

EL METABOLISMO ANAEROBICO DE INVERTEBRADOS CONDICIONADO POR EL HABITAT Y LA FUNCION CORPORAL

Por: Hermann J. Droste (1)

INTRODUCCION

El siguiente es un resumen de publicaciones científicas que han sido hechas en los Estados Unidos en las Universidades de British Columbia y California, en Holanda en la Universidad de Utrecht y en Alemania Federal por las Universidades de Bonn y MUnster.

1. EL METABOLISMO AEROBICO

Para entender bien la dimensión total del metabolismo anaeróbico, hay que recordar primero el metabolismo aeróbico. Este trata de la degradación de compuestos orgánicos como por ejemplo: glucosa y/o grasa por las vías metabólicas de la glucólisis, la β -oxidación del ciclo de ácido tricarboxílico y la cadena de citocromos (Fig.1). Las sustancias originales, la glucosa y los triglicéridos, son descompuestos a H_2O y CO_2 . Al mismo tiempo se forma una cantidad de energía grande en forma de ATP: por mol de glucosa producidos 38 ATP y por mol de triglicérido, que contiene glicerol y 3 ácidos palmíticos, son formados 412 ATP. Este rendimiento de energía es sólo posible cuando funciona la cadena de citocromos. A través de ella se oxidan las coenzimas reducidas $NADH + H^+$ y FAD_{red} con la ayuda de compuestos redox como por ejemplo citocromo c. La energía que se libera en ese proceso es almacenada en el organismo en forma de ATP.

2. EL DESARROLLO DEL METABOLISMO DURANTE LA EVOLUCION

La forma metabólica mencionada en base al suministro de oxígeno del exterior y la oxidación de las sustancias orgánicas en el interior del cuerpo, se consideraba como normal hace unos años. Hoy con el conocimiento que se tiene sobre la evolución molecular de la vida, se ha reco-

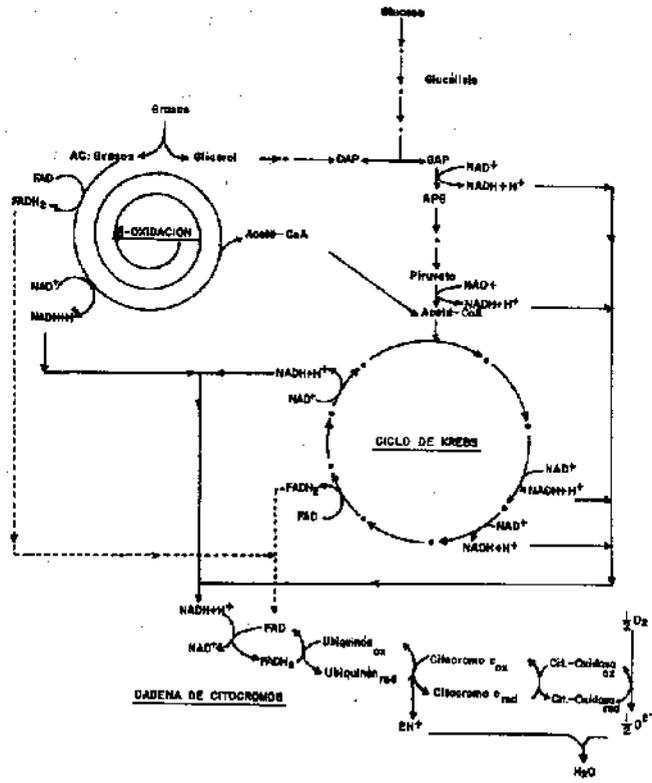


Figura 1. Metabolismo Aeróbico en general.

nocido que el metabolismo aeróbico se desarrolló muy probablemente a partir del anaeróbico. Por lo tanto, en la actualidad se considera al metabolismo aeróbico como una vía metabólica entre varias.

(1) Profesor, Depto de Biología Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia S.A.

El origen de la vida ocurrió en ausencia del oxígeno. La formación de sustancias orgánicas en la atmósfera pasó bajo condiciones aneróbicas. Si se hubiera presentado al principio oxígeno libre, parece casi seguro, que el destino de las sustancias orgánicas presentes habría sido la degradación por combustión. Puesto que no había oxígeno, se acumulaban cantidades grandes de varias sustancias orgánicas, que facilitaban reacciones entre sí mismas. Todas estas reacciones eran del tipo fermentativo. En dichos procesos tiene lugar una oxidación anaeróbica (o sea una extracción de hidrógeno) de las sustancias nutrientes. Esto significa, que la energía necesaria para las funciones vitales es liberada por reacciones de tipo redox. En la transferencia de hidrógeno o electrones desde una sustancia orgánica con afinidad electrónica pequeña a otra con afinidad electrónica mayor, se libera energía que el organismo puede utilizar para la síntesis de otros compuestos químicos. Sin embargo, cuando la energía no es necesaria para la síntesis de otros metabolitos, se pierde en forma de calor. Por lo tanto, la característica de almacenar la energía liberada en forma de energía biológicamente utilizable, fue muy importante para la evolución bioquímica. Es muy probable que los primeros compuestos que almacenaban energía eran ATP y Coenzima A.

Con el tiempo, la atmósfera que estaba en un estado reducido, cambió en un estado oxidado por el O₂ proveniente de la fotosíntesis de las plantas. Por lo tanto, el fundamento metabólico anaeróbico se complementaba por reacciones debidas a la participación directa del oxígeno, las cuales necesitaban la cadena respiratoria, que se encuentra siempre al final de la degradación de sustancias orgánicas, y cuya finalidad es la de producir mucha energía en forma de ATP.

Los fenómenos mencionados aclaran que el rendimiento energético de la fermentación es muy pequeño, ya que como producto final siempre aparece una molécula orgánica como ácido láctico, piruvato o cualquier otra, la cual en sí todavía es rica en energía.

Por eso no es extraño que hoy día una gran parte de los organismos que viven en una atmósfera rica de oxígeno, dependen completamente del metabolismo aeróbico. Son pues los organismos aeróbicos obligados.

RESULTADOS DE LOS TRABAJOS CIENTIFICOS

1. ESTRATEGIAS DE LA ADAPTACION A CONDICIONES ANAEROBICAS

No todos los animales, ni todos los órganos de un individuo necesitan oxígeno en la misma proporción. Los animales se dividen en dos grupos:

- Los organismos anaeróbicos obligados y
- Los organismos anaeróbicos facultativos.

Los organismos anaeróbicos obligados sobreviven solo bajo condiciones de total carencia de oxígeno. Cuando están en

contacto con oxígeno, se mueren. El metabolismo de estos animales es muy variable y la producción de energía depende solamente de la fermentación.

Por otra parte, los organismos anaeróbicos facultativos han desarrollado diversas formas de adaptación por el suministro de diferentes concentraciones de oxígeno. Ellos sobreviven tanto bajo condiciones aeróbicas como anaeróbicas. Pero la producción de energía es diferente y por consiguiente también lo es el metabolismo. Hoy se conocen dos vías diferentes de la adaptación:

- a. La estrategia de la compensación y
- b. La estrategia del aprovechamiento.

a) LA ESTRATEGIA DE LA COMPENSACION

Algunos organismos equilibran su escasez de oxígeno produciendo anaeróbicamente grandes cantidades de ATP. Pero, después de un cierto tiempo, tienen que volver a producir energía aeróbicamente. Este fenómeno se llama "anaerobiosis condicionada por función".

Entre los organismos que efectúan este metabolismo, están: *Loligo vulgaris*, *Chlamys opercularis* y *Cardium tuberculatus*.

Metabolismo del *Loligo vulgaris*:

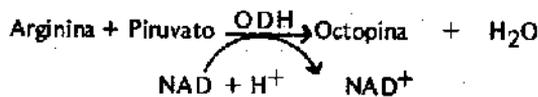
El calamar *Loligo* nada muy lentamente. Pero, cuando está huyendo o cuando captura una presa, nada muy rápidamente, debido a que aumenta las contracciones musculares. Pero después de 20 contracciones se agota completamente y vuelve a nadar lentamente.

En estos calamares, el producto final de la fermentación no es el ácido láctico como se acumula en los vertebrados durante la glucólisis. La sustancia que se ha encontrado, es la "octopina".

La octopina se produce cuando el piruvato proveniente de la glucólisis se une con la arginina, la cual procede del argininafosfato que se encuentra almacenado en el músculo. En estos calamares no existe deshidrogenasa láctica, y por lo tanto, para evitar la acumulación del piruvato, éste tiene que reaccionar con la arginina para producir octopina. La arginina como se dijo antes, procede del argininafosfato, la cual cuando el músculo necesita ATP, se defosforila, produciendo arginina y ATP de acuerdo a la siguiente reacción:



Como puede observarse, la síntesis de octopina por la deshidrogenasa octopínica (ODH) es necesario para evitar que se acumule piruvato y arginina lo que traería consigo un aumento de la presión osmótica y por otro lado, sin la síntesis de octopina no existiría NAD⁺ necesario para la glucólisis, la cual no se realizaría.



Con la reacción anterior el organismo soluciona ambos problemas (Fig. 2).

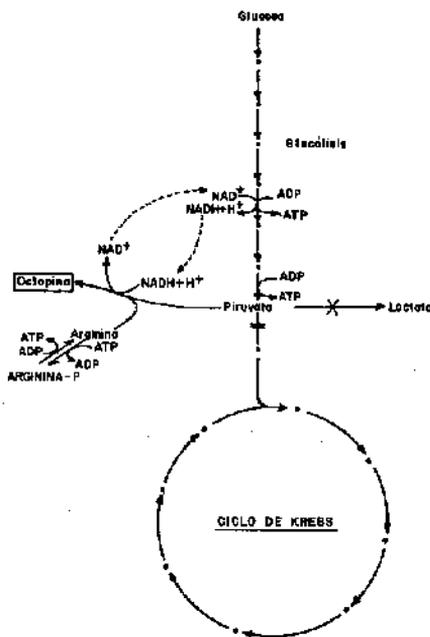


Figura 2.
La síntesis de octopina en el metabolismo muscular del *Loligo*.

El músculo rápidamente se relaja durante el reposo con suministro de O_2 .

La reacción es la siguiente:



La arginina es sintetizada a arginina-P; el piruvato entra en el ciclo de Krebs donde es degradado a H_2O , CO_2 y $\text{NADH} + \text{H}^+$. El $\text{NADH} + \text{H}^+$ entra en la cadena de citocromos, con lo que se produce ATP, el cual es utilizado para la síntesis de arginina-P.

Sin embargo, en un descanso sin suministro de O_2 permanece una pequeña cantidad de arginina-P, mientras que la cantidad de octopina sigue aumentando. Esto significa que sólo aeróbicamente es posible producir tanta energía, para que esa vuelva al músculo a sintetizar arginina-P.

El *Chlamys opercularis* efectúa el mismo metabolismo del *Loligo*.

El *Cardium tuberculatum* muestra un mecanismo metabólico muy semejante al *Chlamys opercularis*, pero con una diferencia evidente: durante condiciones de anoxia que duran mucho tiempo, produce una cantidad grande de ácido láctico. Durante la glucólisis se produce piruvato y éste puede sintetizar tanto lactato como octopina.

b) LA ESTRATEGIA DEL APROVECHAMIENTO

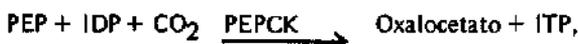
Para determinar la estrategia del aprovechamiento se realizaron los siguientes métodos:

- reacciones características de diferentes sustancias intermedias.
- determinaciones de la actividad de distintas enzimas y la marcación radioactiva.
- Y se obtuvieron los siguientes resultados:
 - que existe una actividad alta de las enzimas participando en la glucólisis,
 - que existe y funciona el ciclo de Krebs,
 - que falta la enzima LDH,
 - que bajo condiciones aeróbicas se realiza la aerobiosis, es decir los metabolitos son degradados a CO_2 y H_2O y
 - que bajo condiciones anaeróbicas no se acumula lactato sino succinato y alanina.

Todo eso demuestra que en estado de anaerobiosis, la glucólisis se realiza hasta el compuesto orgánico fosfoenolpiruvato (PEP), que representa un punto de ramificación del metabolismo al piruvato y por otro lado al oxalacetato.

Debido a que LDH no está presente, el piruvato es degradado en alanina. En cambio, el oxalacetato es transferido a succinato, siguiendo atrás el ciclo de Krebs (Fig. 3).

Cómo lleva a cabo el organismo el punto de ramificación? Quién regula las enzimas? Es el fosfoenolpiruvatocarboxiquinasa (PEPCK), que cataliza la reacción:



y la piruvatoquinasa (PK), que cataliza la reacción



En las primeras investigaciones resultó que hay una regulación alostérica de la PK por ATP y de la PEPCK por ITP. Estos dos resultados, sin embargo, no explican, cómo podría ser regulado el cambio del metabolismo aeróbico al anaeróbico. Por eso se hicieron más investigaciones con los siguientes resultados:

- Existen distintos pH óptimos de la PK y PEPCK,
- Existe la disminución del valor del pH dentro de la célula por acumulación de ácidos orgánicos.

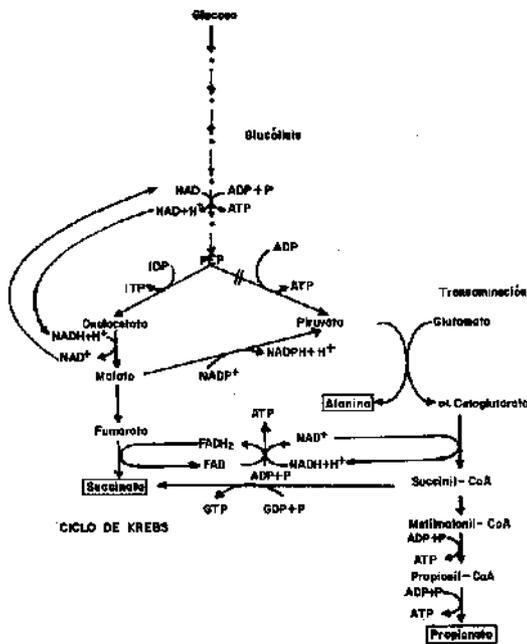
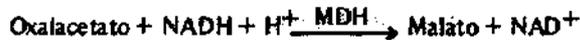


Figura 3. La producción de alanina, succinato y propionato como productos finales en los animales que realizan la estrategia del aprovechamiento.

- Existe la inhibición de la PK por alanina debido a un aumento de la K_M .
- Existe la disminución de la inhibición de la PEPCK por ITP debido a la presencia de alanina al pH bajo y
- Existe la amplificación de la inhibición de la PK al pH bajo por ATP en la presencia de alanina.

El resultado total significa, que la enzima PK es inhibida y la PEPCK es activada aumentándose la concentración de ácidos orgánicos dentro de la célula. Es decir, que a falta de O_2 aumenta el metabolismo anaeróbico acumulándose los ácidos orgánicos, ya que no son degradados a CO_2 y H_2O . Esto significa que las células forman mucho succinato, pero cierran la vía directa a la alanina por piruvato. Por qué, a pesar de esto, se producen tan grandes cantidades de alanina?

Las actividades de las enzimas deshidrogenasa málica y "enzima málica" son muy altas. De esta manera se convierte oxalacetato a piruvato por una vía indirecta:



La alanina luego es constituida por una reacción transaminica mediante la enzima Glutamato - piruvato - transaminasa y se acumula.



Los primeros resultados de los distintos trabajos ya mostraron que están presentes las enzimas del Ciclo Tricarboxílico. En consecuencia, transfiere el organismo el α -cetoglutarato, producido por la reacción transaminica, por succinil-CoA a succinato. Aquí se abre otra vía de producción de succinato. Al mismo tiempo, se cierra un ciclo. La reacción de fumarato a succinato, yendo atrás el ciclo de Krebs, gasta FAD_{red} .

En cambio, la reacción de α -cetoglutarato a succinato produce $NADH + H^+$ que tiene un potencial redox mayor y por eso, es capaz de reducir FAD_{ox} de la reacción anterior.

En base a estas reflexiones teóricas y a las mediciones de la producción de ATP se puede proponer la siguiente hipótesis que parece muy probable: El $NADH + H^+$ reduce FAD_{ox} y forma al mismo tiempo una molécula de ATP.

En total resulta un rendimiento de energía debido a los procesos de fermentación de $8ATP/\text{glu-6-P}$ (Fig. 3)

El metabolismo de *Ascaris*, *Fasciola* y *Alma*.

Este último es un anélido de los pantanos africanos.

Ellos producen propionato cuando se acumula en concentraciones grandes el succinato (Fig. 3).

Además el *Ascaris* posee la oportunidad de formar acetato a partir de piruvato por la acetil-CoA.

Las mismas reacciones químicas se llevan a cabo en el *Arenicola* que vive en la marisma del Mar Norte y aproximadamente cada 6 horas tiene que sobrevivir sin agua fresca, o mejor dicho, sin suministro de O_2 . Dicho organismo produce ácidos grasos volátiles, propionato y acetatos. Sin embargo, cuando cierta concentración de dichos metabolitos es alcanzado, cede éstos al agua para mantener el valor osmótico de las células e impedir una acidificación de las mismas. La desventaja evidente es la pérdida de metabolitos ricos en energía.

Los resultados de todas las investigaciones tratadas dan para concluir lo siguiente:

1. La estrategia fundamental de los invertebrados con anaerobiosis condicionada por habitat consta claramente de un acoplamiento entre la fosforilación sustratal y las reacciones glucolíticas.

Debido a estas reacciones acopladas el rendimiento de ATP es mucho mayor que lo que viene en la glucólisis sola. El valor es de $7ATP/\text{Glu-6-P}$ ó $8ATP/\text{Glucosa}$ al producir propionato.

2. En la anaerobiosis condicionada por función, se reconoce también una relación entre las reacciones, causadas por las enzimas ODH y GAPDH (deshidrogenasa de gliceroaldehidofosfato). En ella se produce suficiente NAD^+ para que no se acabe la glucólisis. Al contrario del primer caso, aquí la secuencia de reacción es sustancialmente más sencilla y tiene lugar en el citoplasma solamente.

Esto significa que debe haber una regulación metabólica mucho mejor y más rápida, lo que es una ventaja grande para la anaerobiosis corta, condicionada por función.

En cambio, la desventaja es el rendimiento pequeño de energía la cual es 3 moléculas de ATP por molécula de glucosa.

BIBLIOGRAFIA

- Coles, G. C. 1970. Some biochemical adaptations of the Swamp worm *Alma ornata* to low oxygen levels in tropical swamps. *Comp. Biochem. Physiol.* 34, 481-489.
- Gäde, G. 1980. Biological role of octopine formation in marine Molluscs. *Marine. Biology letters*, 1, 121-135.
- Grieshaber, M. 1978. Breakdown and formation of high-energy phosphates and octopine in the adductor muscle of the scallop, *Chlamys opercularis* (L.), during escape swimming and recovery. *J. Comp. Physiol.* 126, 269-276.
- Grieshaber, M. y Gäde, G. 1976a. "The biological role of octopine in the squid, *Loligo vulgaris* (Lamarck)". *J. Comp. Physiol.* 108, 225-232.
- Grieshaber, M. y Gäde, G. 1976b. "Die biologische Bedeutung des Octopins bei Mollusken". *Verh. Dtsch. Zool. Ges. Hamburg*, 222.
- Grieshaber, M. y Gäde, G. 1977. "Energy supply and the formation of octopine in the adductor muscle of the scallop, *Pecten jacobaeus*". *Comp. Biochem. Physiol.* 58B, 249-252.
- Hochachka, P.W. Hardine, P.H. y Fields, J.H.A. 1977. "Octopine as an endproduct of anaerobic glycolysis in the chambered Nautilus". *Science* 195, 72-74.
- Hochachka, P.W. y Somero, G.N. 1980. *Strategien biochemischer Anpassung*. Thieme Verlag Stuttgart.
- Saz, H.J. y Lescure, O.L. 1969. "The function of phosphoenolpyruvate carboxykinase and malic enzyme in the anaerobic fermentation of succinate and propionate by *Ascaris lumbricoides*". *Comp. Biochem. Physiol.* 30, 49-60.
- Saz H.J. y Vedrine, A. 1975. "The mechanism of formation of succinate and propionate by *Ascaris lumbricoides*". *J. Biol. Chem.* 234, 2001-2005.
- Schöttler, U. 1977. "The energy-yielding oxidation of NADH by fumarate in anaerobic mitochondria of *Tubifex*". *Comp. Biochem. Physiol.* 113.
- Scroff, G. y Schöttler, U. 1977. "Anaerobic reduction of fumarate by mitochondria from body muscle of *Arenicola marina*". *J. Comp. Physiol.* 113.
- Suholt, B. 1977. "Production of volatile fatty acids in the anaerobic carbohydrate metabolism of *Arenicola marina*". *Comp. Biochem. Physiol.* 113.
- Zebe, E. 1976: In vivo-Untersuchungen über den Glucoseabbau bei *Arenicola marina* (Annelida, Plichaeta). *J. Comp. Physiol.* 112, 263-272.
- Zebe, E.: 1977. "Anaerober Stoffwechsel bei wirbellosen Tieren." *Rheinisch-Westfälische Akademie der Wissenschaften, Vorträge* No. 269 Westdeutscher Verlag.
- Zebe, E.: Grieshaber, M. y Schöttler, U.: 1980. "Biotopbedingte und funktionsbedingte Anaerobiose". *Biologie in unserer Zeit* 10, 175-182.
- De Zoeten, L.W., Postma, D. y Tipker, J.: 1969. "Intermediary metabolism of liver fluke *Fasciola hepatica*, II. Biosynthesis of propionic acid". *Hoppe Seylers Z. Physiol. Chemie.* 350, 691-695.
- Zwaan, A. de 1977: "Anaerobic energy metabolism in bivalve molluscs". *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.* 15, 103-187.