94, 95, 100, 203, 205, 330
- Leucotrienos/222, 231, 237, 239, 240
- Levógiro/81
- Ley de acción de masas/254, 255
- Leyes de la genética/5, 41
- Liasas/277, 279, 281
- Liebig, Justus/4, 5, 6
- Ligandos/89, 137, 213, 302, 303, 306, 319
- Ligasas/277, 280, 281
- Lineweaver y Burk/288
- Lipasas/334
- Lípidos/10, 12, 30, 31, 38, 44, 49, 57, 60, 64, 76, 77, 90, 117, 118, 138, 151, 154, 200, 201, 219, 221, 222, 223, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 235, 239, 240, 241, 322, 355
- clasificación/221
- concepto/221
- estructura/221
- función biológica/222
- isoprenoides/222, 233, 240
- no saponificables/239, 240
- saponificables/239
- Lipmann, Fritz/6, 16
- Lipoproteínas/8, 138, 149, 160, 201
- Lisina/38, 93, 94, 95, 98, 99, 100, 104, 203, 269, 274, 276, 314, 330, 339, 340, 341
- Lisosomas/46, 50, 154, 322
- Lisozima/158, 209, 215
- Llave griega/209, 210
- LTA₄/239
- LTB₄/239
- LTC₄/239
- LTD₄/239
- LTE₄/239
- M**
- Macromolécula/124, 130, 131, 133, 134, 135, 136, 137, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 147, 148, 149
- caracterización/147
- electroforesis/100, 144, 145, 146, 147, 148
- Macromoléculas/6, 7, 11, 23, 24, 29, 34, 35, 38, 44, 59, 60, 64, 68, 89, 117, 119, 124, 125, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 163, 165, 167, 173, 175, 183, 194, 195, 197, 219, 221, 241, 243, 247, 312, 335
- carácter informacional/136
- cromatografía/144, 145, 146
- métodos de estudio/142
- propiedades generales/139
- relación estructura-función/138
- sitio de reconocimiento/137, 147
- tendencia a la agregación/137
- ultracentrifugación/144, 145, 147, 148, 184

- Maltosa/39, 152, 153, 162
 Manganeso/201
 Manosa/86, 108, 109, 118, 154
 Manosidosis/154
 Materia viva/1, 3, 5, 22, 27, 28, 29, 30, 31, 33, 38, 40, 43, 44, 45, 47, 56, 57, 58, 59, 61, 64, 83, 222, 241
 composición/3, 4, 9, 28
 origen y evolución/30
 Material genético/11, 16, 42, 45, 46, 47, 49, 56, 166, 167, 193, 194, 195, 196, 322
 Matriz mitocondrial/322
 Matthei, Heinrich/7
 Mecanismo/137, 147, 148, 162, 167, 173, 177, 201, 219
 básico de acción de las enzimas/267
 de acción de la quimotripsina/274, 276
 de acción de las enzimas/6
 de adaptación inducida/282
 de orden azaroso/289
 llave-cerradura/270
 ordenado/289
ping-pong/288, 290, 291, 347
 Mediadores químicos/56
 Membrana plasmática/45, 46, 49, 50, 52, 140, 154, 158, 314, 327
 Membranas celulares/51, 144, 200, 231, 322, 339
 Mendel, Gregor/5, 41
 Menten, Maud/285
 Metaloproteínas/201
 Metionina/93, 94, 95, 100, 203, 216, 344, 348, 351
 Método de estudio de las macromoléculas/ 142
 criterios de pureza/145
 obtención/143
 separación/144
 Meyerhof, Otto/6, 14
 Microesferas/38
 Microtúbulos/50, 138, 201
 Michaelis, Leonor/285
 Milstein, César/8, 17
 Miller, Stanley I./33, 35
 Mioglobina/7, 42, 43, 141, 200, 208, 209, 212, 219
 Mioinositol/114, 230
 Miosina/201, 314
 Mitchell, Peter/6
 Mitocondrias/46, 50, 140, 322
 Modelo/7, 9, 10, 47, 135, 147, 167, 169, 171, 173, 174, 176, 177, 189, 194, 195, 208, 219, 224, 230, 232, 235
 concertado/305
 de Watson y Crick/10, 171, 173, 177, 194
 secuencial/304, 305, 320
 simétrico/302, 304, 305
 Modelos estructurales terciarios/209
 Modificación/185, 191, 192, 203
 alóstérica/300, 319
 covalente/300, 301, 307, 308, 310, 311, 312, 313, 319, 320, 324
 por acetilación-desacetilación/308
 por adenilación-desadenilación/308, 310, 319
 por fosforilación-desfosforilación/308
 por sulfihidrilo-disulfuro/308
 Mol/68, 130, 135, 248, 250, 251, 252, 253, 259, 264, 266, 355
 Moléculas biogénicas/34, 40
 Molibdeno/201
 Monoacilgliceroles/227, 240
 Monod, Jacques/16, 302
 Monosacáridos/29, 30, 31, 33, 34, 39, 59, 60, 64, 72, 73, 75, 76, 77, 105, 106, 107, 108, 109, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 129, 151, 152, 153, 155, 156, 158, 160, 162, 232, 241, 350
 ácidos/113, 117
 clasificación/105
 concepto/105
 derivados/105, 112, 117, 118
 simples//105, 106, 108, 115, 117, 118
 Motivo de la silla/209
 Motivos supersecundarios/210
 Movimiento caótico/259
 Movimiento de la materia/28, 43, 57
- N**
- N-acetil-galactosamina/158
 N-acetil-glucosamina/132, 158, 315, 316
 NAD⁺/289, 312, 317, 335, 337, 338, 351
 NADH/201, 289, 335
 NADP⁺/335, 336, 337
 Neuberg, Carl/6
 Neurotransmisores/56
 Nexus/54
 Nicotinamida/335, 336
 Níquel/201
 Nitrógeno/29, 32, 39, 44, 59, 61, 64, 66, 67, 68, 70, 72, 75, 116, 121, 124, 204, 205, 206, 207, 221, 231, 241, 310, 311
 Nivel básico de organización/322
 Nivel energético/260, 261
 Niveles estructurales de las macromoléculas/ 7, 1 31
 cuaternario/134

- primario/131
 secundario/133
 terciario/134
 Nomenclatura de las enzimas/244, 276
 Northrop, J./323
 Núcleo/31, 45, 46, 49, 50, 56, 65, 67, 71, 140, 142, 161, 162, 183, 192, 193, 208, 210, 211, 212, 213, 322, 341
 Nucléolo/322
 Nucléolos/49
 Nucleoplasma/49, 322
 Nucleósido/123, 124
 Nucleósidos/30, 76, 116, 122, 123, 277, 278, 293, 349, 351
 Nucleótido/77, 119, 123, 168, 169, 185, 192
 Nucleótido de adenina/37, 336, 345
 Nucleótidos/29, 30, 31, 34, 35, 36, 37, 42, 59, 60, 64, 76, 77, 116, 117, 118, 119, 120, 122, 123, 124, 125, 126, 129, 138, 147, 165, 169, 170, 180, 181, 185, 186, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 195, 201, 210, 241
 carácter hidrofilico/122
 cílicos/122
 clasificación/120
 concepto/119
 funciones/125
 propiedades eléctricas/123
 propiedades fisicoquímicas/122
 tautomería/123
 Número atómico/27, 65, 66
 Número de recambio/285, 287, 297, 312
- O**
- O₂/227, 259
 Ochoa, Severo/7, 16
 Oligopéptidos/197, 199, 209
 bradiquinina/199
 corticotropina/199
 encefalina/199
 glucagón/199
 glutatión/199
 gramicidina S/199
 hormona liberadora/199
 oxitocina/199
 peptidoglicanas/199
 Oligosacáridos/30, 76, 105, 113, 115, 117, 118, 151, 152, 154, 162, 163, 232, 315
 Oncogenes/9, 18
 Oparin, Alexander Ivanovich/32, 38, 39, 44, 57
 Orbitales/66, 67, 68, 69, 70, 85, 102, 103, 178
 Orden de reacción/255, 256
 orden cero/255, 256, 286
 primer orden/255, 256, 285, 287
 segundo orden/255, 256
 Organelos celulares/31
 Organismos/1, 4, 5, 7, 10, 11, 13, 16, 22, 23, 24, 27, 28, 29, 33, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 49, 50, 51, 55, 56, 57, 58, 61, 82, 114, 117, 130, 136, 140, 166, 168, 181, 183, 196, 241, 245, 247, 252, 263, 265, 266, 318, 353
 pluricelulares/1, 11, 13, 45, 46, 49, 50, 51, 55, 56, 58, 353
 unicelulares/40, 43, 45, 56, 58
 Organización de las enzimas/321, 324, 331
 Orgel, L./36
 Ovoalbúmina/215
 Oxalacetato/341, 345
 Oxidación/6, 16, 73, 74, 112, 117, 227, 239, 247, 253, 260, 262, 322, 330, 335, 337, 338, 339, 340, 349, 350, 351
 Oxidasas/278, 338
 Oxidorreductasas/277, 334
 Oxígeno/4, 5, 14, 29, 32, 33, 38, 39, 40, 42, 43, 44, 59, 61, 64, 66, 67, 68, 70, 72, 102, 110, 113, 124, 170, 187, 204, 205, 207, 209, 214, 215, 217, 221, 228, 237, 241, 267, 277, 278, 307
 Oxitocina/199
- P**
- PAL/346, 347
 PAN/346, 347
 Parámetros cinéticos/287, 288, 295
 Pasteur, Louis/5, 31
 Paulin, Linus/7, 272
 Pepsina/6, 215, 281, 292
 Peptidos/30, 36, 77, 89, 90, 93, 95, 101, 102, 103, 104, 158, 197, 198, 199, 200, 218, 309
 Perutz, Max/7
 Peso molecular/29, 64, 83, 100, 104, 119, 128, 129, 139, 140, 141, 144, 147, 148, 149, 155, 156, 181, 186, 193, 194, 197, 200, 241, 243, 248, 266, 306, 330, 333, 353
 PG₁/238
 PGA/238
 PGE₂/238
 PGF_{2α}/238
 PGG₂/239

- PGH₂/239
 PGI₂/238
 pH/62, 63, 64, 83, 90, 93, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 103, 104, 123, 144, 145, 146, 158, 167, 180, 198, 199, 205, 213, 215, 216, 250, 266, 273, 274, 276, 281, 282, 284, 291, 292, 296, 297, 299, 314, 336, 337
 Pirano/72, 110
 Piridín nucleótidos/335, 336, 337
 Piridoxal/345, 346, 351
 Piridoxamina/346
 Piridoxina/345, 346
 Piridoxol/346
 Pirimidina/124, 189, 329, 341
 Pirofosfato de tiamina/341, 342, 351
 Piruvato deshidrogenasa/309, 324
 Pirúvico quinasa/201, 318
 pK/63, 83, 96, 97, 99, 100, 101, 103, 222, 226
 Plantilla/335
 Plasmalógenos/76, 229, 231
 Plásmido/181, 194, 195
 Polarímetro/79, 80, 81, 107
 Polialcoholes/114, 117
 Polihidroxiacetales/112
 Polihidroxicetonas/112
 Polímero/129, 130, 131, 132, 134, 141, 155, 156, 167, 174, 178, 202, 208
 Polímeros/6, 23, 29, 36, 37, 38, 59, 64, 129, 132, 151, 155, 158, 162, 197, 200, 241, 313, 319, 356
 Polipéptidos/197, 198, 199, 212, 219
 Polisacáridos/29, 30, 31, 59, 64, 76, 105, 113, 115, 117, 118, 128, 129, 130, 132, 133, 138, 145, 151, 155, 158, 161, 162, 163, 209, 241
 Porfirinas/340, 347, 351
 PPT/342
 Precursos/23, 30, 31, 33, 36, 37, 38, 59, 89, 90, 93, 105, 116, 117, 118, 119, 125, 129, 130, 131, 132, 133, 136, 137, 147, 148, 158, 167, 231, 239, 241, 274, 313, 319, 335, 349
 Primeras estructuras vivas/38
 Principio de la termodinámica/247, 248
 Principios de la Bioquímica
 acoplamiento/23
 cambios graduales/23
 interrelación/23
 máxima economía/23
 máxima eficiencia/23
 multiplicidad de utilización/23
 organización de las macromoléculas/23
 recambio continuo/23
 reciprocidad de las transformaciones/23
 transferencia de información/24
 Procesos metabólicos/5, 13, 23, 24, 109, 115, 254, 320, 355
 Progesterona/234, 236
 Prolina/90, 92, 93, 94, 95, 100, 101, 103, 132, 203, 205, 207, 208, 217
 Propiedad extensiva/248
 Propiedades cinéticas/266, 317, 318, 319, 329
 Propiedades eléctricas de los aminoácidos/95, 104
 Propiedades espectroscópicas/335
 Propiedades físicas de los ácidos grasos/226
 Propiedades físicas de los aminoácidos/94
 Propiedades fisicoquímicas de las proteínas/214
 Propiedades generales de las macromoléculas/139
 diálisis/139
 difracción de rayos X/142
 difusión/139
 hidrólisis/141
 sedimentación/140
 visualización/141
 Propiedades ópticas de los aminoácidos/94
 Propiedades químicas de los ácidos grasos/226
 Prostaciclinas/231, 237
 Prostaglandinas/13, 17, 55, 222, 231, 237, 238, 239, 240
 Prostanoides/237
 Proteína
 estructura cuaternaria/212
 organización tridimensional/203
 quinasa/308, 309, 310, 313, 314, 316, 317, 329
 transportadora de acilos/345
 Proteínas/4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 17, 18, 28, 29, 30, 31, 34, 35, 37, 38, 42, 43, 44, 47, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 57, 59, 64, 68, 69, 74, 77, 82, 84, 89, 90, 93, 95, 101, 102, 103, 104, 124, 128, 129, 130, 131, 133, 134, 135, 138, 141, 142, 145, 147, 151, 154, 155, 161, 162, 165, 166, 173, 175, 178, 179, 182, 183, 184, 188, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 200, 201, 202, 203, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 218, 219, 241, 243, 262, 264, 265, 266, 268, 273, 274, 281, 284, 306, 307, 308, 309, 311, 312, 314, 315, 317, 319, 322, 324, 325, 327, 328, 329, 330, 331, 337, 350, 351, 352, 355, 356

- alostéricas/213, 218
 clasificación/200, 201
 poco solubles/200
 por su composición química/200
 por su forma/200
 por su función/200
 por su solubilidad/200
 componente estructural específico/202
 conjugadas/154, 201
 desnaturalización/213
 dinámica del plegamiento/210
 electroforesis/215
 estructura cuaternaria/212
 estructura primaria/200
 estructura secundaria/204
 estructura supersecundaria/135
 estructura terciaria/208
 información secuencial/202
 organización tridimensional/218
 poco solubles/200
 propiedades fisicoquímicas/214
 reconocimiento molecular/213, 218
 relación estructura-función/213
 Proteólisis/154, 162, 276, 300, 313, 319, 330
 Prótidos/30
 Protoplasma/47, 48, 49, 56, 58
 PTA/345
 Puente iónico/334
 Puentes de hidrógeno/61, 68, 103, 124, 135, 156, 157, 172, 173, 175, 178, 180, 187, 191, 194, 195, 196, 204, 205, 206, 207, 208, 213, 218, 269, 271, 281
 Puentes disulfuro/103, 209, 214, 217, 218, 311
 Punto isoeléctrico de los aminoácidos/99
 Purina/189
- Q**
- Queratinas/216
 Quimotripsina/166, 209, 244, 266, 274, 275, 276, 281, 331
 Quimotripsinógeno/274, 275
 Quinasas/138, 278, 285, 290, 308, 309, 313, 314, 316, 320, 334
 Quitina/132, 151, 155, 157
- R**
- Racemización de aminoácidos/346
 Reacción/62, 83, 101, 102, 114, 115, 116, 117, 129, 131, 185, 228, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 266, 267, 268, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 283, 284, 285, 286, 287, 289, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 302, 303, 304, 305, 307, 311, 312, 313, 315, 316, 317, 319, 321, 323, 324, 325, 329, 331, 333, 334, 335, 336, 337, 338, 339, 342, 344, 345, 347, 349, 350, 351, 352
 de la ninhidrina/102
 directa/257, 260, 262, 263
 endotérmica/248, 249
 inversa/24, 257, 260, 262, 284, 311
 química/35, 245, 246, 247, 248, 254, 257, 261, 263
 Reacciones/64, 74, 75, 101, 102, 109, 116, 117, 118, 124, 125, 141, 227, 228, 238
 biológicas/250
 catalizadas/244, 267, 270, 272, 276, 283, 291, 292, 293, 299, 321, 337
 con dos sustratos/271, 288, 347
 de oxidación-reducción/253, 335, 337, 338, 339, 351
 endergónicas/125
 enzimáticas/124, 244, 267, 272, 273, 288, 292, 296, 299, 345, 348, 351, 352
 exergónicas/262
 químicas/5, 22, 23, 27, 28, 43, 101, 243, 244, 245, 246, 248, 251, 259, 261, 263, 265, 266, 281, 283, 306, 321, 322, 331
 químicas de los aminoácidos/101
 Receptor de insulina/154, 201
 Receptores hepáticos/154
 Reconocimiento molecular/10, 137, 147, 148, 149, 213, 218, 233, 265, 266, 303
 Regla del octeto/65
 Reglas de Chargaff/167, 169, 173
 Regulación/101, 122, 148, 175, 177, 222, 229, 239
 alostérica/302, 313, 324
 enzimática/244, 299, 300, 301, 319
 Relación base-pentosa/169
 Relación estructura-función/128, 138, 163, 197, 213
 Represión/300
 Reproducción/25, 49, 50, 51, 56, 167
 Reserva ácida/63, 64, 83
 Reserva alcalina/63, 64, 83
 Resonancia/18, 67, 68, 71, 102, 103, 147, 267
 Reticulo endoplasmático/31, 46, 49, 50
 liso/46, 49

rugoso/46, 49, 50
Reversibilidad/257
Riboflavina/337, 338
Ribonucleasa/ 141, 166, 183, 202, 209, 214, 215
Ribonucleótido reductasa/201, 316
Ribosa/33, 36, 114, 116, 117, 119, 121, 122, 126, 185, 188, 191, 195, 196, 270
Ribotimidina/185, 190
Rutas metabólicas/6, 43, 306, 307, 329, 333

S

Sacárido/105
Sacarosa/82, 84, 144, 152, 153, 157, 162, 330
Saccharum/105
SAH/344
Salinas/208, 215, 218
SAM/344, 350
Sanger, Frederick/7
Scheele, Karle/4
Schleiden, Mathias Jacok/5
Schwann, Theodor/5
Secreción/11, 48, 49, 50, 52, 154, 166, 195, 238
Sentido de la reacción/251
Señales/330
Señales metabólicas/313
Series estéricas D y L/81
Serina/90, 93, 94, 95, 100, 101, 104, 199, 203, 205, 208, 229, 231, 240, 267, 269, 274, 275, 276, 308, 313, 316, 346
Sialidosis/154
Simetría molecular/305
Síntesis/5, 6, 8, 11, 13, 16, 17, 25, 30, 33, 35, 37, 47, 48, 49, 90, 125, 126, 137, 138, 147, 154, 165, 166, 173, 182, 188, 191, 192, 193, 195, 229, 231, 234, 238, 245, 247, 300, 310, 312, 315, 322, 325, 327, 328, 329, 330, 335, 350
Sintetasa de ácidos grasos/325, 330, 345
Sintetasas/280, 281, 345
Sistemas/64, 82, 84, 108, 138, 214, 243, 244, 248, 265, 266, 299, 300, 301, 307, 308, 318, 323, 325, 327, 330, 344, 352
biocatalíticos/243, 244, 265, 266
dispersos/82, 84
disoluciones coloidales/82
disoluciones verdaderas/82
dispersiones groseras/82

membranosos/325
multienzimáticos/327
Sitio catalítico/268, 270
Sitio de reconocimiento/137, 147, 268, 270, 289

Somatotropina/215
Spallanzani, Lázaro/4
Succinato deshidrogenasa/294, 295, 338
Sulfamidas/296

Sulfato de condroitina/158, 159, 161, 162
Sulfato de dermatán/158, 160, 161, 162
Sulfato de heparán/158, 160, 161, 162
Sulfato de queratán/158, 159, 160, 161, 162
Sulfidrilo/72, 74, 84, 94, 95, 96, 100

Sulfolípidos/232
Sumner, James/6
Sustancia P/199
Sustancias nucleotídicas/30
Sustratos/24, 124, 266, 267, 268, 270, 271, 272, 273, 277, 278, 281, 288, 289, 290, 296, 297, 299, 303, 337, 347

T

Tampón/63
Telomerasa/201
Temin, Howard/7
Teobromina/121
Teoría celular/5
Teoría de la evolución/5, 41, 42, 43, 44, 57
Teorías evolucionistas/40
Termodinámica química/245
Terpenos/221, 222, 233, 234, 239, 240
Tetrahidrofolato/343, 351
Tiamina/341, 342, 351
Tiazol/72, 340, 341, 342
Tiempo de incubación/284
Tierra primitiva/10, 30, 32, 33
Timidina/123, 185
Timina/35, 116, 121, 122, 123, 125, 172, 174, 185, 194, 195
Tioésteres/77, 84, 313, 344
Tipos de ácidos nucleicos/119, 121
Tipos de ARN/35, 185, 188, 195
Tirosina//90, 93, 94, 95, 100, 101, 104, 203, 269, 274, 275, 308, 310
Topografía de las enzimas/330
Topoisomerasas/179
Topoisómeros/179, 194
Transaminación/274, 346, 347, 351
Transaminasas/12, 279, 285, 291
Transcarboxilación/341, 351
Transcriptasa inversa/7
Transferasas/277, 278, 279, 281

- Transformaciones químicas/3, 4, 245
Transportadores/49, 125, 307, 312, 325, 326, 327, 331, 334, 335, 351
Trealosa/152, 153
Treonina/93, 94, 100, 203, 205, 208, 269, 274, 308
Triacilgliceroles/222, 227, 228, 229, 240
Trifosfato de inositol/230, 231
Triple hélice/217
Tripsina/6, 166, 266, 274, 276, 281, 292
Tripsinógeno/274, 275
Triptófano/90, 93, 94, 95, 100, 203, 267, 274, 275, 310
Trombina/160, 201
Tromboxanos/222, 231, 237, 239, 240
Tubulina/201
 TXA_2 /238, 239
 TXB^2 /239
- U**
- UDP/123, 125, 315, 337, 350
Ultracentrifugación de las macromoléculas/6, 11
UMP/123, 311
Uracilo/33, 35, 37, 116, 121, 123, 125, 185, 195
Ureasa/6, 201, 215, 288, 323
Uridín difosfato/123
Uridín monofosfato/123, 311, 329
Uridín trifosfato/123
Uridina/123, 189, 192, 350
UTP/123, 350
- V**
- Valores de pK/100, 222
Variación/10, 41, 42, 1 18, 1 19, 167, 168, 232, 249, 252, 254, 258, 259, 261, 263, 283, 284, 294, 300, 301, 313, 306, 319
Variaciones de energía/252, 260
Velocidad/36, 98, 125, 139, 140, 141, 144, 148, 244, 246, 247, 249, 251, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 271, 272, 273, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 307, 310, 313, 319, 352
de descomposición/286
de formación/286, 307
de la reacción/36, 246, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 272, 273, 283, 284, 285, 287, 292, 293, 294, 296, 297, 300, 303, 304, 305, 319
de las reacciones/244, 255, 261, 264, 271, 272, 283, 292, 293, 296, 299, 300, 301, 302, 319, 352
inicial/283, 284, 287, 288
máxima/286, 287, 293, 294, 295
Virus/1, 16, 17, 18, 19, 45, 47, 56, 58, 125, 158, 166, 167, 181, 193, 194, 195
Vitalismo/5
Vitamina A/222
Vitamina B/₃₄₁
Vitamina B₁₂/347, 351
Vitamina B₆/345, 346
Vitamina C/15
Vitamina K/15
Vitaminas D/235
Vitaminas K/222
Vm/285, 286, 287, 288, 293, 294, 295, 296, 297, 316
Vm*/296
- W**
- Watson, James/7, 16, 166, 167, 171, 173, 174, 176, 177, 190, 191, 194
Wohler, Fiedrich/5
- Z**
- Zimógenos/274, 313, 330
Zn/28, 292, 334

Bioquímica Médica

Tomo I

Biomoléculas

Bioquímica médica ha sido elaborada para responder a los intereses de las distintas especialidades de las ciencias médicas y otras, con el propósito de contribuir a mejorar la comprensión de la disciplina Bioquímica y destacar su importancia en la formación de profesionales.

Compuesta por cuatro tomos: *Biomoléculas*, *Componentes celulares y genética molecular*, *Metabolismo intermedio y su regulación*, y *Bioquímica especializada*, inicia al lector en la ciencia bioquímica, sus orígenes, desarrollo y perspectivas.

Concluye con el aporte de la bioquímica en la comprensión de procesos y enfermedades como el envejecimiento, la morfogénesis, la formación de anticuerpos, el origen de la vida, la evolución molecular y el cáncer.

Esta obra ha sido utilizada en la carrera de Medicina y otras especialidades de las Ciencias Médicas de las Universidades Médicas de Cuba, Venezuela y Angola; en la residencia de Bioquímica Clínica, Laboratorio Clínico y Genética Médica, en Cuba, y en la Maestría de Bioquímica Clínica, en Bolivia.

En esta segunda edición se articulan la información actualizada de esta ciencia con los adelantos obtenidos en todas las ciencias, tanto biológicas como médicas, todo lo cual constituye una obra de obligada consulta para los interesados en la materia.

Lidia Cardellá Rosales. Doctora en Ciencias Biológicas.
Especialista de II Grado en Bioquímica Clínica.
Rolando Hernández Fernández. Especialista de II Grado
en Bioquímica Clínica. El resto del colectivo de autores
se destaca por su gran prestigio científico y acumula años
de experiencia en la docencia y la investigación.

ISBN 978-959-212-874-3



9 789592 128743