

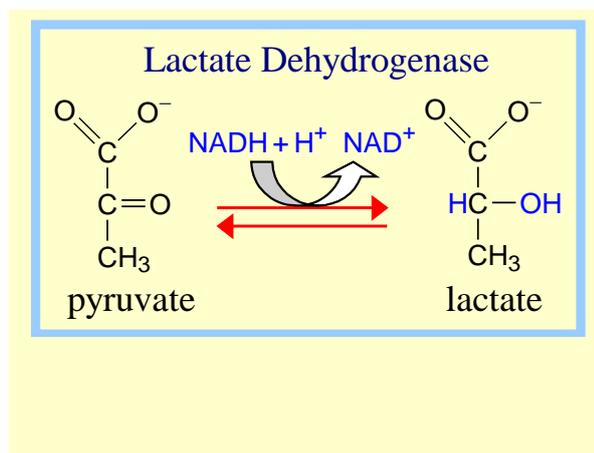
Tema 25: Destinos metabólicos del piruvato

Fermentación

Para la continuación de la degradación de glucosa, el NAD^+ (en cantidades limitadas en la célula) consumido en la glucólisis debe ser reciclado. En presencia de oxígeno, el NADH pasa a la mitocondria para ser nuevamente oxidado. En condiciones anaeróbicas, el NAD^+ se recupera por reducción del piruvato, en lo que constituye una extensión de la vía glucolítica. Los procesos fermentativos permiten recuperar el NAD^+ . La fermentación homoláctica y la fermentación alcohólica son dos ejemplos que tienen lugar en el músculo y en la levadura, respectivamente.

A. Fermentación homoláctica

En el músculo, especialmente durante el ejercicio intenso, cuando la demanda de ATP es elevada y se ha consumido el oxígeno, la lactato deshidrogenasa (LDH) cataliza la oxidación del NADH por el piruvato para dar lactato. Los mamíferos poseen hasta 5 isoenzimas de la LDH (todas ellas tetraméricas) algunas de ellas están más adaptadas para la reacción directa y otras para la inversa, dependiendo de factores estructurales referentes a las distintas estructuras terciarias que puede presentar la enzima.



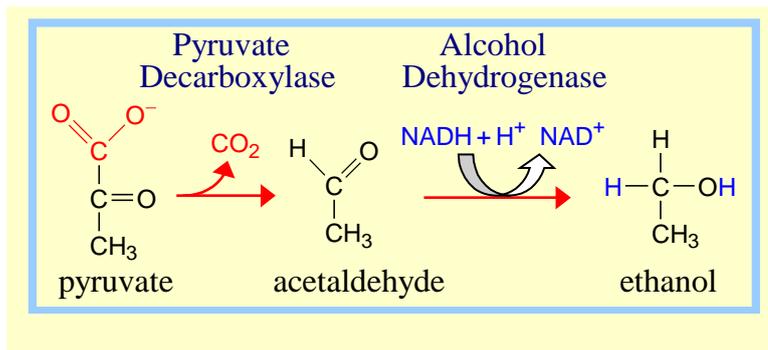
La reacción global de la degradación anaeróbica de glucosa mediante la fermentación láctica puede esquematizarse como sigue:



La mayor parte del lactato, producto final de la glucólisis anaeróbica, es exportado de las células musculares por la sangre hasta el hígado, donde vuelve a convertirse en glucosa. Al contrario de lo que se cree, la causa de la fatiga muscular y el dolor no es la acumulación de lactato en el músculo, sino del ácido producido durante la glucólisis (los músculos pueden mantener su carga de trabajo en presencia de concentraciones elevadas de lactato si el pH permanece constante). Los cazadores saben del sabor agrio de la carne de un animal que ha corrido hasta agotarse antes de morir. Esto es debido a la acumulación de ácido láctico en los músculos.

B. Fermentación alcohólica

En levadura, el NAD^+ se regenera en condiciones anaeróbicas mediante un proceso de gran importancia para la humanidad: la conversión de piruvato a etanol y dióxido de carbono. El etanol es el componente activo de vinos y licores, y el CO_2 producido en la panificación es el responsable de la “subida” del pan.



El etanol se produce a través de las siguientes reacciones; la primera es la descarboxilación del piruvato para formar acetaldehído y dióxido de carbono, catalizada por la piruvato descarboxilasa (ausente en animales) y que contiene el coenzima pirofosfato de tiamina (TPP) como grupo prostético.

La tiamina, vitamina B₁, es esencial al no ser sintetizada ni almacenada en cantidades significativas por la mayoría de vertebrados, por lo que debe ser tomada en la dieta. Su deficiencia produce importantes disfunciones, al intervenir el TPP en multitud de procesos de descarboxilación. Una consecuencia de su falta en el hombre es la enfermedad del *beriberi*, que puede resultar mortal y se caracteriza por alteraciones neurológicas, parálisis, atrofia muscular y/o paro cardíaco.

El acetaldehído formado por descarboxilación del piruvato es reducido a etanol por el NADH, en una reacción catalizada por la alcohol deshidrogenasa (ADH). La

transferencia del H del NADH al acetaldehído está favorecida por un cofactor de Zn^{2+} , que estabiliza la carga negativa de un intermediario que se forma en el proceso. El sentido de esta reacción varía con las concentraciones relativas de acetaldehído y etanol. Así, la ADH del hígado de mamíferos metaboliza los alcoholes producidos anaeróbicamente por la flora intestinal, así como los que provienen de fuentes externas.

En ambos tipos de fermentación el fin último es el mismo: regenerar NAD^+ para poder continuar la glucólisis. La diferencia son los productos metabólicos generados en función de las condiciones que se den.

3. Transformación del piruvato en Acetil-CoA

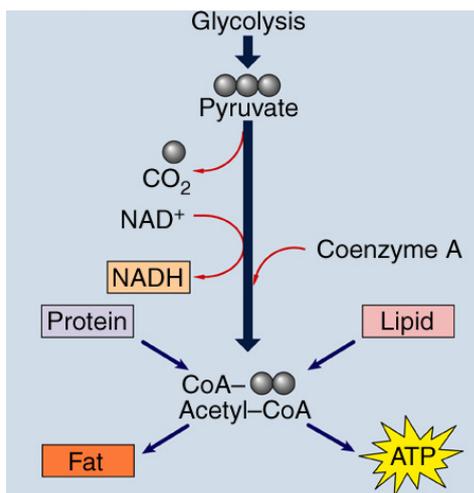
Los grupos acetilo entran en el ciclo en forma de acetil-CoA. Es este el producto común de la degradación de carbohidratos, ácidos grasos y aminoácidos. El grupo acetilo está unido al grupo sulfhidrilo del CoA por un enlace tioéster. Es interesante tener en cuenta que la hidrólisis del enlace tioéster del acetil-CoA libera 31,5 kJ/mol y es, por lo tanto, un enlace rico en energía.

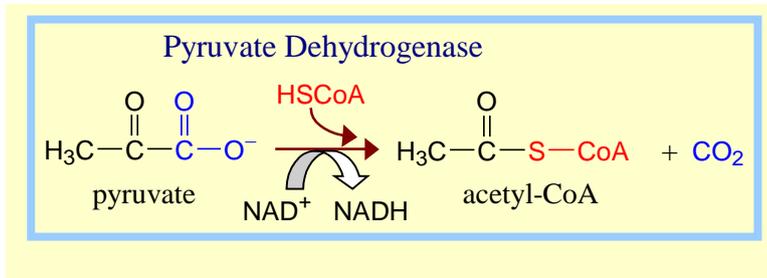
El acetil-CoA se forma por descarboxilación oxidativa del piruvato, por la acción del complejo enzimático piruvato deshidrogenasa (Figura 3). Este proceso, constituye, además, un punto de regulación previo al ciclo de Krebs. De hecho, el complejo multienzimático presenta dos tipos de regulación.

La piruvato deshidrogenasa está regulada por dos mecanismos superpuestos. Por una parte está alostericamente inhibida cuando las proporciones de ATP/ADP y NADH/NAD⁺ son altas, además la enzima se inhibe cuando la disponibilidad de combustible para el ciclo, en forma de Acetil-CoA o ácidos grasos, es alta. Y se activa cuando las demandas energéticas crecen y por tanto el flujo de Acetil-CoA aumenta.

Figura 3.

Conversión de piruvato





Por otra parte esta regulada por un mecanismo de modificación covalente. La piruvato deshidrogenasa fosforilada es inactiva, mientras que la enzima defosforilada es activa. La interconversión entre las formas fosforilada y defosforilada está catalizada por las enzimas piruvato deshidrogenasa quinasa y la piruvato deshidrogenasa fosfatasa. La quinasa es activada por ATP (cuando la concentración de ATP es alta, mientras que la piruvato deshidrogenasa se inactiva por fosforilación) (Figura 4).

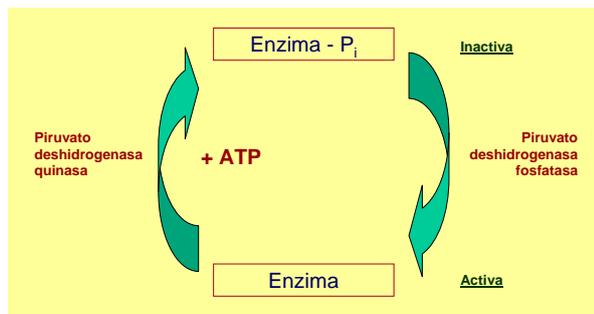


Figura 4.

Regulación de la piruvato deshidrogenasa.

Oxidación del piruvato. El complejo piruvato deshidrogenasa

La transformación del piruvato en acetil-CoA se lleva a cabo mediante un complejo multienzimático que descarboxila al piruvato dando origen a una molécula de NADH, así como a un compuesto rico en energía, es decir, el acetil-CoA (figura 13.1).

El primer paso consiste en la descarboxilación del piruvato catalizada por la actividad descarboxilasa de la primera de las tres enzimas que constituyen el complejo multienzimático. Esta enzima utiliza tiamina pirofosfato (TPP) que capta el producto de la descarboxilación denominado *acetaldehído activo*. Sin embargo, este compuesto no se libera aún del complejo, sino que se transfiere a una molécula de ácido lipoico que está unida a la dihidrolipoil-transacetilasa, segunda enzima del complejo. En dicha transferencia, el acetaldehído activo se convierte en un resto acetílico que es transferido por la propia enzima a una molécula de coenzima A para generar acetil-CoA. Por último, una tercera enzima, la dihidrolipoil-deshidrogenasa cataliza la conversión del ácido dihidrolipoico en su forma original de ácido lipoico asegurándose la continuidad del proceso. La dihidrolipoildeshidrogenasa posee un FAD como aceptor de hidrógenos, que se transforma en FADH₂. Por último, los equivalentes de reducción son transferidos a un NAD⁺, generándose un NADH por cada molécula de piruvato convertida en acetil-CoA. En este sentido, aunque la descarboxilación del piruvato está muy favorecida por la carga residual negativa del carbonilo adyacente, el complejo piruvato deshidrogenasa consigue aprovechar eficientemente la energía liberada en la descarboxilación produciendo NADH y acetil-CoA.

Como se verá más tarde, la velocidad del ciclo tricarboxílico depende en gran parte de la cantidad de acetil-CoA suministrado, constituyendo la piruvato deshidrogenasa la puerta de entrada de los carbonos al ciclo tricarboxílico. Este hecho confiere al complejo un importantísimo papel en el metabolismo intermediario, por lo que es lógico que esté sometido un control muy sofisticado. En efecto, la actividad de la piruvato deshidrogenasa se regula mediante fosforilación/desfosforilación de tal manera que la forma fosforilada de la enzima es inactiva (figura 13.2). La fosforilación se lleva a cabo mediante ATP en una reacción catalizada por la piruvato deshidrogenasa quinasa enzima que se activa cuando las razones acetil-CoA/CoA, ATP/ADP y NADH/NAD⁺ son muy altas. Esto conduce a la inactivación de la enzima en circunstancias en que el aumento de la concentración de acetil-CoA, ATP o NADH indican la existencia de un exceso de energía. Por el contrario, el aumento de la concentración de calcio libre intramitocondrial inhibe la piruvato deshidrogenasa quinasa, a la vez que activa la piruvato deshidrogenasa fosfatasa, enzima que cataliza la desfosforilación del complejo. Por consiguiente, el aumento de calcio libre intramitocondrial conduce a la activación de la enzima, lo que constituye una de las piezas claves para la regulación del ciclo tricarboxílico. El complejo piruvato deshidrogenasa tiene una localización exclusivamente intramitocondrial dando comienzo a los procesos oxidativos mitocondriales que en su conjunto, constituyen una maquinaria oxidativa perfecta, diseñada para obtener el mayor rendimiento energético de la oxidación de los sustratos.

