



11224
Ems
7

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Medicina
División de Estudios de Postgrado
Hospital Mocoel

Curso Universitario de Especialización en
Medicina del Enfermo en Estado Crítico

ALTERACIONES BIOQUIMICAS Y ENERGETICAS
EN EL PACIENTE GRAVE

TRABAJO DE INVESTIGACION BIBLIOGRAFICA

Que presenta
DR. ALBERTO JUAN LOPEZ BASCOPE
para obtener el Grado de
ESPECIALISTA EN MEDICINA DEL ENFERMO
EN ESTADO CRITICO

Director de Tesis: DR. RAUL CHIO MAGAÑA

México, D. F.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1987



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

TEMARIO

1ª PARTE

INTRODUCCION.....	1
OBJETIVOS.....	3
MECANISMOS DE REGULACION DEL METABOLISMO EN LA MEMBRANA CELULAR.....	5
Receptores. Transmisión adrenérgica. Receptores adrenérgicos. Clasificación y distribución de los receptores adrenérgicos. Naturaleza bioquímica de los receptores. Bases moleculares de la interpretación de la información. Sistema adenil ciclasa. Sistema de la fosfodiesterasa.	
METABOLISMO DE LOS HIDRATOS DE CARBONO.....	12
Introducción. Procesos generales en el metabolismo de los glúcidos. Glucólisis. Energética de la glucólisis. Glucogénesis y Glucogenólisis. Ciclo del ácido cítrico o ciclo de Krebs. Oxidación inicial del piruvato. Reacciones del ciclo del ácido cítrico. Ciclo de la pentosa-fosfato. Mecanismos celulares de captura energética. Transporte electrónico mitocondrial. Transporte de equivalentes reductores a nivel mitocondrial. Gluconeogénesis. Vías implicadas en la gluconeogénesis. Mecanismos de regulación de la Glucemia. Producción de glucosa. Metabolismo del glucógeno. Empleo de la glucosa. Papel de la insulina.	
METABOLISMO DE LOS LIPIDOS.....	44
Introducción. Oxidación de las grasas. Oxidación de los ácidos grasos. Cetogénesis. Control de la beta-oxidación mitocondrial. Biosíntesis de los lípidos. Regulación del metabolismo de los lípidos. Movilización de los lípidos y lipólisis.	
METABOLISMO DE LAS PROTEINAS Y DE LOS AMINOACIDOS.....	53
Metabolismo de los aminoácidos de cadena ramificada. Eliminación del nitrógeno. Vías que entrañan síntesis. Excreción directa. Vía de la glutamina. Formación de la urea.	
METABOLISMO DE LAS PURINAS.....	61

2ª PARTE

ACIDOSIS LACTICA.....	63
Definición. Consideraciones generales. Metabolismo del ácido láctico.	
ALTERACIONES METABOLICAS DE LA CETOACIDOSIS DIABETICA.....	68
Alteraciones en el metabolismo de la glucosa y de los lípidos. Alteraciones hormonales de la cetoacidosis diabética.	
ACIDOSIS METABOLICA EN EL ALCOHOLICO.....	76
Consideraciones generales. Aspectos farmacológicos. Catabolismo y efectos metabólicos del alcohol. Metabolismo del etanol y balance hepático de ATP. Alteraciones funcionales y estructurales de la mitocondria. Etanol y metabolismo de la glucosa y del ácido láctico. Modificaciones en el metabolismo de los	

lípidos. Alteraciones en el metabolismo de las proteínas. Etanol y metabolismo de las purinas.

METABOLISMO CELULAR DEL CALCIO.....	86
Papel del calcio en la célula normal. Mecanismos de transporte del calcio a nivel de membrana celular y mitocondrial. Proteínas transportadoras. Función del calcio a nivel de la mitocondria.	
BIOQUIMICA DE LOS RADICALES LIBRES.....	95
Consideraciones generales. Aspectos bioquímicos. ¿Qué es un radical libre? Mecanismos de producción. Importancia del sistema enzimático xantina-oxidasa/des hidrogenasa. Papel del hierro en la formación de radicales libres.	
ALTERACIONES METABOLICAS EN LA ISQUEMIA CELULAR.....	104
Introducción. Comportamiento del calcio durante y después de la isquemia anoxia. Captura de calcio y ATP. Mecanismos de daño mitocondrial durante la isquemia. Radicales libres y lesión isquémica. Hierro y lesión tisular. Acidos grasos libres e isquemia. Alteración de los nucleótidos durante la isquemia. Eventos durante la fase reversible de la lesión isquémica. Eventos asociados con el inicio de la lesión irreversible. Muerte de la célula isquémica. Resumen de las alteraciones en la isquemia-anoxia celular.	
RESPUESTA METABOLICA A LA LESION POR SEPSIS.....	120
Introducción. Alteraciones metabólicas durante el ayuno. Consideraciones metabólicas de la sepsis. Alteraciones en el metabolismo mitocondrial. Importancia del magnesio intracelular. Caquectina. Insuficiencia metabólica celular de la sepsis. Alteraciones en el metabolismo de la glucosa. Alteraciones en el metabolismo de los lípidos. Proteólisis muscular y autocanibalismo séptico. Síndrome de la Falla Multiorgánica. Comportamiento hormonal en la sepsis. Interleucina I. Prioridad en la síntesis de proteínas hepáticas.	
CONCLUSIONES.....	145
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	147

INDICE DE FIGURAS Y TABLAS

FIGURAS :	PAGINA :
1. VIAS DE COMUNICACION CELULAR A NIVEL DE MEMBRANA	11
2. VIA GLUCOLITICA DE EMBDEN-MEYERHOF	15
3. PASOS TERMODINAMICAMENTE IRREVERSIBLES DE LA GLUCOLISIS	17
4. REGULACION DEL METABOLISMO DE SINTESIS Y DEGRADACION DEL GLUCOGENO	20
5. CICLO DEL ACIDO CITRICO	23
6. CICLO DE KREBS Y TRANSPORTE ELECTRONICO	23
7. C. DE LA PENTOSA FOSFATO Y SU RELACION CON LA VIA DE EMBDEN-MEYERHOF	25
8. TRANSPORTE ELECTRONICO Y FOSFORILACION OXIDATIVA EN LA MITOCONDRIA	29
9. POSIBLES MECANISMOS DE FOSFORILACION OXIDATIVA EN LA MITOCONDRIA	32
10. TRANSPORTADOR MALATO-ASPARTATO A NIVEL MITOCONDRIAL	34
11. VIAS PRINCIPALES DE LA GLUCONEOGENESIS HEPATICA	37
12. BETA-OXIDACION DE LOS ACIDOS GRASOS	46
13. MECANISMO SUGERIDO DE LA ACCION DE LA CARNITINA	47
14. INTERCONVERSION DE LOS CUERPOS CETONICOS	49
15. METABOLISMO DE LOS LIPIDOS PLASMATICOS	50
16. CATABOLISMO DE LOS AMINOACIDOS DE CADENA RAMIFICADA	54
17. VIAS DEL N DE LOS AA DE CADENA RAMIFICADA A NIVEL MUSCULAR	55
18. VIAS RENALES DE PRODUCCION DE NH ₃	57
19. CICLO DE LA UREA Y REACCIONES MITOCONDRIALES Y CITOPLASMATICAS	59
20. VIA DE LA DEGRADACION METABOLICA DEL ATP	61
21. VIAS DE CONFLUENCIA EN LA REACCION PIRUVATO-LACTATO	66
22. RELACION ENTRE LA GLUCOLISIS Y EL METABOLISMO LIPIDICO EN EL HIGADO	70
23. REGULACION DE LA GLUCOLISIS Y LA GLUCONEOGENESIS EN EL HIGADO	71
24. MECANISMOS DE REGULACION DE LA CETOGENESIS Y DE LA GLUCONEOGENESIS	74
25. OXIDACION DEL ETANOL EN EL HEPATOCITO Y LOS TRASTORNOS DEL METABOLISMO INTERMEDIARIO	78
26. METABOLISMO DEL ETANOL EN EL HIGADO	80
27. VIAS METABOLICAS PERIFERICAS DEL ETANOL	82
28. OXIDACION DEL ETANOL Y LOS TRASTORNOS DEL METABOLISMO LIPIDICO	83
29. GENERACION DE RADICALES LIBRES Y LIPOPEROXIDOS A NIVEL HEPATICO	84
30. MECANISMOS DE TRANSPORTE DEL CALCIO A NIVEL DE MEMBRANA	90
31. EL CALCIO ACELERA LA RESPIRACION MITOCONDRIAL	93

FIGURAS:	PAGINA:
32. VIAS UNIVALENTES PARA LA REDUCCION DE OXIGENO MOLECULAR	97
33. MECANISMOS ENZIMATICOS PARA LA DETOXIFICACION DE LOS RADICALES LIBRES	98
34. PRODUCCION Y REACTIVIDAD DE LOS RADICALES DEL O ₂ EN EL MEDIO INTERNO	99
35. MECANISMO DE PRODUCCION DE RADICALES LIBRES EN LA ISQUEMIA	101
36. GENERACION DEL OH· DURANTE LA REPERFUSION. REACCION DE HABER-WEISS	102
37. ION ADP PERFERRIL	103
38. METABOLISMO ENERGETICO EN LA CELULA	105
39. RELACION ENTRE LA DEPLECION DE ATP, INGRESO DE Ca ²⁺ Y DAÑO DE MEMBRANAS	107
40. DAÑO MITOCONDRIAL DURANTE LA ISQUEMIA Y LA REPERFUSION	109
41. CONSECUENCIAS DE LA ACIDOSIS SEVERA SOBRE LOS MECANISMOS CELULARES	110
41a. VIAS PATO-METABOLICAS DEL Ca ²⁺ Y DE LOS RADICALES LIBRES EN LA ISQUEMIA	111
42. PAPEL DEL Fe EN LA PATOGENIA DE LA LESION TISULAR POST-REANIMACION	112
43. METABOLISMO DE LOS FOSFOLIPIDOS NEURONALES DURANTE LA ISQUEMIA	113
44. CAMBIOS EN LA CONCENTRACION DE METABOLITOS DURANTE Y DESPUES DE ISQUEMIA COMPLETA TRANSITORIA	115
45. ESQUEMA DE LOS EVENTOS CELULARES EN EL CHOQUE O LA ISQUEMIA	117
46. LESION POR REOXIGENACION POSTERIOR A PARO CARDIACO	119
47. METABOLISMO EN AYUNO SIN ESTRES	123
48. VIAS METABOLICAS MITOCONDRIALES	126
49. DIAGRAMA DE PROCESOS QUE REGULAN LA CONCENTRACION DE Ca ²⁺ Y Mg	128
50. DIAGRAMA FISIOLÓGICO Y METABOLICO DE SEPTICOS Y NO-SEPTICOS CON TRAUMA	131
51. METABOLISMO EN ESTRES MODERADO A SEVERO	135
52. EFECTOS DE LA INTERLEUCINA 1	137
53. ESQUEMA DE LAS ALTERACIONES METABOLICO-HORMONALES EN EL ESTADIO B	141
54. SECUENCIA COMUN DE APARICION DE FALLAS ORGANICAS	142

TABLAS:	PAGINA:
1. BALANCE DEL ATP HEPATICO DURANTE EL METABOLISMO DEL ETANOL	80
2. RESPUESTA METABOLICA AL AYUNO Y A LA SEPSIS	122
3. EMPLEO PREFERENCIAL DE SUBSTRATOS	122
4. DIFERENCIAS METABOLICAS SEGUN EL GRADO DE ESTRES	134
5. EFECTOS METABOLICOS DE DIVERSOS MEDIADORES	138
6. CRITERIOS INICIALES Y TARDIOS DE LA FALLA MULTIORGANICA	139

INDICE DE ABREVIATURAS

AA:	AMINOACIDOS
AAdeCR:	AMINOACIDOS de CADENA RAMIFICADA
AAG:	ACIDO N-ACETIL GLUTAMICO
AcCoA:	ACETIL COENZIMA A
AcAc:	ACETOACETATO
AG:	ACIDOS GRASOS
AGL:	ACIDOS GRASOS LIBRES
ADP:	ADENOSIN DIFOSFATO
AGPI:	ACIDOS GRASOS POLIINSATURADOS
AMP:	ADENOSIN MONOFOSFATO
AMPc:	ADENOSIN MONOFOSFATO CICLICO
ATP:	ADENOSIN TRIFOSFATO
α -KG:	ALFA-CETOGLUTARATO
BOHB:	BETA-HIDROXIBUTIRATO
Ca:	CALCIO
CaM:	CALMODULINA
CoA-SH:	COENZIMA A - SULFIDRILLO
DG:	DIACILGLICEROL
e ⁻ :	ELECTRON
°F:	FIEBRE
FAD:	FLAVIN ADENIN DINUCLEOTIDO
Fe:	HIERRO
FeS:	FERROPROTEINA SULFURADA
FMN:	FLAVIN MONO NUCLEOTIDO
Fr-diPasa-I:	FRUCTOSA-2,6-diFOSFATASA
Fr-diPasa-II:	FRUCTOSA-2,6-diFOSFATASA
Fr-6-P:	FRUCTOSA-6-FOSFATO
Fr-1,6-diP:	FRUCTOSA-1,6-diFOSFATO
FTE:	FLAVOPROTEINA DE TRANSFERENCIA DE ELECTRONES
α -GT:	GAMMA GLUTAMIL TRANSPEPTIDASA
GDH:	GLUTAMATO DESHIDROGENASA
GDP:	GUANOSIN DIFOSFATO
GKA:	GLUTAMINA CETOACIDO AMINOTRANSFERASA
Gl:	GLUCOSA
GMPc:	GUANOSIN MONOFOSFATO CICLICO

G1-6-P.....GLUCOSA-6-FOSFATO
 G1-1,6-diP.....GLUCOSA-1,6-DIFOSFATO
 H.....HIDROGENO
 HMG-CoA.....HIDROXIMETIL GLUTARIL-COENZIMA A
 IDP.....INOSIN DIFOSFATO
 IPG.....INOSIN FOSFOGLICERIDO
 IP,.....TRIFOSFATO DE INOSITOL
 K.....POTASIO
 Km.....CONSTANTE DE MICHAELIS
 L.....LACTATO
 LDH.....DESHIDROGENASA LACTICA
 Mg.....MAGNESIO
 Mn.....MANGANESO
 Na.....SODIO
 O,.....OXIGENO
 P.....FOSFATO
 PC.....PIRUVATO CINASA
 PDG.....GLUTAMINASA DEPENDIENTE DE FOSFATO
 PDH.....DESHIDROGENASA PIRUVICA
 PEP.....FOSFOENOLPIRUVATO
 PEPCK.....FOSFOENOLPIRUVATO CINASA
 PFK I.....FOSFOFRUCTOCINASA I
 PFK II.....FOSFOFRUCTOCINASA II
 Pi.....FOSFATO INORGANICO
 PIP,.....FOSFATIDIL INOSITOL
 PM.....PESO MOLECULAR
 PPI.....PIROFOSFATO
 -RH.....RADICAL HIDROGENADO
 SOD.....SUPEROXIDO DISMUTASA
 TnC.....TROPONINA C
 UDFG.....URIDINDIFOSFO GLICERATO
 u.m.a.....UNIDAD DE MASA ATOMICA
 UTP.....URIDIN TRIFOSFATO

INTRODUCCION

De la evolución del conocimiento humano es en los últimos años en los que se ha dado énfasis al estudio de la estructura molecular del Ser Humano; hasta el siglo pasado la investigación de las diferentes patologías solo enfocaba los aspectos clínicos de la enfermedad, pero ya desde entonces algunos investigadores se dieron cuenta de la importancia del estudio de las lesiones propias de cada órgano en particular.

Pero es a partir de ésta centuria en la que el Conocimiento, como una necesidad imperiosa al igual que el alimento, la vivienda y la compañía, enfocó el estudio de las diversas patologías bajo la premisa de encontrar el defecto desde sus orígenes a nivel molecular, ya que es a éste nivel, inicialmente subclínico, el inicio de una determinada enfermedad, el deterioro del defecto con el tiempo y la severidad afectará la función de la célula en cuestión, el tejido, el órgano y el cuerpo en conjunto, para finalmente mostrarse como una entidad clínica definida.

Si pudiéramos detectar la enfermedad en sus fases iniciales, cuando el defecto es solo una alteración bioquímica, nuestra terapéutica resultaría más eficaz, y requiriéramos menor cantidad y variedad de fármacos para revertir el curso de la alteración.

Si estamos concientes de que la vida, nuestra existencia es el producto de la interrelación armónica en el tiempo y en el espacio de millones de átomos y moléculas, y que su adecuada sincronía representa nuestra salud y que el desorden (Entropía: algo propio de la Naturaleza, ya que todo sistema del Universo tiende al máximo desorden, osea a la máxima entropía [2ª Ley de la Termodinámica]) representa enfermedad, entonces podemos afirmar que la vida, como la concebimos en su máxima expresión en la Tierra: el Hombre, se encuentra en un precario equilibrio que se basa en la función armónica de millones de partículas y de que además termodinámicamente estamos destinados al desorden por lo tanto a la enfermedad. Por ello uno de nuestros objetivos deberá ser el de preservar nuestra especie ahora y siempre, para conseguirlo debemos tratar de mantener la maquinaria de la vida -átomos y moléculas- funcionando siempre en armonía, y para lograrlo es básico el conocimiento de nuestra estructura bioquímica, y de la interrelación molecular bio-energética de nuestros sistemas

tanto en situación normal como patológica. Ya se ha iniciado el camino del conocimiento pero la cuesta es cada vez más pendiente, el triunfo será la preservación de la vida humana.

En el pasado se creía que el mundo que nos rodea tenía una dimensión milagrosa, y que los humanos eran seres privilegiados al ocupar un lugar de honor en el Universo; hoy, cada vez menos creen en semejante mundo, la existencia se ha convertido en algo definido por los descubrimientos que se llevan a cabo en los laboratorios, pero aún así persiste el instinto a lo desconocido, y la convicción de que no todo en éste mundo puede ser previsto, controlado o definido en un tubo de ensayo.

A pesar de que en los últimos 25 años hemos aprendido más sobre el Ser Humano, la Tierra y el Cosmos que en toda la historia anterior, cuanto más se ha explorado, más misterios han sido los frutos de la investigación. Ya desde los albores de la era cristiana Séneca (Siglo I) decía: "...poca cosa sería nuestro Universo sino hubiera en él algo que cada época pueda investigar. La Naturaleza no releva sus misterios de una vez y por todas".

Con lo anterior quiero manifestar que como profesionales especializados en una rama de avanzada del conocimiento humano como lo es la Medicina Crítica, debemos de profundizar el estudio de la estructura molecular de nuestro organismo, sin descuidar otros muchos aspectos del quehacer científico médico.

Este trabajo representa un intento preliminar para lograr esos objetivos; primero se enfoca el estudio de la estructura metabólica básica, describiendo las vías y la interrelación de las reacciones energéticas entre Hidratos de Carbono, Lípidos y Proteínas, en la segunda parte del trabajo se resumen las alteraciones metabólicas en diferentes patologías que son de interés para nuestra especialidad.

Este es un resumen, parcial, de los conocimientos hasta el momento logrados por la investigación de las patologías descritas. La punta de lanza de ella se encuentra en los laboratorios, no asequible aún a nosotros, y al ser la Ciencia algo dinámico, y más en nuestra época, significa que en los próximos meses y años éste cúmulo de conocimientos aumentará, o lo que ahora lo damos por hecho solo sea parte del ovillo, o inclusive cambie por completo.

Esta investigación bibliográfica ha sido, es y será de utilidad para el desempeño de mi profesión, y espero que también lo sea para todo Médico que me honre con su lectura.

Dr. ALBERTO LOPEZ BASCOPE

OBJETIVOS

Dentro de la concepción y planificación de éste trabajo de investigación bibliográfica se han planteado ciertos objetivos que se desarrollan a continuación:

1. Estudio de las vías metabólicas, en el Ser Humano normal, de los Hidratos de Carbono, Lípidos y proteínas dando énfasis en su comportamiento clínico.

2. Comprender la interrelación de las vías metabólicas de cada grupo de nutrientes y la función armónica en conjunto de ellas en situación carente de enfermedad.

3. Revisar el comportamiento de algunos átomos e iones, en especial del Calcio, Magnesio, Oxígeno y Hierro en situación normal, así como los cambios de su función en condición patológica.

4. Estudiar el comportamiento metabólico de los substratos energéticos en diferentes patologías de interés para la Medicina Crítica, así como su expresión clínica.

5. Investigar las alteraciones moleculares que dan origen a determinadas patologías, así como el estudio de su expresión bioquímica.

6. Seguir el curso de las cascadas de las alteraciones metabólicas que ocurren a consecuencia de patologías comunes a muchos órganos. Por ejemplo la isquemia-anoxia, la respuesta al trauma, etc.

1ª PARTE

VIAS METABOLICAS EN AUSENCIA DE PATOLOGIA

"TENEMOS QUE CONOCER LOS ORIGENES SI
QUEREMOS DECIR QUE ENTENDEMOS ALGO"

Aristóteles

METABOLISMO INTERMEDIARIO EN LA CELULA NORMAL

MECANISMOS DE REGULACION DEL METABOLISMO EN LA MEMBRANA CELULAR

El estudio de los receptores ha sido el campo más fructífero dentro del área que a la Medicina de Investigación corresponde. Los organismos unicelulares, por ejemplo pueden realizar todas sus funciones necesarias para mantener su vida, ésta puede asimilar nutrientes a partir del medio, puede moverse por sí misma a su alrededor y llevar a cabo las reacciones energéticas que le proveerán de energía y así sintetizar nuevas moléculas celulares. Pero en un organismo multicelular la situación es muy diferente y más compleja. Son variadas las funciones a realizar dentro de órganos o tejidos de diferente población celular y a distancia una de otra, por ello, para coordinar todas éstas funciones deben de existir mecanismos por el cual la célula en forma individual o en grupos pueda comunicarse unas con otras.[1]

En la mayoría de organismos mayores existen dos métodos primarios de comunicación intracelular: el sistema hormonal y el sistema neuronal o de células nerviosas. En ambos sistemas el "lenguaje" entre las células es por medio de mensajeros químicos. La diferencia importante entre éstos dos sistemas es la distancia sobre las que actúan. Una neurona envía un mensaje a un sitio específico de la célula blanco: un miocito, una célula glandular o a otra neurona. Para enviar éste mensaje la neurona libera una sustancia química llamada neurotransmisor hacia la célula blanco. La comunicación entre célula y célula toma lugar en sitios específicos llamadas sinápsis. Las moléculas neurotransmisoras llegan a unirse a receptores usualmente proteínas que se encuentran sobre la superficie de la célula blanco y efectúan cambios a nivel de la membrana celular y dentro de ella.[2]

La acción hormonal es menos directa aunque existen mecanismos tales como los llamados paracrino y autocrino, en la cual la hormona actúa sobre la célula adjunta. Esta forma de comunicación es común en el sistema endócrino en el cual una glándula libera hormonas que actúan sobre células u órganos en cualquier lugar del organismo. Las células blanco están dotadas de receptores que reconocen solo las moléculas hormonales que actúan sobre ellas.[2]

Por ello existe considerable diferencia entre el sistema hormonal y la comunicación neuronal. Estas actúan a distancias cortas, en particular de una célula a otra. Esta comunicación se da en pocos milisegundos, en contraste con las hormonas liberadas por una glándula pueden afectar células u órganos vir

tualmente en cualquier lugar del organismo y ésta comunicación puede tener lugar en varias horas.

Pero, recientemente, el conocimiento del mecanismo a nivel molecular ha demostrado que existe estrecha relación entre éstos dos sistemas de intercomunicación intercelular; algunas de las moléculas empleadas como mensajeros de un sistema lo son también por la otra. Por ejemplo, la norepinefrina hormona liberada por la glándula adrenal que estimula la contracción del miocardio, dilata el árbol bronquial y aumenta el tono contráctil muscular, es también un neurotransmisor en el sistema nervioso al contraer los vasos sanguíneos y de ésta manera actuar sobre la presión arterial. Una misma clase de molécula mensajera puede transportar diferente mensaje en el sistema hormonal que el que transmite en el sistema nervioso.[3]

RECEPTORES

El receptor es el sitio de acción de un transmisor y es un sistema alojado en la membrana celular que actúa como "antena" para detectar la presencia del mensajero y activar procesos fisiológicos que regularan funciones celulares como: secreción, contracción, metabolismo y crecimiento. Se conocen receptores para todas las hormonas. ¿Pero cuántos receptores existen? La respuesta es sencilla: existen tantos receptores como neurotransmisores. Muchos de ellos ya tienen bien establecido su mecanismo de acción a nivel celular pero de otros aún se encuentra en investigación.[4]

TRANSMISION ADRENERGICA

RECEPTORES ADRENERGICOS

Debido a la gran diversidad de acciones que presenta el sistema de transmisión adrenérgica no es sorprendente la presencia de varios tipos de receptores para las catecolaminas en las células de casi todos los tejidos de los mamíferos. Estos receptores han sido clasificados y subclasificados en el transcurso de los años, inicialmente se basaron en su especificidad farmacológica con agonistas y antagonistas al actuar en varios subtipos de receptores. Más aún, éste conocimiento al momento se extiende a la comprensión de las unidades moleculares efectoras, que acopladas conjuntan varios subtipos de receptores adrenérgicos.[5]

CLASIFICACION Y DISTRIBUCION DE LOS RECEPTORES ADRENERGICOS

En 1948 Ahlquist después de estudiar sistemáticamente los efectos de la adrenalina, noradrenalina e isoproterenol sobre diferentes tejidos efectores, propuso que las diferencias de acción de éstas catecolaminas podían explicarse por la presencia de dos receptores diferentes con distinta sensibilidad para las catecolaminas, a ellos los llamó Alfa y Beta. Tiempo después el desarrollo de agonistas y antagonistas aún más selectivos ha permitido la subclasificación. Lands y cols. en 1967 clasificaron los receptores en Beta 1 y Beta 2. Y, posteriormente los receptores alfa en 1 y 2.[6]

En relación a la dopamina, precursor adrenérgico, el descubrimiento hace más de 20 años de sus efectos de vasodilatación renal llevó a una investigación intensa para establecer el mecanismo de acción, fruto de ella fué la identificación de dos receptores periféricos diferentes denominados Dopa 1 y 2, así como, el descubrimiento de otros receptores dopaminérgicos en el Sistema Nervioso Central.[5,7,8]

Los receptores Alfa 1, son los clásicamente conocidos como receptores Alfa y son responsables de la mayoría de las funciones atribuibles a los receptores alfa adrenérgicos y se localizan en la membrana celular post-sináptica y los receptores Alfa 2 fueron inicialmente identificados en la membrana presináptica de las terminaciones nerviosas sinápticas y su estimulación lleva a la inhibición de la liberación del neurotransmisor. Más recientemente se ha determinado que dichos receptores también se encuentran a nivel post-sináptico, incluyendo al músculo liso vascular, que como en el caso de los receptores Alfa 1 median la contracción.[1]

Los receptores Dopa 1 son post-sinápticos y producen vasodilatación en los vasos renales, mesentéricos, coronarios y cerebrales. Los receptores Dopa 2 se localizan en los nervios simpáticos post-ganglionares, y cuando éstos son activados se inhibe la liberación de norepinefrina a partir de la terminal nerviosa simpática.[5]

NATURALEZA BIOQUIMICA DE LOS RECEPTORES

La mayoría de los receptores localizados en la membrana plasmática se encuentran en concentraciones ínfimas, ésto es cierto principalmente en el sistema adrenérgico. Aunque la concentración y sensibilidad pueden variar considerablemente tanto positiva como negativamente dependiendo de los efectos patológicos, éstas situaciones hacen difícil y compleja la determinación de su estructura molecular.

Los receptores Beta 1 y 2 adrenérgicos son moléculas proteicas de idéntico peso molecular entre 62.000 y 64.000 u.m.a. Los receptores adrenérgicos Alfa 2 parecen tener el mismo peso molecular que los receptores Beta entre 60.000 y 64.0000 u.m.a. En contraste los receptores adrenérgicos Alfa 1 tienen un peso molecular medio de 80.000 u.m.a. Todos éstos receptores pertenecen al grupo de proteínas conjugadas del tipo de las glucoproteínas.[2] Pero aún, se conoce poco acerca de los detalles de la arquitectura molecular. Un aspecto importante es que los receptores adrenérgicos consisten de un solo péptido en contraste con los receptores de otros neurotransmisores cuya naturaleza es más compleja, como la acetilcolina que posee múltiples subunidades o el receptor de la insulina que tiene dos subunidades diferentes.[9]

BASES MOLECULARES DE LA INTERPRETACION DE LA INFORMACION

Los mecanismos efectores de los diferentes subtipos de receptores adrenérgicos emplean vías comunes para otros neurotransmisores, hormonas o drogas que se unen a otros receptores de la membrana celular.

La mayor barrera para el flujo de ésta información es la membrana celular, donde se encuentran los mecanismos de transmisión que trasladan una señal externa a otra interna mediante los llamados "segundos mensajeros".

Son dos los sistemas que intervienen en la traducción de los mensajes: El Sistema Adenil Ciclasa, que se inhibe por activación de los receptores Alfa 2, Dopa 2, Angiotensina II, opioides y acetyl colina. Por el contrario, se estimula por la activación de los receptores Dopa 1, Beta 1 y 2, Glucagon, péptido vasointestinal activo, vasopresina, FSH, LH, CRF, TSH y ACTH. El sistema Fosfo-diesterasa: que se relaciona con la activación de los receptores Alfa 1.[1]

El primero emplea como segundo mensajero al Adenin monofosfato ciclico (AMPC) y, el segundo emplea una combinación de segundos mensajeros que incluyen iones de Calcio y dos sustancias: el trifosfato de inositol (IP₃) y el diacilglicerol (DG). El origen de ambos es la propia membrana celular.

Estas vías tienen pasos comunes. El componente inicial, la molécula receptora en la superficie de la célula transmite la información a través de la membrana plasmática hacia la célula por medio de una familia de proteínas denominadas G, las que para activarse requieren de Guanosin trifosfato (GTP). En ambos sistemas ésta proteína activa una enzima "amplificadora" en la superficie interna de la célula. La enzima convierte una molécula precursora en el segundo mensajero y en ambas vías los pasos finales son similares. El segundo mensajero-

produce cambios estructurales en las proteínas intracelulares.

SISTEMA ADENIL CICLASA

El conocimiento de éste mecanismo se inició en 1958 cuando Erl Sutherland y T. Rall descubrieron el AMPc. En 1971, Martin Rodbell demostró la necesidad del GTP para la traducción del mensaje y, la secuencia en detalle fué dilucidada recientemente por Alfred Gilman.

Dos tipos de proteínas G están involucradas, una estimuladora y otra inhibidora. La primera llamada proteína G_e se encuentra en relación al receptor llamado Re. La unión de un transmisor externo a tal receptor induce un cambio conformacional en el receptor. Este cambio es transmitido a través de la membrana celular a la G_e que la hace susceptible al GTP, que se encuentra en las proximidades del lado interno de la membrana celular. La unión del GTP a G_e constituye el inicio de la reacción: fuerza en la G_e un cambio estructural tridimensional que permite activar a la Adenil Ciclasa, la cual puede así producir el AMPc. De ésta manera la información transportada por un transmisor externo se traslada a través de la membrana y, además se envía una señal interna: el segundo mensajero.[10]

La actividad del complejo G_e -GTP termina por la hidrólisis del GTP a Guanosin difosfato (GDP), y constituye el final de la reacción. La hidrólisis es catalizada por la GTPasa.

El otro tipo de proteína G en el sistema AMPc media la transmisión inhibitoria. El arribo de una señal externa al receptor designado como R_i produce un cambio conformacional en la proteína G_i (cambio dependiente de la unión con GTP), ésta proteína a su turno inhibe a la Adenil Ciclasa.[2,5]

En la vía del AMPc los pasos químicos finales están mediados por una A-cinasa la cual es una proteína-cinasa que fosforila una proteína en particular cuando es activada específicamente por el AMPc. Cada A-cinasa tiene dos partes, una unidad catalítica y una subunidad reguladora. El AMPc se une a la subunidad reguladora y libera a la unidad catalítica que posteriormente puede fosforilar libremente las proteínas celulares. Por ejemplo, la adrenalina en éstos pasos fosforila a la lipasa activándola, o también movilizandó el Calcio de los sitios de almacenamiento intracelular.(Fig:1) [1]

SISTEMA DE LA FOSFODIESTERASA

Esta vía fué inicialmente estudiada por Mabel y Lowel Hokin en 1953 y

y dilucidada por Robert Mitchell e implica el empleo de varios fosfolípidos de la membrana celular.

Al estimularse el receptor de la membrana celular activa una proteína G, con la que se encuentra acoplada, la que a su vez activa el amplificador enzimático: la fosfodiesterasa (Fosfolipasa C), enzima que cataliza al fosfatidil inositol (PIP₂), fosfolípido típico que se localiza primariamente dentro de la capa interna de la membrana plasmática, en un par de segundos mensajeros: el diacil glicerol y el trifosfato de inositol. Este último es soluble en agua y difunde hacia el citoplasma donde moviliza otro segundo mensajero, el ión Calcio, el cual puede unirse a una familia de proteínas incluyendo la Calmodulina y la Troponina C. El DG se mantiene en la membrana celular donde activa la enzima C-kinasa la cual conjuntamente con otro fosfolípido de membrana la fosfatidil serina activan otras proteínas al fosforilarlas.

Esta vía induce la activación adicional de otro sistema de amplificación que es la Guanosil Ciclasa, la cual convierte al guanosin trifosfato en otro segundo mensajero; el Guanosin monofosfato cíclico (GMPc), que a su vez activa la G-kinasa, enzima que activa otras proteínas por medio de la fosforilación. (Fig:1) [11,12,13,14]

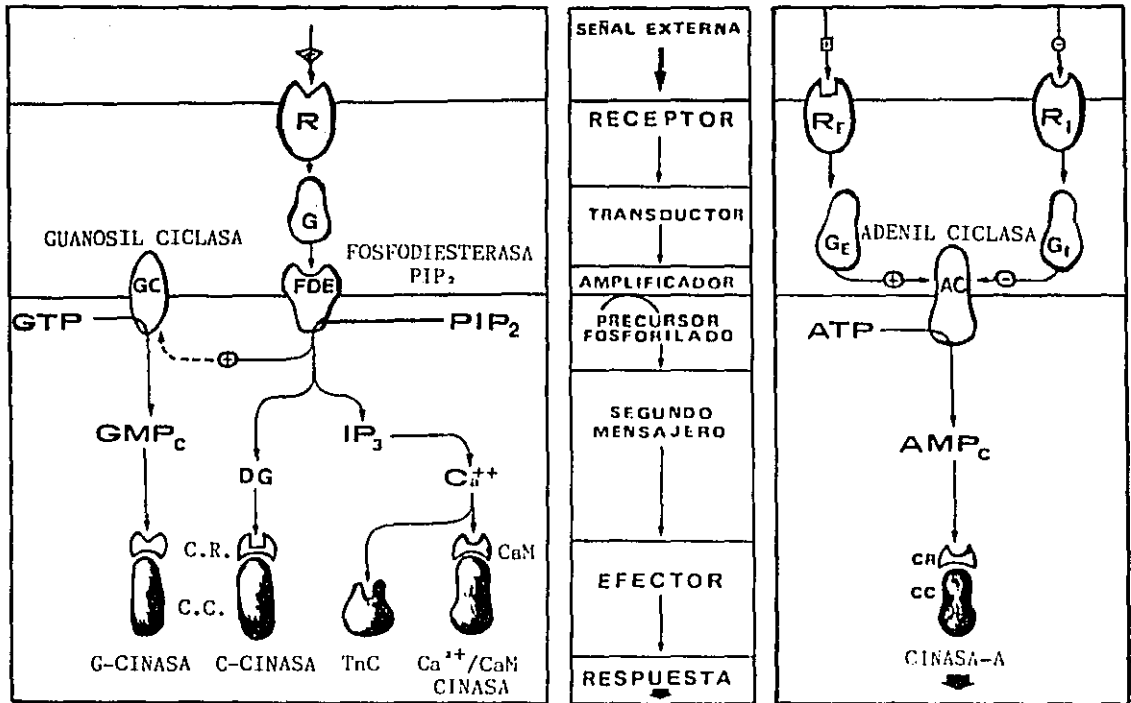


Fig: 1. VIAS DE COMUNICACION CELULAR A NIVEL DE MEMBRANA

Los mensajeros externos alcanzan las moléculas receptoras en la membrana plasmática, activan a una familia de moléculas transmisoras, las cuales transportan la señal a través de la membrana y de enzimas amplificadoras las cuales activan señales internas por medio de los "segundos mensajeros". En general, éstos se unen a componentes reguladores (C.R.) de una protein-cinasa, enzima que por medio de su componente catalítico (C.C.), activa la respuesta celular, por ejemplo la contracción muscular o la secreción, al añadir grupos fosfato a proteínas específicas. El calcio se une a una familia de proteínas, incluyendo a la calmodulina (CaM) y a la troponina C (TnC). En su turno la Calmodulina activa una protein-cinasa; la TnC estimula la contracción muscular directamente.

(de: Scientific American Vol. 253, N° 4 Oct 1985)

METABOLISMO DE LOS HIDRATOS DE CARBONO

INTRODUCCION

El metabolismo de los glúcidos en el organismo es esencialmente el de la glucosa. Es el azúcar característico de la sangre y líquidos tisulares. La digestión de alimentos ricos en glúcidos como el almidón, sacarosa y lactosa produce los monosacáridos que se encuentran en el torrente circulatorio (glucosa, fructosa y galactosa). La fructosa puede llegar a tener importancia cuantitativa si la ingestión de sacarosa es elevada. La galactosa solo es importante si la lactosa constituye el glúcido básico de la dieta. La galactosa y la fructosa son fácilmente convertidos a glucosa en el hígado; el epitelio intestinal también convierte la fructosa en glucosa.

La glucosa sanguínea cumple diversos fines. El hígado la extrae y forma, a partir de ella, glucógeno el cual al degradarse en situaciones de ayuno apoya a la mantención de los niveles normales de la glucemia. La glucosa es captada por el sistema de transporte pasivo estérico-específico en las células del músculo esquelético, del miocardio, del cerebro y, a nivel de dichos tejidos se lo emplea como metabolito energético básico. Las glándulas mamarias también extraen glucosa de la sangre, parte de ella la convierten en galactosa y la combinan con una molécula de glucosa para formar la lactosa, el azúcar de la leche. A partir de la glucosa sanguínea se forman otros azúcares o derivados que se combinan con proteínas y otras sustancias formando así componentes esenciales de los tejidos.

La glucosa es oxidada preferentemente por todos los tejidos y de ésta manera se proveen de la energía necesaria para los procesos celulares. En general, más de la mitad de la energía del organismo procede de la oxidación de la glucosa. En situación normal gran parte de los carbohidratos ingeridos se convierten en grasa y son metabolizados como tal. La importancia de éste proceso, la lipogénesis, es variable dependiendo de si la alimentación es periódica o es continua.

El metabolismo de muchos aminoácidos se realiza por vía de la glucosa y algunos de los productos de la misma son sintetizados por el organismo para la síntesis de proteínas. Por lo tanto, es evidente que la glucosa ocupa una posición central en el metabolismo de los glúcidos y además se encuentra íntimamente relacionado con el de los lípidos y de las proteínas.[15]

PROCESOS GENERALES EN EL METABOLISMO DE LOS GLUCIDOS

En el metabolismo de los hidratos de Carbono de los mamíferos se dan los siguientes procesos:

1. Glucólisis
2. Glucogénesis y glucogenólisis
3. Ciclo de Krebs o del ácido cítrico
4. Ciclo de la Pentosa-fosfato
5. Gluconeogénesis

GLUCOLISIS

La glucólisis o vía de Embden-Meyerhof comprende varias reacciones que convierten la glucosa en ácido pirúvico y/o láctico.

Todas las enzimas que intervienen en la vía de Embden-Meyerhof se encuentran en la porción soluble extramitocondrial de la célula. La secuencia de reacciones enzimáticas es la siguiente:

La glucosa ingresa a la vía glucolítica al fosforilarse en forma obligada a Gl-6-P, ésta fosforilación es catalizada por una subclase de un grupo de enzimas las: "cinasas irreversibles". En el hígado participan dos enzimas en la fosforilación de la glucosa. La primera es una "hexocinasa" que existe en el hígado del feto y del adulto; su concentración no experimenta cambio importante con el ayuno ni con la administración de glúcidos, tampoco se modifica por el estado diabético o por los niveles elevados de insulina. La enzima es inhibida por su producto la Gl-6-P, proceso de retroalimentación negativa.

La segunda enzima es la glucocinasa, fisiológicamente más lábil que la anterior. La glucocinasa existe solo en el hígado adulto y no es inhibida por la Gl-6-P. El nivel de la enzima disminuye en la diabetes y en el ayuno, y aumenta posterior a la administración de glucosa después del ayuno. La insulina provoca incremento en la síntesis de ésta enzima. Dado que el hígado no posee mecanismos de regulación respecto a la permeabilidad de la glucosa, el comienzo del metabolismo de la glucosa exógena es regulado por factores que influyen en la fosforilación de la glucosa. La glucocinasa proporciona al hígado un mecanismo de control que responde a la concentración de glucosa sanguínea, al estado nutricional y a la regulación endócrina.

Durante la conversión de la glucosa a Gl-6-P se requiere de ATP como donador de fosfato y, como en muchas reacciones de fosforilación el magnesio debe de estar presente. Se emplea un enlace macroérgico de ATP y se produce ADP como subproducto.

La Gl-6-P es un metabolito importante que se encuentra en el punto de partida de varias rutas metabólicas (glucólisis, ciclo de la Pentosa fosfato, gluconeogénesis y glucogenólisis). En la Glucólisis éste metabolito se convierte en Fr-6-P por la fosfohexosa isomerasa, posterior a un proceso de reacomodo estructural (isomería estructural). En seguida mediante otra fosforilación con ATP y magnesio y la enzima fosfofructocinasa se forma la Fr-1,6-diP.

El catabolismo de la glucosa tiene dos sitios de control importante, la fosfofructocinasa, es una de ellas. El control alostérico de ella produce grandes cambios en su actividad catalítica, la enzima consiste de seis subunidades. Su actividad es incrementada por: ADP, AMP, fosfato inorgánico (Pi), el anómero alfa de la Fr-1,6-diP, el AMPe y los iones de amonio. La actividad de la enzima es deprimida por la acidosis, ATP, fosfocreatinina y el citrato. El nivel de citrato se eleva cuando se oxidan ácidos grasos, cuerpos cetónicos o el piruvato, por ello el citrato es el control para la selección del metabolito energético a nivel de la fosfofructocinasa al disminuir la oxidación de la glucosa en presencia de fuentes energéticas alternas. Este es otro proceso de retroalimentación negativa que brinda un mecanismo autolimitante en la rapidez de la catabolia de los glúcidos. Otro mecanismo de control de la fosfofructocinasa es el de amplificación el cual se alcanza por la nivelación en las concentraciones de ATP, ADP y AMP. Las concentraciones se mantienen en equilibrio por la adenil cinasa la cual cataliza la siguiente reacción:



En equilibrio la concentración de AMP es extremadamente baja, pero una caída en el ATP de solo el 15% puede aumentar al doble la concentración de ADP o más de 5 veces la de AMP. Así, cambios leves en la concentración de ATP pueden ser amplificadas muchas veces por el incremento en el ADP y el AMP y, la célula puede aumentar efectivamente el recambio de ATP provocando solo pequeñas caídas en el contenido de ATP. [16]

La Fr-1,6-diP es desdoblada en dos moléculas de triosa por acción de la aldolasa. El producto de la reacción es una mezcla equimolar de D-gliceraldehído-3-P y P-de dihidroxiacetona. La fosfotriosa isomerasa cataliza la interconversión de las dos fosfotriasas.

La glicerofosfato deshidrogenasa reduce, con empleo de NADH al P-de dihidroxiacetona a alfa-glicerofosfato, vía que sirve de fuente de glicerol para la síntesis de lípidos.

La glucólisis prosigue por la oxidación del D-gliceraldehído-3-P a D-1,3-

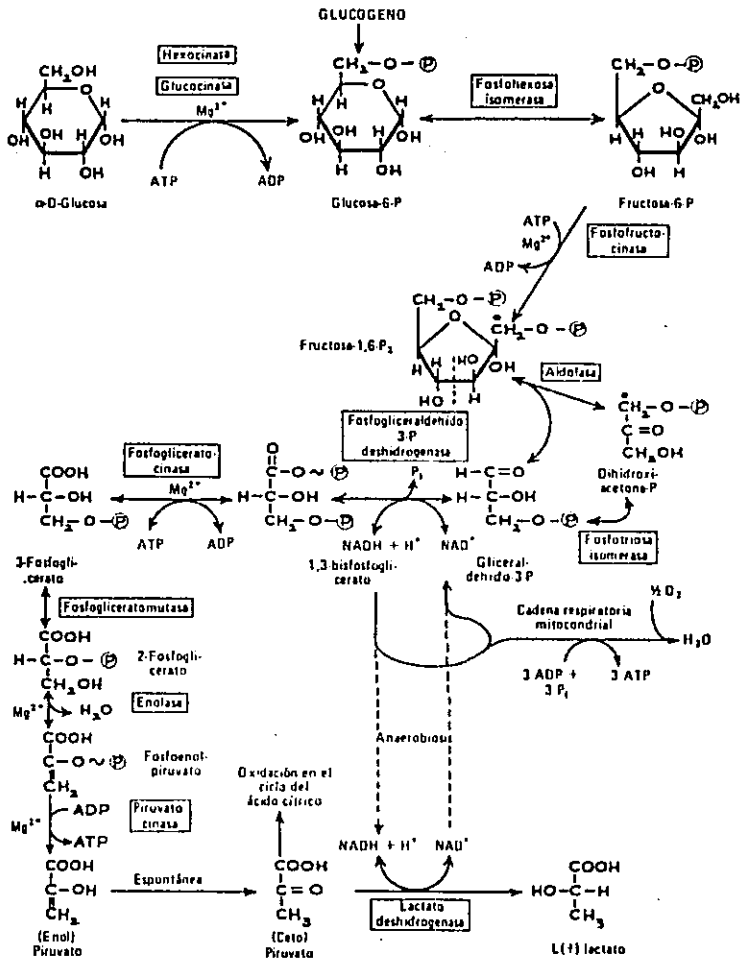


Fig: 2. VIA GLUCOLITICA DE EMBDEN MEYERHOF
(Explicación en el texto)

diP-glicerato. Primera de dos reacciones en las cuales se genera compuestos ricos en energía. Considerando que la cadena respiratoria no se emplea en situaciones anaerobias, la formación de éste enlace de fosfato se produce por "fosforilación a nivel de sustrato". La enzima responsable de éste paso es la gliceraldehído-3-P deshidrogenasa dependiente de NAD. Esta reacción es el segundo paso crítico de la glucólisis y en condiciones de hipoxia controla la velocidad de ella. Esta enzima es inhibida fuertemente por sus productos 1,3-diP-glicerato y, especialmente por la concentración de NADH.

En éste paso el hidrógeno es captado por el NAD y el fosfato se toma del medio en forma de fosfato inorgánico. La energía de oxidación retenida como fosfato macroérgico en la posición 1 del 1,3-diP-glicerato es atrapada como ATP en una reacción ulterior con ADP, catalizada por la fosfoglicerocinasa, en presencia de magnesio, formándose el 3-P-glicerato (en el músculo una cinasa puede trasladar el enlace de alta energía directamente a la creatina para formar el fosfato de creatina). A éste nivel, en los eritrocitos la vía alterna de Rapaport-Luebering forma el 2-3-diP-glicerato mediante una isomerización.[17] Considerando que cada mol de glucosa que entra a la glucólisis da lugar a dos moles de triosa fosfato, se forman dos ATP en ésta etapa oxidativa.

El 3-fosfoglicerato que proviene de las anteriores reacciones es convertido en 2-fosfoglicerato por la enzima fosfogliceromutasa. Luego el 2-fosfoglicerato experimenta una deshidratación para originar el fosfoenolpiruvato, reacción catalizada por la enolasa. Durante éste proceso existen cambios energéticos en la molécula que elevan al fosfato de la posición 2 a estado macroérgico. El fosfato macroérgico del fosfoenolpiruvato es transferido al ADP por la enzima piruvato cinasa en presencia de magnesio y potasio, generándose otros dos moles de ATP por mol de glucosa metabolizada. La insulina aumenta la velocidad de la reacción catalizada por la piruvatocinasa. El enolpiruvato que se forma en el proceso se convierte espontáneamente a la forma cetónica del piruvato. (Fig:2) En ésta etapa la vía metabólica del piruvato se bifurca y es el estado rédox de la célula la que determina la vía a seguir. En condiciones aerobias la descarboxilación del ácido pirúvico es oxidativa y la reoxidación del NADH se realiza por la transferencia del hidrógeno a través de la cadena respiratoria.

Si prevalecen las condiciones anaerobias se evita la reoxidación del NADH por la transferencia del hidrógeno a la cadena respiratoria y, en tales circunstancias el piruvato, que es el producto final de la glucólisis, es reducido por el NADH hasta lactato, la reacción es catalizada por la deshidrogenasa

de un enlace de pirofosfato en el ATP es de 7.800 calorías, 2 ATP representan 15.600 calorías, de lo que se deduce que aproximadamente se recupera un 30% de la energía libre generada.[18]

GLUCOGENESIS Y GLUCOGENOLISIS

La síntesis de glucógeno a partir de glucosa proveniente de los carbohidratos de la dieta se denomina glucogénesis, mientras que la degradación del glucógeno recibe el nombre de glucogenólisis. Corresponde a Cori y cols., Leloir y Cardini y cols. el mérito de haber esclarecido los mecanismos de degradación y síntesis de glucógeno en los tejidos. La transformación de glucosa a glucógeno ocurre prácticamente en todos los tejidos del organismo, pero principalmente es a nivel hepático y muscular. El ayuno produce depresión acelerada del glucógeno hepático pero casi no afecta al muscular.[19]

El estudio del metabolismo del glucógeno ha contribuido al entendimiento de la regulación enzimática más que cualquier otro sistema de control metabólico. Históricamente, el metabolismo del glucógeno ha sido el primer ejemplo de control de la actividad enzimática por medio de regulación alostérica (activación de la fosforilasa por AMP). Este sistema, en el cual la regulación enzimática, se establece por modificación covalente reversible (fosforilación) fué descubierta a través de la dilucidación del mecanismo del AMPc.[16]

La síntesis y degradación del glucógeno ocurre por dos vías separadas. Cada una está controlada por una enzima que puede existir fisiológicamente activa o inactiva y su conversión está regulada por una serie de reacciones que llevan a la fosforilación o a la defosforilación. La primera condición es una modificación covalente que cambia la cinética y las propiedades alostéricas de la enzima y provee un medio de respuesta para los estímulos provenientes del exterior de la célula (por ejem: la entrada de calcio, adrenalina o glucagon) o para mantener el estado metabólico dentro de la célula.

El primer paso para la transferencia de glucosa a glucógeno es la isomerización de la Gl-6-P a Gl-1-P, paso catalizado por la enzima fosfoglucomutasa. La síntesis del glucógeno implica otras dos reacciones. En la primera, el uridin-diP-Gl se forma por la condensación de la Gl-1-P con el uridin trifosfato (UTP). Esta reacción, catalizada por la uridin-diP-Gl fosforilasa no controla la síntesis de glucógeno. En lugar de ello, la segunda reacción catalizada por la glucógeno sintetasa es la tasa limitante.

La sintetasa de glucógeno puede existir en dos formas, reguladas por fosforilación o defosforilación. La forma defosforilada o I es la forma activa,

la cual puede ser convertida a la forma defosforilada inactiva o forma D por medio de una protein-cinasa dependiente de AMPc cuando los niveles de éste segundo mensajero se encuentran elevados. Esta última enzima que transfiere el fosfato del ATP en forma covalente a la enzima, cataliza la inactivación de la glucógeno sintetasa como también la activación de la fosforilasa cinasa.[16]

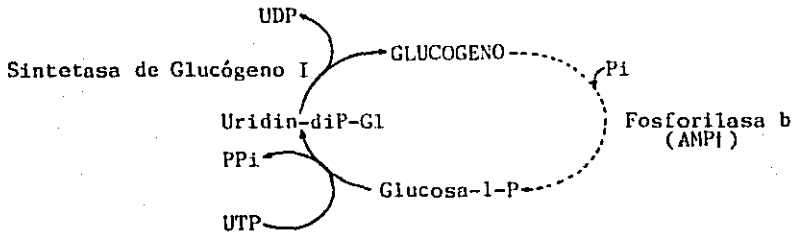
Existen por lo menos tres cinasas proteicas que pueden fosforilar a la sintetasa del glucógeno y así disminuir su actividad. La fosforilasa, enzima responsable de la formación de la Gl-1-P a partir del glucógeno, también existe en forma fosforilada y defosforilada. En contraste a la sintetasa de glucógeno, la forma fosforilada de la fosforilasa es la forma activa, mientras que la forma defosforilada b es la menos activa.

La enzima que cataliza la fosforilación de la fosforilasa b, la fosforilasa cinasa es controlada en forma diferente que la protein-cinasa dependiente de AMPc. Esta última cataliza la fosforilación de la glucógeno sintetasa. La actividad de la fosforilasa cinasa, y por ello la conversión de la fosforilasa b a la forma a, depende mucho del calcio y de la protein-cinasa dependiente del AMPc, pero es independiente del nivel aislado del AMPc. Así, existen dos diferentes cinasas proteicas: la dependiente de AMPc de la sintetasa de glucógeno y la fosforilasa cinasa dependiente de calcio de la fosforilasa de glucógeno. Esta última está bajo control de la cinasa proteica dependiente de AMPc. En otras palabras, la síntesis de glucógeno es controlada directamente por la cinasa proteica dependiente de AMPc, mientras que la catálisis del glucógeno es controlada indirectamente por la cinasa proteica dependiente de AMPc y es afectada por la fosforilasa cinasa dependiente de calcio.[16]

En contraste a la fosforilasa, la regulación de la fosforilasa fosfatasa está menos estudiada. Se piensa que su activación ocurre rápidamente y es regulada indirectamente por el AMPc.

En la glucogénesis la adición de residuos de glucosa a una cadena de glucógeno preexistente determina que las "ramas" del árbol del glucógeno se alarguen a medida que se forman nuevas uniones amilósicas 1,4. Cuando la cadena lineal ha crecido por la adición de unos ocho residuos de glucosa, la enzima amilo 1,4-1,6 transglucosidasa, o enzima ramificante, actúa sobre ésta cadena para transferir una parte de ella a otra cadena vecina por medio de enlaces glucosídicos 1,6 estableciendo así un punto de ramificación en la molécula. De ésta manera, bajo la acción combinada de la glucógeno sintetasa y de la transglucosidasa (enzima ramificante), se arma la molécula del glucógeno. Fig: 4

SINTESIS DE GLUCOGENO: ENZIMAS NO FOSFORILADAS



DEGRADACION DEL GLUCOGENO: ENZIMAS FOSFORILADAS

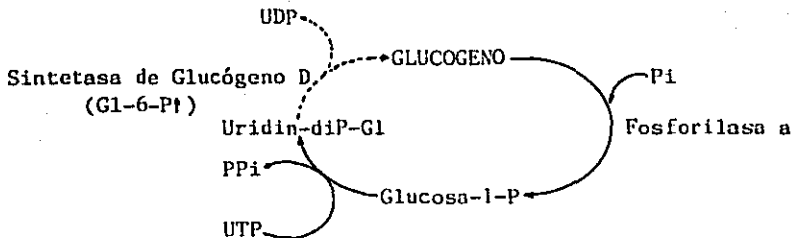


Fig: 4. REGULACION DEL METABOLISMO DE SINTESIS Y DEGRADACION DEL GLUCOGENO
 Explicación en el texto. (de: Circulation Vol. 72[supl IV] Nov 1985)

Por otro lado, la glucogenólisis hepática tiene como producto terminal la formación de glucosa a diferencia de la muscular que termina en ácido láctico o pirúvico. Bajo la acción combinada de la fosforilasa y de la enzima desramificante o amilo-1,6-glucosidasa se convierte al glucógeno en Gl-1-P y algo de glucosa. La acción de la fosfoglucomutasa es reversible, pudiendo de ésta manera formarse Gl-6-P a partir de Gl-1-P.[16]

En el hígado existe la enzima Gl-6-fosfatasa que separa el fosfato de la molécula liberando glucosa que difunde al exterior de la célula y sirve para regular los niveles de glucemia. La ausencia en el músculo explica porqué el glucógeno muscular no es útil para regular la glucemia.[20]

CICLO DEL ACIDO CITRICO O CICLO DE KREBS

Es la vía final común de la oxidación de carbohidratos, grasas y proteínas, por medio de ella la acetil CoA es completamente oxidada hasta bióxido de carbono y agua.

Si en el metabolismo de los glúcidos un período de anaerobiosis va seguido de otro de aerobiosis, el ácido láctico acumulado se oxida a ácido pirúvico por la deshidrogenasa láctica, reacción en la cual el NAD actúa como aceptor de hidrógeno, en consecuencia, en cualquier caso el ácido pirúvico es el primer compuesto que debe tomarse en cuenta en el metabolismo aerobio de los carbohidratos.

En contraste con las enzimas de la glucólisis que se encuentran en el citosol, las del ciclo de Krebs se localizan en la fracción mitocondrial, en proximidad con las enzimas de la cadena respiratoria.[21]

OXIDACION INICIAL DEL PIRUVATO

La membrana interna de la mitocondria representa una barrera para las moléculas cargadas. Se requieren mecanismos de transporte específico para trasladar los metabolitos a través de la doble capa lipídica. Existe un transporte específico para el piruvato hacia el interior de la mitocondria.

Sin embargo, ésto no limita el metabolismo del piruvato. En la matriz mitocondrial el piruvato puede ser decarboxilado a acetil CoA o carboxilado a oxalacetato, aunque la primera reacción es la que predomina.

La conversión de piruvato a acetil CoA requiere de la acción secuencial de tres diferentes enzimas: piruvato decarboxilasa, dihidrolipoiltransacetilasa y dihidrolipoildeshidrogenasa. La reacción también requiere de cinco coenzimas o grupos prostéticos, que son: pirofosfato de Tiamina, ácido lipóico, Coenzima A, flavin adenin dinucleótido (FAD), y nicotin adenin dinucleótido (NAD). Las enzimas y coenzimas están organizadas en un núcleo multienzimático con peso molecular total aproximado de 6 millones de Daltons, el tamaño de un ribosoma. El complejo piruvato deshidrogenasa (PDH) es un complejo unido al lado interno de la membrana interna mitocondrial y está encargada de las cinco reacciones enzimáticas sucesivas involucradas en la decarboxilación y oxidación del piruvato. Todas las enzimas y coenzimas se localizan junto a los grupos prostéticos para permitir que las reacciones intermedias se sitúen una al lado de la otra.

La PDH es inhibida por sus productos terminales: Acetil CoA y el NADH. La PDH también está regulada por modificación covalente a través de un ciclo

de fosforilación y defosforilación, que involucra a la PDH cinasa dependiente de ATP-Mg y de la PDH-P fosfatasa, ambas se encuentran débilmente unidas al complejo. La fosforilación completa de la PDH resulta de la incorporación de 3 fosfatos por unidad de decarboxilasa.

La mayoría de los efectores conocidos de la fosforilación/defosforilación son también efectores de la reacción de las cinasas. De los siguientes pares de metabolitos ATP/ADP, acetyl CoA/CoA-SH, NADH/NAD⁺ y acetona/piruvato, los primeros componentes activan la reacción o actúan como sustrato, los segundos inhiben la enzima. El calcio y el magnesio inhiben la cinasa y activan la reacción de la fosfatasa, activando así a la PDH. Los efectos inhibitorios de los ácidos grasos o de los cuerpos cetónicos son probablemente los mediadores del incremento de la acetyl CoA. Fig: 5 y 6

En ésta serie de reacciones se libera una molécula de bióxido de carbono, se produce NADH y se consume una CoA sulfurada, siendo el producto terminal la acetyl CoA.[18]

REACCIONES DE CICLO DEL ACIDO CITRICO

La reacción inicial del ciclo consiste de una condensación de la acetyl CoA con el oxalacetato, en la cual se forma citrato y se regenera la CoA por la acción de una enzima condensante, la citrato sintetasa. Esta es una reacción irreversible ya que libera alrededor de 7,8 Kcals., ésta energía pudiera emplearse para la formación de un compuesto de alta energía pero en el ciclo de Krebs se sacrifica la formación del enlace macroérgico para "impulsar" la condensación del oxalacetato y la acetyl CoA para formar el ácido cítrico.

El citrato formado posteriormente es convertido en isocitrato por la aconitasa. Esta conversión se produce en dos pasos, una deshidratación que conduce a cis-aconitato seguida de rehidratación para dar isocitrato. El Hierro es el cofactor de la enzima. Luego, el isocitrato experimenta una deshidrogenación en presencia de la isocitratodeshidrogenasa y NAD⁺ para formar oxalsuccinato, el cual es convertido en alfa-cetoglutarato por descarboxilación, proceso catalizado por la oxalsuccinatodescarboxilasa. El manganeso es un componente importante de la reacción de descarboxilación. Dado que es imposible separar la actividad de la deshidrogenasa de la descarboxilasa, se deduce que las dos reacciones son catalizadas por la isocitratodeshidrogenasa. Algunos autores consideran que el oxalsuccinato no es un producto intermedio libre, sino que está conjugado a la enzima.

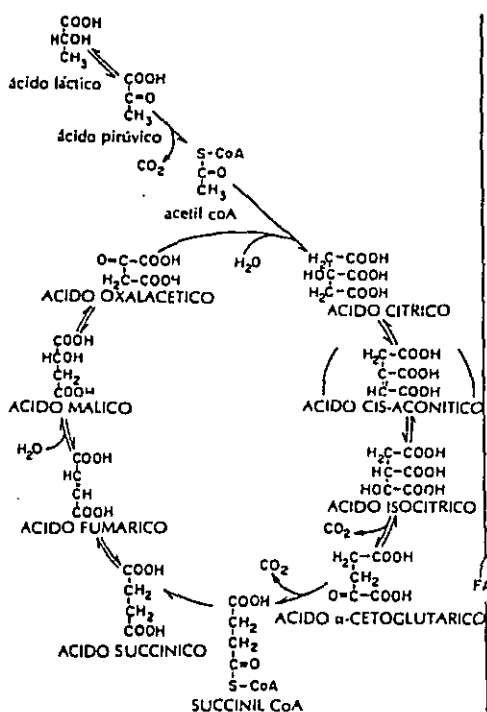


Fig: 5. CICLO DEL ACIDO CITRICO
(Explicación en el texto)

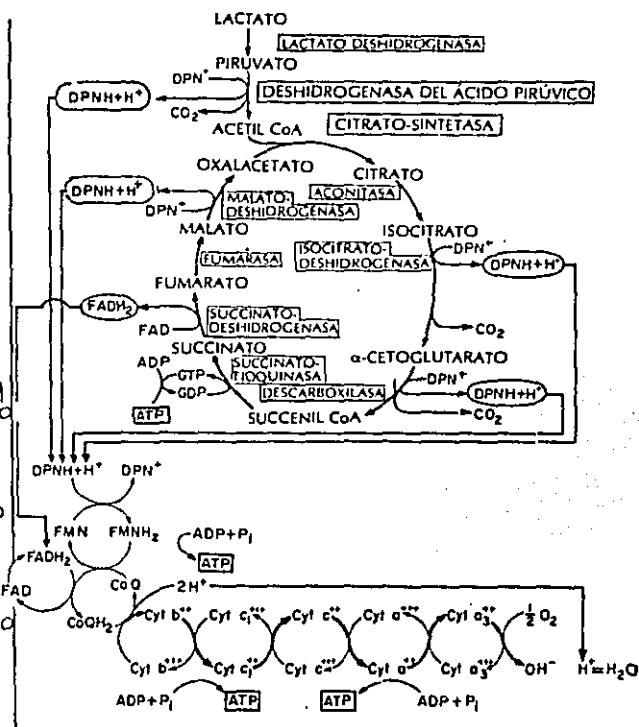


Fig: 6. C. DE KREBS Y TRANSPORTE ELECTRONICO
(Explicación en el texto)

En seguida el alfa-cetoglutarato experimenta una descarboxilación, reacción catalizada por la alfa-cetoglutaratodeshidrogenasa. Esta reacción es semejante a la descarboxilación inicial del piruvato, requiriendo de los mismos cofactores. El resultado es la formación de la succinil CoA. La reacción es unidireccional.

Al continuar el ciclo la succinil CoA es convertida en succinato por la succinato tiocinasas; el enlace tio-éster, rico en energía, formado en el paso anterior puede transformarse en un enlace fosfato, ya que la reacción requiere de GDP o de IDP (guanosin o inosin di-P) los cuales son convertidos, en presencia de fosfato inorgánico en GTP o ITP. Este es el único paso en el ciclo de Krebs donde existe generación de fosfato rico en energía a nivel de sustrato.

Otra alternativa en los tejidos extrahepáticos, es la conversión de la succinil CoA en succinato acoplada a la conversión de acetoacetato en acetil CoA, reacción catalizada por la tioforasa.[17]

El succinato experimenta deshidrogenación reversible a fumarato por la succinato deshidrogenasa, vía acoplada al sistema de citocromos por medio de grupos prostéticos de hierro y flavina, ésta última como FAD. La reacción es la única deshidrogenación del ciclo que implica la transferencia directa del hidrógeno desde el sustrato a una flavoproteína sin la participación del NAD^+ .

El fumarato es objeto de una hidratación reversible bajo la influencia de la fumarasa, para formar malato. La enzima no requiere de coenzimas, pero el fosfato puede activar ésta reacción. Figs: 5 y 6.

Finalmente, el malato sufre una deshidrogenación reversible a ácido oxalacético por la malato deshidrogenasa y NAD^+ . La enzima reducida es oxidada por los catalizadores de la cadena respiratoria. De ésta manera se completa el ciclo con la formación del oxalacetato, el cual nuevamente puede reaccionar con otra molécula de acetil CoA. La malato deshidrogenasa es inhibida por su producto: el oxalacetato que también inhibe a la succinato deshidrogenasa, lo que indica que éstas dos reacciones son sitio de regulación por retroalimentación negativa.[22]

La formación de equivalentes reducidos a partir del agua es, probablemente, la función más importante del ciclo de Krebs, pero existen otras funciones tales como: la generación de metabolitos intermediarios como el citrato (regula la fosfofructocinasa) o la catálisis de carbohidratos, aminoácidos o de ácidos grasos.

Bajo condiciones fisiológicas la oxidación de la acetil CoA en el ciclo de Krebs está directamente relacionada a la tasa de producción de ATP por la fosforilación oxidativa del ADP en la cadena respiratoria. Posteriormente, los equivalentes reductores (NADH y FADH) pueden originar enlaces de alta energía a nivel de la cadena respiratoria, por lo que la degradación total de una molécula de glucosa hasta bióxido de carbono y agua puede originar hasta 38 moléculas de ATP, que representan 296 Kcals.[15,18,19,21]

CICLO DE LA PENTOSA FOSFATO

Las vías anaerobias y aerobias combinadas que se bosquejaron representan las vías principales del metabolismo de los glúcidos en el organismo, sobre todo a nivel del tejido muscular. Pero en algunos órganos como el hígado, la corteza adrenal, el tejido adiposo, los eritrocitos, la glándula mamaria lactan-

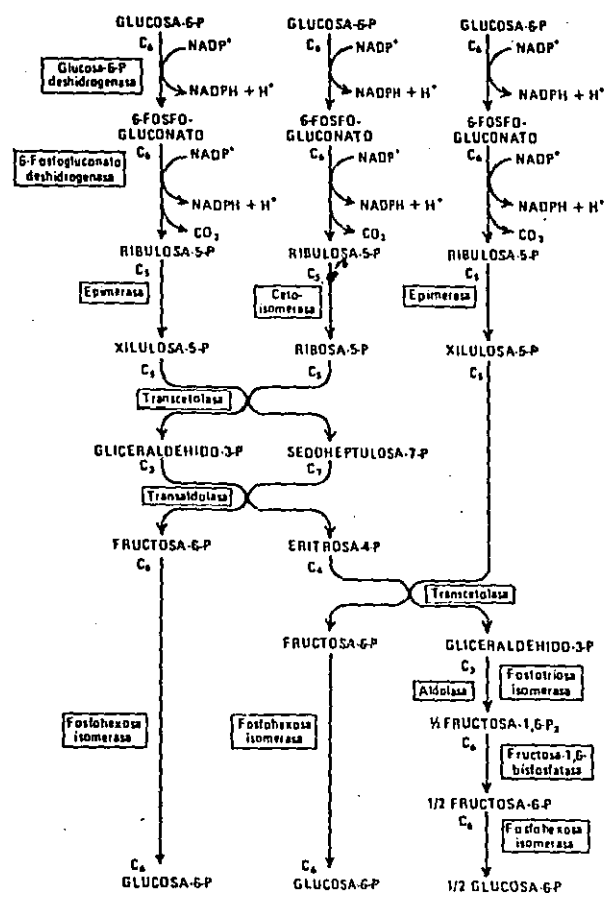


Fig: 7. CICLO DE LA PENTOSA FOSFATO Y SU RELACION CON LA VIA DE EMBDEN-MEYERHOF (Explicación en el texto)

te, testículos y tiroides existen vías alternativas a la de Embden Meyerhof y a la del ciclo de Krebs que parten de la Gl-6-P y de la Fr-6-P y que compiten con ellas. En los mamíferos, es importante la derivación de la hexosa monofosfato, llamada también vía oxidativa directa, ciclo de la pentosa-fosfato o ciclo de Warburg-Dickens-Lipman. Esta vía oxida la glucosa hasta bióxido de carbono y agua. La vía es completamente diferente a la glucólisis anaerobia; la oxidación se produce en las primeras reacciones y el CO_2 , que no se produce en absoluto en la vía de Embden Meyerhof es un producto característico.

En muchos de los tejidos en los cuales la vía de la pentosa-fosfato es activa se emplea NADPH en síntesis reductoras, como en la formación de ácidos grasos, esteroides y otras sustancias. Una de las funciones principales de la vía es la provisión de NADPH, el cual se requiere para procesos anabólicos fuera de la mitocondria.

Otra función es suministrar parte de las pentosas para la síntesis de los nucleótidos y ácidos nucleicos. La fuente de la ribosa es el metabolito intermediario de la vía: la ribosa-5-P.

La formación de NADPH en los eritrocitos tiene una correlación directa entre la actividad de las enzimas de la vía oxidativa directa, en particular de la glucosa-6-P deshidrogenasa y la fragilidad de los eritrocitos. Fig: 7 [18]

MECANISMOS CELULARES DE CAPTURA ENERGÉTICA

TRANSPORTE ELECTRONICO MITOCONDRIAL

La energía adquirida por las células vivas se mantiene aprovechable principalmente en forma de moléculas de adenosin trifosfato (ATP). Constituyéndose en el "fluido energético" básico de la célula y es el metabolito que aporta la energía requerida para la mayoría de las funciones intracelulares.

El ATP, ejemplo de las moléculas denominadas nucleótidos, consta de una base orgánica nitrogenada (adenina), un azúcar (ribosa) y una cadena de tres grupos fosfato.[15]

En la mayoría de las reacciones en que el ATP interviene como fuente energética, se involucra solo su grupo fosfato terminal. El ATP se forma enlazando un tercer grupo fosfato al adenosin difosfato (ADP), con eliminación de una molécula de agua. Esta reacción no ocurre en forma espontánea, puesto que debe de suministrarse elevada cantidad de energía, gran parte de la cual se recupera en la reacción inversa, en la que el ATP se disocia en ADP y fosfato inorgánico con desprendimiento de energía, reacción de característica energética exergónica

a diferencia de la síntesis en que es endergónica.[21]

El ATP así formado puede dar lugar a otros compuestos fosforilados de alta energía que pueden intervenir en reacciones químicas adicionales.

La síntesis de ATP dentro de la mitocondria implica reacciones de óxido-reducción. La transferencia de un electrón o de un átomo de hidrógeno de una molécula a otra recibe el nombre de reacción de óxido-reducción. La molécula que cede el electrón o el hidrógeno se dice que ha sido oxidada por la molécula que lo capta, a la inversa el aceptor de electrones o del hidrógeno es el reducido. Siempre que una sustancia sea oxidada otra debe de ser reducida. El oxígeno es un agente muy oxidante, pero el proceso químico de la oxidación es general y, puede darse en ausencia de oxígeno. En general cualquier aceptor de electrones puede ser considerado como oxidante.

Peter Mitchell del Glynn Research Laboratory, propuso el mecanismo bioquímico mitocondrial para la síntesis de ATP. Actualmente, dicha teoría, en su mayor parte aceptada se conoce como teoría "Quimiosmótica"; y a continuación se describe.[23]

En las mitocondrias, el hidrógeno se extrae a partir de los hidratos de carbono en el ciclo de Krebs, la glucólisis, la beta-oxidación de ácidos grasos de los lípidos y del metabolismo de algunos aminoácidos. El hidrógeno es captado por el NAD^+ . El signo de la molécula indica que ella ordinariamente tiene carga positiva. Cada molécula de ella acepta dos electrones y un protón; éste y uno de los electrones se unen a un átomo de carbono de la molécula de NAD^+ ; el otro electrón neutraliza la carga positiva. La forma reducida de NAD se designa NADH, y es el principal intermediario entre el ciclo del ácido cítrico y las enzimas de la membrana interna de la mitocondria que suministran electrones al oxígeno para formar agua. Al proceso en su conjunto se denomina respiración. Los transportadores de hidrógeno y electrones de la membrana componen la cadena respiratoria.

De acuerdo a la teoría quimiosmótica, por cada par de electrones transferidos del NADH al oxígeno salen a través de la membrana seis protones. La relación se establece en pares de electrones, ya que ellos aparecen en parejas, tanto al inicio (en el NADH) como en el final de la cadena respiratoria (donde reducen un átomo de oxígeno a agua). A lo largo de la cadena respiratoria, los electrones son transportados individualmente por ciertos transferidores y en parejas por otros.

El NADH cede sus dos electrones y un protón a un grupo transferidor denominado Flavin-mononucleótido o FMN. En éste proceso el NADH es oxidado, es decir,

cambia a NAD^+ y, el FMN acepta dos electrones y un protón, captando además, un protón adicional del medio interno, delimitado por la membrana, con lo que es reducido a FMNH₂. La molécula de FMN se encuentra unida a una proteína de gran tamaño incluida en el espesor de la membrana mitocondrial interna. El FMNH₂ transfiere dos átomos de hidrógeno desde la superficie interna de la membrana hasta la externa. Ahí, los átomos son ionizados y los protones liberados al medio extramitocondrial, determinando que los dos primeros protones sean transportados a través de la membrana. Según un hipotético mecanismo de transporte, los protones son liberados por el grupo flavínico, en el interior de la membrana y llegan al medio externo a través de un canal de la molécula de proteína.

Al liberarse los dos protones del FMN, sus dos electrones son transferidos a otras proteínas que, debido al elemento asociada a ellas, reciben el nombre de ferroproteínas sulfuradas (FeS). El FMNH₂, después de ceder dos protones y dos electrones, cambia a su forma original FMN y, puede ser reducido nuevamente por el NADH.

A diferencia del FMN, las ferroproteínas sulfuradas únicamente transfieren electrones, no átomos completos de hidrógeno y transportan los electrones de uno en uno y no apareados. A éste nivel, en la cadena respiratoria, existen diferentes tipos de ferroproteínas, alojadas en la membrana de manera tal que pueden transferir los electrones de nuevo al interior. El transferidor al que ceden el par de electrones, la ferroproteína sulfurada, es una molécula pequeña denominada ubiquinona o Coenzima Q. Mitchell denominó ciclo Q a su mecanismo de acción. La ubiquinona es una molécula cíclica que contiene dos átomos de oxígeno y posee tres posibles estados de oxidación. En el de máxima oxidación o forma quinona ambos oxígenos están unidos a átomos de hidrógeno.

En el ciclo Q dos moléculas de ubiquinona captan respectivamente un electrón procedente de las proteínas sulfuradas y, toman protones del medio para formar dos moléculas de semiquinona (QH•). Dos electrones más son suministrados por moléculas de otra proteína de la cadena respiratoria: el citocromo b. Al captar dos protones más del medio intramitocondrial se forman dos moléculas de QH₂, la forma más reducida. La ubiquinona es soluble en la matriz lipídica de la membrana, por lo que pueda que sea móvil. A diferencia de los demás transferidores, que se supone permanecen fijos y no sirven más que para conducir los átomos de hidrógeno o los electrones, la ubiquinona quizá migre como molécula de una parte a otra de la membrana. En el ciclo Q, las dos moléculas de hidroquinona atraviesan la membrana desde la superficie interna donde toman

4 átomos de hidrógeno hasta la superficie externa. Aquí, cada molécula de QH, cede un electrón a la siguiente proteína de la cadena respiratoria: el citocromo c_1 , y libera un protón fuera de la mitocondria. En consecuencia, el número de protones transportados hasta el momento son de 4. Fig: 8

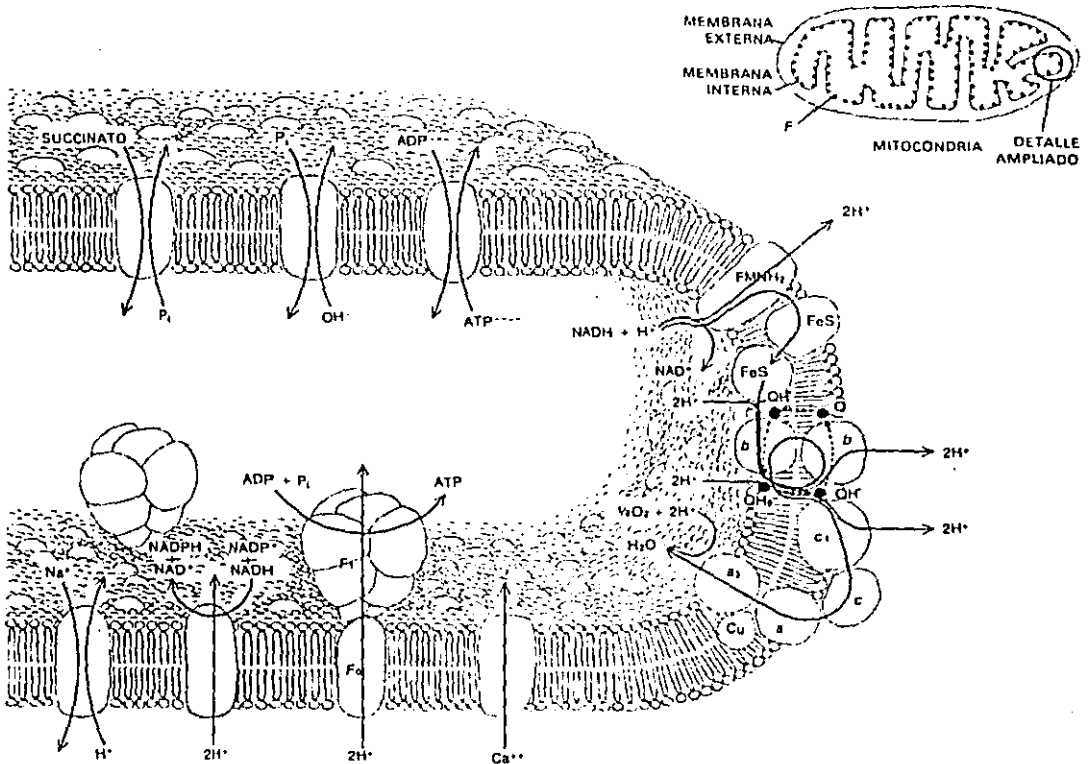


Fig: 8. TRANSPORTE ELECTRONICO Y FOSFORILACION OXIDATIVA EN LA MEMBRANA MITOCONDRIAL. Explicación en el texto.
(de: Scientific American N^o 20 May 1978)

Todas las moléculas de ubiquinona se encuentran ahora en el estado de semiquinona o QH^{*}. Completan el ciclo al retornar a la forma de máxima oxidación. Cada una cede su protón restante al medio externo y transfiere el electrón asociado al citocromo b. Los seis protones han sido ya trasladados a

través de la membrana y expulsados del interior de la mitocondria, pero resta aún determinar el destino de cuatro electrones. Dos fueron donados al citocromo c_1 y dos al citocromo b. Los citocromos son proteínas que contienen un grupo hemo; estructura que posee un gran anillo con un átomo de hierro central que puede captar y ceder fácilmente un electrón. Los dos electrones son devueltos al ciclo Q a través de la membrana y , finalmente reducen dos moléculas de QH^* a QH ,. Este ciclo cerrado es el que proporciona los electrones necesarios para la reducción de las semiquinonas mencionadas anteriormente.

Los dos electrones depositados en la molécula de c_1 prosiguen por toda la cadena respiratoria, hasta su final. Son transferidos del citocromo c_1 , incluido en la superficie exterior de la membrana, al citocromo c situado sobre la superficie exterior. Después los dos electrones pasan al citocromo a y, atraviesan la membrana por última vez, para llegar al citocromo a,. Por último éste es oxidado por oxígeno molecular. Los dos electrones son cedidos a un átomo de oxígeno y dos protones son captados del medio interno de la mitocondria con lo que se forma una molécula de agua.[23]Fig: 8

En ésta larga serie de reacciones de óxido-reducción el par de electrones atraviesa tres veces la membrana en ambos sentidos y extrae dos protones en cada una de las salidas. El primer paso lo hace en la forma reducida del flavin-mononucleótido (FMN),). Después de retornar a través de las ferroproteínas sulfuradas, los electrones vuelven a salir con la hidroquinona. El segundo viaje de vuelta se efectúa por medio del citocromo b, los electrones reducen otro par de moléculas de ubiquinona y migran por tercera y última vez a la superficie exterior de la membrana. Finalmente, vuelven al interior de la mitocondria a través del sistema de citocromos (c_1 , c, a y a), y son suministrados al oxígeno. El flujo de electrones en la mitocondria supone una intensidad de corriente eléctrica. La diferencia de potencial entre el NADH y el oxígeno es alrededor de 1,2 voltios, y la intensidad total en las mitocondrias de una persona en reposo es de aproximadamente 100 amperios, con lo que se generan 120 watts de potencia.

El gradiente de protones, establecido por medio del transporte oxidativo de electrones, representa un almacenamiento de energía libre, algo así como el agua bombeada hasta un depósito elevado en contra de un gradiente gravitacional. La energía puede recuperarse permitiendo el flujo inverso de los protones a través de la membrana por entre un "molino" adecuado. El trabajo principal que efectúa el flujo de protones a través del gradiente es la fosforilación

del ADP a ATP, pero el gradiente también influye a otros procesos, como el transporte activo de ciertos iones, por lo que, cada mol de glucosa oxidado no siempre forma 38 moles de ATP, a veces solo 25.

La energía se almacena en el gradiente de protones de dos formas, dicho en otras palabras, el gradiente tiene dos componentes. Uno es la diferencia de concentración o actividad química en ambos lados de la membrana. Los protones tienden a difundir de una región con alta concentración a otra con baja concentración cuando se establece una vía en la membrana. La concentración de protones se mide en unidades de pH. La energía del gradiente de concentración se determina por la diferencia de pH a través de la membrana y es independiente de la magnitud absoluta del pH. La carga eléctrica transportada por los protones origina al segundo componente energético del gradiente. El movimiento neto de las cargas a través de la membrana crea una diferencia de potencial eléctrico y todas las partículas quedan influidas por el campo electrostático resultante. La energía total del gradiente de protones es la suma del componente osmótico (concentración) y el componente eléctrico. Debido a la diferencia de concentración y de potencial eléctrico, un protón expulsado de la mitocondria experimenta una fuerza que tiende a introducirlo nuevamente. El movimiento del protón en respuesta a ésta fuerza puede emplearse para efectuar un trabajo, como el de la fosforilación.

Las enzimas que relacionan la difusión del retorno de protones, por la membrana, con la síntesis de ATP destacan en las microfotografías electrónicas, como cuerpos globulares que sobresalen de la superficie de la membrana. El prominente "botón" designado como F_1 fué aislado en 1960 por E. Racker y cols. Es una proteína soluble compuesta de cinco tipos de subunidades, algunas de las cuales se presentan repetitivamente. F_1 se encuentra acoplada a la membrana por medio de otro conjunto de proteínas designado como F_0 , incluido en la membrana y que la atraviesa completamente. En las mitocondrias el complejo F_1 y F_0 se orienta de forma que las prominencias sobresalgan hacia la matriz interior desde la superficie interna de la membrana. Está comprobado que por cada dos protones que penetran al complejo, una molécula de ADP se combina con fosfato inorgánico formando ATP. Es importante notar que ésta reacción es reversible, ya que en circunstancias apropiadas, el complejo puede disociar moléculas de ATP y emplear la energía desprendida para bombear protones hacia el exterior de la mitocondria.[23]

No se conoce el mecanismo exacto de síntesis de ATP en el locus activo del complejo F_1 - F_0 . Se han formulado varias hipótesis.

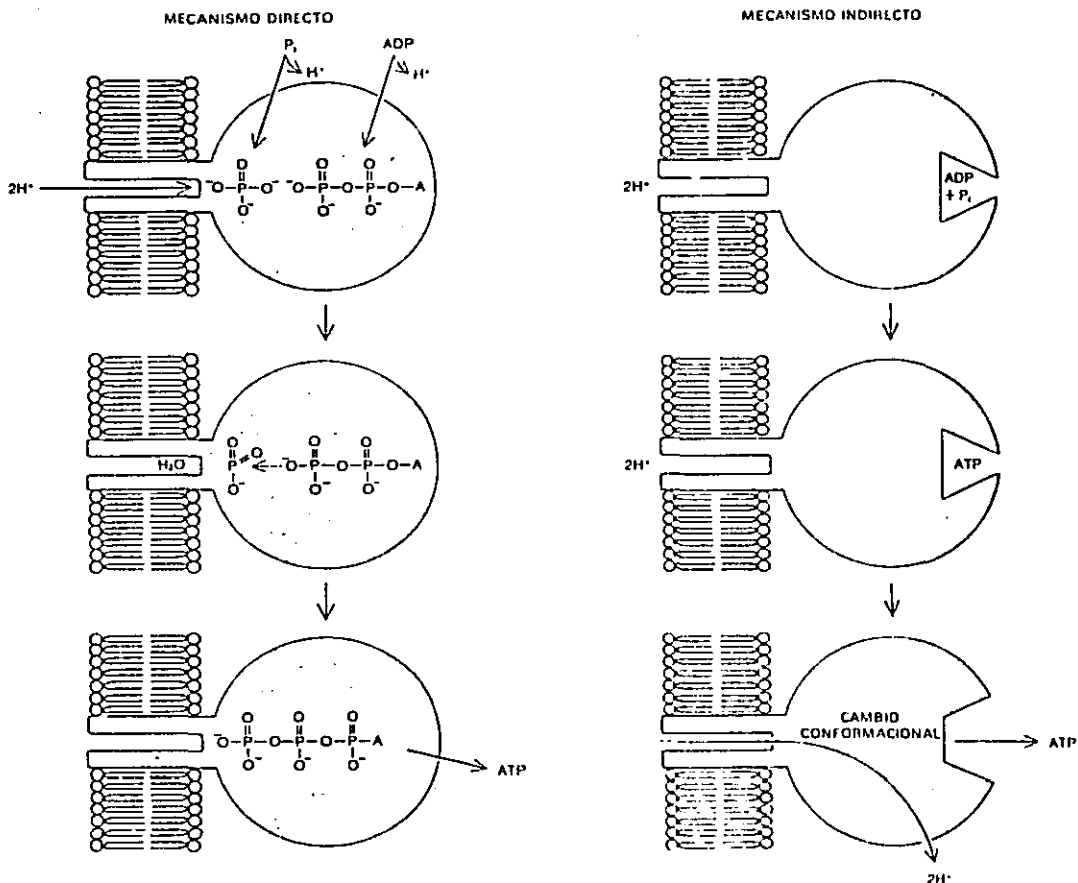


Fig: 9. POSIBLES MECANISMOS DE LA FOSFORILACION OXIDATIVA EN LA MITOCONDRIA
Explicación en el texto. (de: Scientific American N° 20 Mayo 1978)

Uno de los mecanismos hipotéticos fué propuesto por Mitchell. Según éste mecanismo, un grupo fosfato se une a la enzima en el centro activo incluido en la región F_1 del complejo, pero cerca del final del canal de protones de F_0 . Dos protones impulsados mediante el potencial de membrana y el gradiente de pH atraviesan el canal y atacan a uno de los oxígenos del fosfato, con el que forman una molécula de agua, ya fuera de la estructura molecular del ADP.

El enlace fosfórico libre, creado de ésta manera, transforma al grupo fosfato en una molécula altamente reaccionante que puede enlazarse directamente al ADP.

El movimiento de moléculas e iones a través de la membrana se produce espontáneamente, solo en el sentido de que tiende a reducir un gradiente de concentración o de potencial eléctrico. En la célula y en algunos de sus organelos muchas sustancias deben de ser asimiladas o expulsadas en contra de un gradiente, por ello la mayor parte del transporte de las sustancias consume energía. El movimiento de algunos iones y moléculas está dirigida directamente por el gradiente de protones.

Un ejemplo del transporte ligado a protones es el flujo de iones de sodio hacia el exterior de la mitocondria a cambio de iones de hidrógeno. En éste sistema, un ión del sodio sale de la mitocondria por cada protón que atraviesa la membrana en sentido contrario. Se supone que el intercambio está mediado por una proteína de la membrana. Un sistema de transporte similar influye en la captación del fosfato inorgánico que penetra a la mitocondria en forma de catión. El movimiento de los iones de fosfato queda compensado por un contraflujo de iones hidroxilo.

El otro componente del gradiente de protones, el potencial de membrana, puede dirigir también un transporte activo. La captación de iones de calcio por la mitocondria, toma la energía del potencial de membrana y es independiente del gradiente de pH. Probablemente, el calcio entra sin contracorriente de ningún ión y, su transporte está mediado solo por fuerzas electrostáticas que lo atraen a la superficie interna de la membrana cargada negativamente. El potencial de membrana también proporciona la fuerza que motiva el intercambio de moléculas de ADP y ATP, asegurando así el abastecimiento constante de substratos para la fosforilación oxidativa y exportando el producto resultante.

El ADP lleva una carga de -3 y el ATP de -4 , de tal manera, el intercambio es equivalente a la salida de una carga negativa o a la entrada de una positiva.

Se ha encontrado que el gradiente de protones consiste en una diferencia de pH de alrededor de 1,4 unidades de pH (medio ácido en el exterior), y, un potencial de membrana de 140 milivoltios (positivo en el exterior), que representa un gradiente total de 5,3 Kcal por mol de protones.[23]

TRANSPORTE DE EQUIVALENTES REDUCTORES A NIVEL MITOCONDRIAL

El contenido de NADH mitocondrial es hasta 100 veces mayor que el citosólico. Cualquier acumulación tiene consecuencias metabólicas directas (inhibición de la gliceraldehído-3-P deshidrogenasa). Debido a la impermeabilidad de la membrana interna de la mitocondria al NADH y por el gradiente de la concentración, los equivalentes reducidos provenientes del citosol no pueden ingresar a la mitocondria por simple difusión. En vez de ello, el NADH es transportado indirectamente a través de aniones metabólicos del "transportador" malato-aspartato. Este se encuentra unido al ciclo de Krebs a través de metabolitos intermediarios comunes. En el transportador el oxalacetato citosólico es reducido a malato, mientras que el NADH es oxidado a NAD^+ . El malato luego cruza la membrana interna de la mitocondria mediante el portador dicarboxilado en el sistema de transporte electroneutro malato-2-oxoglutarato. (Fig:10) En la matriz mitocondrial el malato es reoxidado a oxalacetato por la malato deshidrogenasa mitocondrial y el oxalacetato es transaminado con glutamato para formar aspartato. El transporte irreversible del aspartato fuera de la mitocondria se da lugar por intercambio con glutamato. El intercambio es electrogénico, debido al co-transporte mediado por portador, de un protón por molécula de glutamato. El resultado neto del ciclo es la transferencia de equivalentes reducidos (NADH) citosólicos hacia la matriz mitocondrial para su oxidación en la cadena respiratoria. La consecuencia de la inhibición del "transportador" malato-aspartato es la acidosis intracelular y, a nivel muscular la insuficiencia de la contracción. Fig: 10 [18,24]

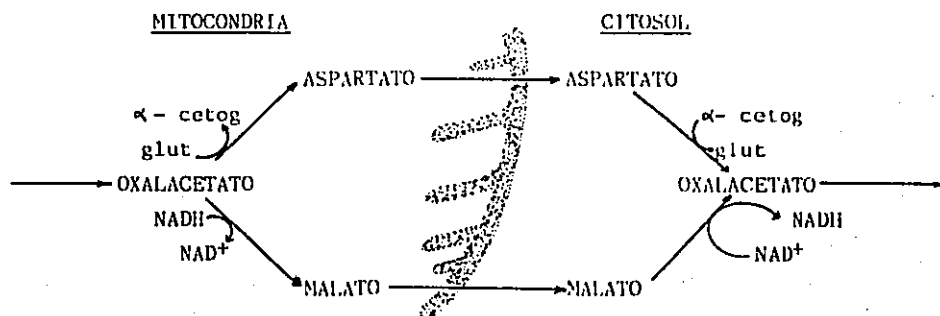


Fig:10. TRANSPORTADOR MALATO-ASPARTATO A NIVEL MITOCONDRIAL.
(de Isch, Shock & Anoxia 1ª Ed. 1982)

GLUCONEOGENESIS

Se llama así a la formación de glucosa o glucógeno a partir de fuentes que no son glúcidos. La gluconeogénesis satisface las necesidades de glucosa del organismo cuando no se dispone de suficiente cantidad de carbohidratos en la dieta. El organismo requiere de un suministro continuo de glucosa como fuente de energía, especialmente para el sistema nervioso y los eritrocitos. Estos últimos lo requieren además para la formación del 2,3-diP-glicerato. La glucosa es también importante para mantener el nivel adecuado de los intermediarios del ciclo del ácido cítrico en muchos tejidos. En condiciones en las que la grasa suministra la mayor parte de los requerimientos calóricos para el organismo, existe necesidad basal de glucosa. En el humano, los principales órganos responsables de la gluconeogénesis son el hígado y los riñones. [18]

VÍAS IMPLICADAS EN LA GLUCONEOGENESIS

Hidratos de Carbono: La simple inversión de la glucólisis se encuentra obstruida por barreras energéticas, se requieren de sistemas enzimáticos diferentes para salvar dichos obstáculos.

1. Entre el piruvato y el fosfoenolpiruvato. El piruvato ocupa una posición central en el metabolismo de los carbohidratos. Las mitocondrias contienen la enzima piruvato carboxilasa que en presencia de ATP, biotina y CO_2 convierte al piruvato en oxalacetato. En la porción extramitocondrial de la célula, se encuentra otra enzima la fosfoenolpiruvato carboxikinasa, que cataliza la conversión del oxalacetato a fosfoenolpiruvato. En ésta reacción se requiere de un fosfato macroérgico en forma de GTP o ITP y se libera bióxido de carbono. Así con la ayuda de éstas dos enzimas y la deshidrogenasa láctica, el lactato se convierte en fosfoenolpiruvato.

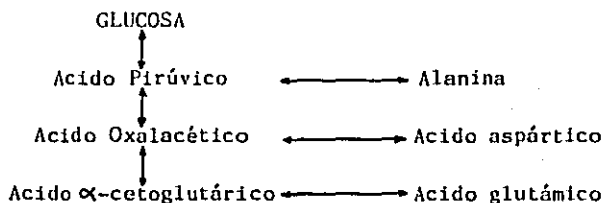
2. Entre la fructosa-1,6-diP y la fructosa -6-P. La reacción es catalizada por la fructosa-1,6-difosfatasa. Es una enzima clave que determina si un tejido es capaz o no de resintetizar glucógeno a partir del piruvato. Se encuentra presente en el hígado, riñones y músculo estriado.

3. Entre la glucosa-6-P y la glucosa. Este paso es catalizado por la glucosa-6-fosfatasa, ésta enzima se encuentra en el hígado, riñones e intestino. El músculo estriado difícilmente regenera glucógeno y le es imposible formar glucosa libre. Pero el miocardio se encuentra adaptado para convertir el lactato en glucógeno y éste de nuevo en lactato, y dependiendo de los requerimientos hasta CO_2 y H_2O . La serie de reacciones que permiten la regeneración de la

glucosa a partir del ácido láctico se denomina ciclo de Cori. Es importante tener presente que la resíntesis de glucógeno a partir de ácido láctico requiere de la introducción de energía al sistema, proporcional a la liberada durante la degradación. En general, ésta energía se la obtiene del ciclo oxidativo. La parte del ácido láctico que entra al ciclo de Krebs libera suficiente cantidad de energía para regenerar glucosa o glucógeno a partir del restante ácido láctico producido. Se calcula que, el 15% del ácido láctico que se oxida por completo hasta CO_2 y H_2O puede producir la energía suficiente para convertir el 85% restante hasta glucógeno.

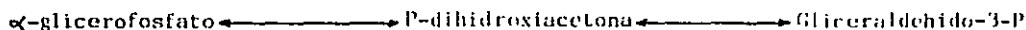
4. Entre la glucosa-1-P y el glucógeno. La síntesis de glucógeno implica una vía diferente a través de la formación de la UDP-glucosa y por la actividad de la glucógeno sintetasa. (Esta vía metabólica se explicó previamente)

Proteínas: Se conoce que pueden convertirse en glúcidos, y ésto se debe a que ciertos aminoácidos son gluconeogénicos. Tres aminoácidos presentan vías directas hasta el ácido pirúvico:



El ácido α -cetoglutárico, el ácido oxalacético y el pirúvico pueden experimentar interconversión mutua en el ciclo de Krebs. Se ha estimado que más del 50% de los aminoácidos de la proteína animal son potencialmente gluconeogénicos. Así tenemos a la: alanina, arginina, ácido aspártico, cistina, ácido glutámico, glicina, histidina, hidroxiprolina, metionina, prolina, serina, treonina, triptófano y la valina.

Grasas: Se debe de considerar la convertibilidad en glucosa de sus dos constituyentes: el glicerol y los ácidos grasos. Con respecto al primero no existen dudas, puesto que puede ser fosforilado por la glicerocinasa en presencia de ATP y después oxidado por la glicerofosfato deshidrogenasa a gliceraldehído-3-P, el cual es un intermediario de la glucólisis:



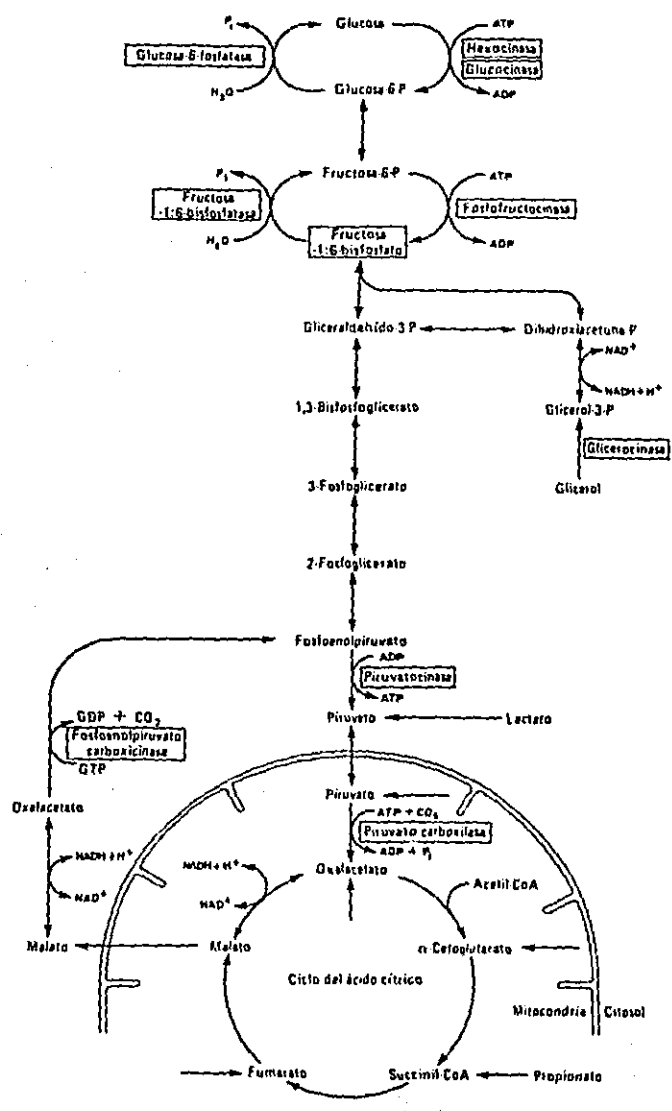


Fig: 11. VIAS PRINCIPALES DE LA GLUCONEOGENESIS HEPATICA (Explicación en el texto)

La conversión de ácidos grasos en glucosa es indirecta. En la beta-oxidación toda la molécula se convierte en acetil-CoA, y dependiendo del destino que siga, éste metabolito puede producir intermediarios que participan en la formación de glúcidos. Fig: 11[18,19,20]

MECANISMOS DE REGULACION DE LA GLUCEMIA

La concentración plasmática de glucosa está determinada por el equilibrio entre la tasa de su aparición a nivel sanguíneo y la capacidad de los tejidos para su depuración. Durante el ayuno, la concentración de glucosa sanguínea es directamente atribuible a la producción endógena. Posterior a su ingesta aparece en el plasma por la absorción a nivel del tracto gastrointestinal. Con frecuencia, en los pacientes, la infusión intravenosa es otra ruta de ingreso de los Hidratos de Carbono.

PRODUCCION DE GLUCOSA

El órgano responsable de la producción de glucosa en condiciones normales es el hígado, y en algunas circunstancias pueden contribuir también los riñones. El siguiente paso en su producción, a partir del glucógeno o de la gluconeogénesis, es la formación de glucosa-6-P, la cual queda atrapada dentro de la célula por no poder atravesar la membrana celular. Su formación y liberación hacia el plasma depende de la presencia de la glucosa-6-fosfatasa, que cataliza la conversión de la glucosa-6-P a glucosa, ésta enzima solamente se encuentra en cantidades significativas en el hígado y los riñones. Así, aunque el glucógeno puede ser producido y almacenado en grandes cantidades en el músculo, la la glucosa resultante del catabolismo del glucógeno muscular solo aporta al precursor para la glucólisis en ese tejido y no contribuye al mantenimiento de la glucosa plasmática. La producción de glucosa en el hígado deriva de sus depósitos de glucógeno y de la gluconeogénesis a partir de fuentes que no son hidratos de carbono.[25]

METABOLISMO DEL GLUCOGENO

Posterior a una ingesta rica en carbohidratos, una cantidad significativa de la glucosa absorbida termina como glucógeno hepático. Sin embargo, evidencia reciente señala que la mayor parte de éste glucógeno no deriva de la glucosa

captada por el hígado, al contrario una porción mayor de lo ingerido o infundido, se capta en la periferie y se metaboliza parcialmente a lactato y en menor grado a alanina, la cual es transportada al hígado que lo capta y convierte en glucógeno. Cuando la absorción o infusión de glucosa cesa y el nivel plasmático disminuye, se inicia una respuesta hormonal que estimula la catálisis del glucógeno y la liberación de glucosa hacia la circulación sanguínea. Probablemente, en éstas circunstancias, el estímulo más importante para la degradación del glucógeno sea el glucagón. De hecho, la estimulación del glucógeno hepático es uno de los efectos metabólicos hormonales más sensibles y reproducibles, en toda la economía. Otras hormonas que estimulan la glucogenólisis son: la epinefrina, la norepinefrina, vasopresina y la angiotensina II. En las primeras horas después de una comida (o al cese de infusión de glucosa) la glucogenólisis produce hasta un 50% de la glucosa, pero después de 24 horas de ayuno la mayor parte del glucógeno hepático ya se encuentra depletado. Si las hormonas que estimulan la glucogenólisis se hallan por encima de su valor normal (como el caso del glucagon durante el estrés) el glucógeno se depleta más rápidamente.[25]

GLUCONEOGENESIS

La gluconeogénesis como se describió anteriormente es una secuencia compleja de reacciones con muchos pasos intermedios. Gran variedad de sustratos se emplean como precursores gluconeogénicos, pero en la mayoría de las circunstancias el lactato es el principal. Ya que la mayor parte de éste deriva de la glucosa plasmática vía glucolítica, la resíntesis de glucosa a partir de lactato es una reacción cíclica, originalmente descrita por Cori. En el hígado constituye una ruta importante para la eliminación del lactato y es básica para la economía. Cuando la capacidad de un tejido para metabolizar completamente sustratos a CO_2 y H_2O está limitada por la falta de O_2 , el ciclo de Cori mantiene un suministro de combustible en forma de glucosa que provee cierta cantidad de energía anaeróbica. La cantidad "neta" de glucosa no se incrementa debido a la producción por el ciclo de Cori, por lo contrario se le puede considerar como una vía que implica gasto energético ya que se requiere de energía para la resíntesis de glucosa a partir del lactato. Sin embargo, la energía para el proceso proviene de la oxidación de las grasas a nivel hepático; por ello el ciclo resulta ser transferidor de energía del tejido graso al músculo sirviendo la glucosa y el lactato como "circulantes" en las situaciones en las que el músculo es incapáz de contar completamente con la oxidación de las gra-

sas. Se ha determinado que la tasa de actividad en reposo del ciclo de Cori, en condiciones normales, representa aproximadamente del 10 al 15% de la producción total de glucosa en ayunas.

Potencialmente, el glicerol es un excelente substrato gluconeogénico e ingresa al ciclo de Cori a nivel de una reacción más próxima a la glucosa que cualquier otro substrato. El grado con el cual el glicerol es convertido a glucosa, básicamente es una función de su disponibilidad, ya que la conversión de glicerol a glucosa es la ruta principal por la cual el glicerol es depurado del plasma. Contribuye en solo 3% a la producción total de glucosa durante períodos cortos de ayuno en sujetos normales. Pero cuando existe estímulo para la movilización de grasas, como en el ayuno prolongado o en la sépsis, puede contribuir hasta un 20% de la producción total de glucosa.

La alanina y la glutamina representan 50 a 60% del total de aminoácidos liberados a partir del músculo. En situación sin acidosis, una cantidad mínima de ella es captada por el riñón y el resto por las células de la mucosa del intestino delgado que la convierten en alanina. Así, constituye el principal aminoácido precursor de la gluconeogénesis. La alanina se libera del músculo en cantidades mayores a lo contenido por la proteína muscular, siendo su origen hasta el momento incierto. Se ha sugerido que el piruvato resultante de la glucólisis es transaminado y la alanina producida se libera a la circulación sanguínea y en el hígado se reincorpora a glucosa. De acuerdo a ésta hipótesis la alanina funciona en un ciclo metabólico análogo al de Cori en la que se produce mayor cantidad de glucosa de "novo". El nitrógeno requerido para la transaminación del piruvato deriva de los aminoácidos que son oxidados por el músculo, incluyendo los aminoácidos de cadena ramificada, como también del glutamato y del aspartato. Se ha propuesto que la importancia de éste proceso es la transferencia del amonio muscular al hígado en forma de una sustancia no tóxica como es la alanina.

Existen diversos sitios de control potencial de la gluconeogénesis, la mayoría de las cuales involucran la tasa de producción del piruvato hepático. La gluconeogénesis es una ruta metabólica, de las varias que tiene el piruvato, incluyendo al ciclo de Krebs o la síntesis de ácidos grasos. Aunque "in vitro" existen múltiples factores que afectan la tasa de gluconeogénesis, "in vivo" son el glucagon, el cortisol y la epinefrina los que estimulan y la insulina la que inhibe, y también el nivel de glucemia por sí misma. Por ello, independiente de cualquier cambio hormonal los niveles altos de glucosa hepática inhiben su producción.[25,26]

EMPLEO DE LA GLUCOSA

En condiciones normales la concentración de la glucosa se encuentra regulada dentro de estrechos límites, pero la tasa de captura y oxidación puede variar considerablemente. Posterior a una dieta alta en carbohidratos o durante la infusión de dosis altas de glucosa, ésta se constituye como el sustrato energético principal. Después de varias horas de ayuno, alrededor del 25% de la producción de CO₂ total proviene de la glucosa.

En muchas situaciones algunos tejidos como el cerebro y los eritrocitos, dependen de ella y de una tasa constante de su captura. Una excepción ocurre durante el ayuno prolongado, donde el cerebro se adapta al empleo de cetonas (acetoacetato y beta-hidroxibutirato), pero ésta situación no es relevante para la regulación del consumo de la glucosa día con día cuando la nutrición se administra en forma adecuada. Por ello, aún cuando el cerebro y los glóbulos-rojos son responsables de la captura de más del 50% durante el ayuno, probablemente, no tengan un papel primordial en las fluctuaciones de la tasa de oxidación glucolítica en los diferentes estados fisiológicos y patológicos.

El hígado interviene en la distribución de la carga de glucosa, pero debido a que la mayor parte de lo que capta no lo oxida, constituye un órgano en el cual la tasa de oxidación no fluctúa en forma importante.

Por otro lado, la masa muscular ejerce influencia sobre la tasa individual de oxidación de la glucosa. Ya que el músculo constituye cerca del 40% de la masa corporal, cualquier cambio en la tasa de su captura puede afectar significativamente la tasa total de glucosa. En reposo, post-absorción, es debatible si el músculo capta toda o parte de la glucosa, pero en el individuo con hiperglicemia o en el ejercicio la tasa de empleo de glucosa por el músculo puede incrementarse varias veces. Debido a la importancia de los efectos de los cambios del metabolismo de la glucosa muscular sobre el metabolismo energético corporal, ha recibido atención considerable su consumo a nivel del músculo.

La tasa de entrada de glucosa hacia el miocito es un paso limitante del metabolismo de la glucosa. Una vez que ingresa a la célula rápidamente es fosforilada a glucosa-6-P, por ello la concentración intracelular es menor que en el espacio extracelular, y la glucosa se mueve hacia la célula favorecida por el gradiente de concentración. La difusión de glucosa se vé facilitada por un sistema de transporte, que cuando se combina con ella la convierte en lo suficientemente soluble en lípidos como para difundir a través de la membrana celular. En éste proceso no se consume energía por ser un mecanismo de transporte pasivo. La tasa de captura de glucosa por los miocitos se incrementa cuando

el nivel sanguíneo de glucosa se eleva en forma muy importante y también la insulina incrementa la capacidad de la célula para captarla. La insulina actúa a nivel de la superficie celular por unión con un receptor específico que inicia su acción. El mecanismo, aún no está del todo esclarecido, puede involucrar la fosforilación de ciertas proteínas de la membrana celular.[27,28]

La tasa de captura de la glucosa por el músculo está muy influida por el estado físico. Aún no está aclarado si el ejercicio aumenta el transporte de glucosa hacia el músculo, pero parece estar involucrado una amplificación del efecto normal del estímulo de la insulina sobre la depuración de la glucosa. Las implicaciones del papel del estado físico sobre la depuración de la glucosa, obviamente están en relación a la severidad de la lesión, ya que usualmente, los pacientes con alteraciones graves llevan una vida sedentaria con mínima ejecución de ejercicio.

Pese a que se acepta que la insulina regula el empleo de glucosa en el músculo al controlar la tasa de ingreso, existe una explicación alternativa que inicialmente se describió como el "Ciclo de la glucosa-ácidos grasos". Lo importante de ésta teoría es que los ácidos grasos inhiben el empleo de la glucosa. Ya que la insulina bloquea la lipólisis, y por consiguiente reduce los niveles circulantes de ácidos grasos, la disminución en su nivel, por ejemplo durante el ayuno, libera éste bloqueo y se traduce en un nivel mayor de ácidos grasos. Esta elevada concentración inhibe el empleo de glucosa y, al estar disminuida su tasa de captura, una determinada concentración de glucosa sanguínea, puede ser mantenida con una producción mínima. Aunque la evidencia que apoya el papel del ciclo es todavía controversial.[24,24,26]

PAPEL DE LA INSULINA

Es la hormona más importante en el control del metabolismo de la glucosa. Disminuye la concentración de la glucosa sanguínea al inhibir la tasa de producción hepática de glucosa, y también al estimular su captura a nivel de ciertos tejidos periféricos. Sin embargo, el umbral para la acción de la insulina sobre la captura periférica de glucosa es más alta que el umbral para su efecto sobre la producción de glucosa hepática. La concentración necesaria de insulina que presenta la mitad del efecto máximo sobre la producción o sobre la depuración periférica ya se ha determinado, siendo 29 uU/ml y 55 uU/ml respectivamente (concentración plasmática media 65 uU/ml).

De todos los efectos conocidos de la insulina, su acción sobre la depuración

de la glucosa en la periferie es el menos sensible, y éste aspecto es el que ha recibido mayor atención en relación a la respuesta al estrés.

Está demostrado que el efecto periférico de la insulina es evidente solo a altas concentraciones y que el control primario de la glucosa plasmática se ejerce por los cambios en la tasa de su producción. El cerebro y los eritrocitos la emplean en forma obligada, y el proceso de su captura es independiente de la acción de la insulina. El cerebro depende de la glucosa debido a la incapacidad de los ácidos grasos de cruzar la barrera hemato-encefálica; y los eritrocitos se basan de la glucólisis para su producción de ATP ya que carecen de mitocondrias. Los requerimientos metabólicos de ambos son relativamente constantes. Otros tejidos como la piel, los pulmones y en forma importante el tejido lesionado son también "insulino-dependientes". El músculo y la grasa son los tejidos más importantes en la captura de glucosa estimulada por la insulina. Sin embargo, el nivel de glucosa debe de elevarse antes de que éstos tejidos comiencen a capturarla. Una vez que el nivel sérico de glucosa se ha elevado lo suficiente para que su captura sea máxima, independiente de la insulina, a nivel de todos los tejidos, recién el músculo y la grasa comienzan a ser importantes en su depuración. Los incrementos pequeños de la concentración de glucosa o de insulina incrementan rápidamente la captura del azúcar por el tejido adiposo y el muscular. Sin embargo, en estado basal, ninguno de los dos tejidos se encuentran involucrados en forma importante en la depuración de la glucosa. Este hecho explica la falta de un efecto importante de la insulina, a nivel periférico, en la captura de la glucosa cuando la gluцемia se encuentra en bajos niveles.[26,27,28]

METABOLISMO DE LOS LIPIDOS

INTRODUCCION

Los lípidos del organismo de los mamíferos son metabólicamente importantes, y entre ellos se encuentran los triglicéridos (grasas neutras), los fosfolípidos y los esteroides, junto a los productos de su degradación como son los ácidos grasos libres, el glicerol y los cuerpos cetónicos.

Durante mucho tiempo se consideró a los lípidos tisulares como reservorios inactivos de material calorígeno, a los que se recurría solo en situaciones de falta de aporte calórico, pero Schönheiner y Rittenberg demostraron la dinámica de la grasa corporal, concepto que forma la base de la comprensión actual sobre el metabolismo de los lípidos.

La grasa, como forma principal de reserva energética corporal, tiene ventajas sobre los glúcidos. Su valor calórico es dos veces mayor (9,3 Kcal/g), y para su almacenamiento se encuentra asociado a menor cantidad de agua. Por lo tanto, la grasa es la forma más concentrada de reserva energética potencial.

Es esencial una cantidad mínima de grasa en la dieta para proveer el suministro adecuado de ciertos Ac. Gr. poliinsaturados (ácidos grasos esenciales como por ejemplo el ácido araquidónico) y de vitaminas liposolubles, que no pueden ser sintetizadas en cantidades adecuadas para el óptimo funcionamiento del organismo.[15,18]

OXIDACION DE LAS GRASAS

Los triglicéridos, antes de proseguir su catabolismo, son hidrolizados previamente por las lipasas hasta ácidos grasos libres (AGL) y glicerol. Esta hidrólisis en su mayor parte ocurre en el tejido adiposo, de donde se liberan AGL hacia el plasma. Muchos tejidos, entre ellos el hígado, riñón, corazón, pulmón, testículo, encéfalo y el tejido adiposo tienen la facilidad de oxidar a los ácidos grasos de cadena larga. El empleo del glicerol depende de la presencia de la enzima activante la glicerolcinasas en el tejido. Dicha enzima existe en cantidades significativas en el hígado, riñón, intestino, tejido adiposo y pardo y en la glándula mamaria lactante.[19]

OXIDACION DE LOS ACIDOS GRASOS

La oxidación completa de los AGL hasta CO_2 y H_2O se efectúa de manera gradual por modificaciones químicas a nivel del segundo carbono después del

que presenta el grupo carboxilo (-COOH), o sea en el carbono beta, por lo que éstas modificaciones han sido denominadas "Beta-oxidación de Knoop" por ser éste el nombre del investigador que por vez primera propuso que los ácidos grasos debían de ser catalizados, en forma fisiológica, por ésta vía oxidativa.

Actualmente, se reconoce a la beta-oxidación como el camino principal por el cual los AGL son oxidados.

Varias enzimas conocidas colectivamente como el complejo "oxidasa de los AGL" se encuentran en las mitocondrias, muy relacionadas con las enzimas de la cadena respiratoria. Estas catalizan la oxidación de los AGL hasta acetil-CoA y el sistema está acoplado a la fosforilación del ADP a ATP.

1. El paso inicial del metabolismo de un ácido graso entraña la reacción con ATP y formación de un intermediario activo. Este es el único paso en la degradación completa que requiere de energía del ATP. En presencia de éste y la CoA, la enzima tiocinasa cataliza la conversión de ácido graso libre a "ácido graso activo" o acilo-CoA. Se han descubierto varias tiocinasas, cada una específica para los ácidos grasos de diferente longitud de cadena. Además, existe una variedad mitocondrial cuyo requerimiento solo es satisfecho por el GTP. En el proceso se pierde una molécula de agua y el ATP se convierte en AMP y pirofosfato. La agrupación acilo-CoA tiene una unión tio-éster o sea el equivalente a un enlace macroérgico. Por la presencia en los tejidos de una pirofosfatasa que rompe al PPI en dos Pi, durante la activación de los AGL se pierden dos enlaces de alta energía, puesto que el ATP se transforma en AMP y dos moléculas de fósforo inorgánico. Para reponer el ATP es necesario aplicar la energía equivalente a dos uniones macroérgicas de fosfato.

2. Después de la formación del acilo-CoA, se desprenden dos átomos de hidrógeno en posición alfa-beta por acción de la enzima acilo-CoA deshidrogenasa produciendo la acilo-alfa,beta-insaturado-CoA. Las deshidrogenasa tiene como coenzima al FAD cuya reoxidación en la cadena respiratoria requiere la mediación de otra flavoproteína de transferencia de electrones (FTE).

3. Al enlace no saturado se añade una molécula de agua formándose un compuesto beta-hidroxiacilo-CoA. Esta reacción es catalizada por la enzima enqilhidrasa (crotonasa).

4. Una segunda deshidrogenación en posición beta catalizada por la beta-hidroxiacilo-CoA deshidrogenasa, convierte al derivado beta-hidroxiado en el compuesto beta-cetoacilo-CoA correspondiente. En éste caso, el NAD⁺ es la coenzima implicada en la deshidrogenación.

La membrana interna de las mitocondrias es impermeable a los grupos acilo activados. Los AG de cadena larga se sintetizan en la fracción extramitocondrial y no pueden penetrar en ella para ser oxidadas, a menos que esté presente la carnitina pero, ella misma no penetra en la mitocondria; la acción de la enzima carnitina-palmitil-acil-transferasa presenta dos moléculas: la I fuera de la mitocondria y la II dentro de ella, permite que los grupos acilo de cadena larga penetren a las mitocondrias y tengan acceso al sistema enzimático de la beta-oxidación. Esta enzima es una molécula compleja de peso molecular aproximado de 69.200 u.m.a., y puede ser afectada por muchos factores, entre ellos el glucagon que aumenta su concentración. Fig:13[18,24]

CETOGENESIS

El principal órgano cetogénico es el hígado y los precursores más importantes de los cuerpos cetónicos son los ácidos grasos, en especial los de cadena larga.

El acetoacetato (AcAc) y el beta-hidroxiacético (BOHB) son los cuerpos cetónicos más importantes, y pueden ser interconvertidos por una reacción de óxido-reducción con NAD^+ y NADH como cofactores. La enzima encargada es la beta-hidroxiacético deshidrogenasa y está localizada en el lado interno de la mitocondria, a diferencia de la deshidrogenasa láctica que se encuentra en el citosol. Así, la relación BOHB/AcAc refleja la relación NADH/NAD^+ mitocondrial y la relación lactato/piruvato refleja dicha relación pero a nivel del citosol. El tercer cuerpo cetónico la acetona es un producto no enzimático de la descarboxilación del AcAc, aunque su producción puede ser catalizada enzimáticamente. La producción de la acetona, está determinada por la concentración de AcAc y de la duración de su elevación, por ello la presencia de acetona indica cetoacidosis severa. Reichard y cols., han demostrado recientemente que alrededor de 1/3 del AcAc producido es descarboxilado a acetona y, sorprendentemente alrededor de los 2/3 de la acetona se recuperan como glucosa. Aunque ésta ruta de conversión de los ácidos grasos a AcAc, acetona y a glucosa es un circuito único, puede tener papel importante durante el ayuno prolongado en los humanos.

El AcAc y el BOHB son producidos en cantidades similares, principalmente por el hígado, ningún otro tejido lo produce en monto considerable. El músculo y los riñones lo forman en pequeña cantidad y en forma ocasional.[30,31]

Es abundante la literatura sobre los mecanismos de regulación de los cuerpos cetónicos. En general enfocan dos aspectos: uno es su control por la producción de la acetil-CoA y el otro enfoca la disponibilidad del oxalacetato. La

tasa máxima de producción de acetil-CoA hepática a partir de los ácidos grasos acoplada a la cetogénesis se encuentra relacionada con la demanda de ATP en el hígado. Berry y cols., concluyeron que la actividad del ciclo de Krebs se encuentra acoplada estrechamente a la síntesis de ATP, mientras que la generación de acetil-CoA a partir de los ácidos grasos no lo está.

Otro aspecto importante es la situación hormonal del funcionamiento hepático: el estado "bajo en insulina" se caracteriza por gluconeogénesis, lipólisis y cetogénesis; y el estado "alto en insulina" por glucólisis y lipogénesis. En el primer estado la energía se aporta por la beta-oxidación de los AG y, en el segundo, el ciclo de Krebs es el encargado de la producción energética. La única excepción a ésta regla es cuando se ingieren proteínas sin un aporte adecuado de carbohidratos. Fig: 14[18,19,20,24,29]

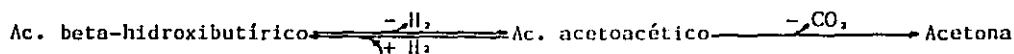


Fig: 14. INTERCONVERSION DE LOS CUERPOS CETONICOS
(explicación en el texto)

BIOSINTESIS DE LOS LIPIDOS

Síntesis de los ácidos grasos: Existen dos grandes vías para la formación de los ácidos grasos: la vía mitocondrial y la vía extramitocondrial. La primera es la inversa de la beta-oxidación con algunas modificaciones, y es la responsable del alargamiento de los ácidos grasos existentes de moderada longitud de cadena. La segunda vía, es radicalmente diferente y altamente activa, es responsable de la síntesis completa de palmitato a partir del acetil-CoA. Este mecanismo también llamado vía citoplasmática o soluble se encuentra en la fracción soluble de las células de muchos tejidos incluyendo al hígado, riñones, pulmones, encéfalo, glándula mamaria y tejido adiposo.[18,19]

REGULACION DEL METABOLISMO DE LOS LIPIDOS

La grasa exógena o los quilomicrones naturales provenientes de la absorción intestinal son depurados de la circulación sanguínea por la actividad de la enzima lipoprotein-lipasa. La tasa limitante de la depuración es la hidrólisis de las proteínas circulantes unidas a triglicéridos. La reacción la efectúa la lipoprotein-lipasa. El proceso enzimático ocurre en o muy cerca de las células endoteliales de los capilares, principalmente de los músculos y de los adipocitos.

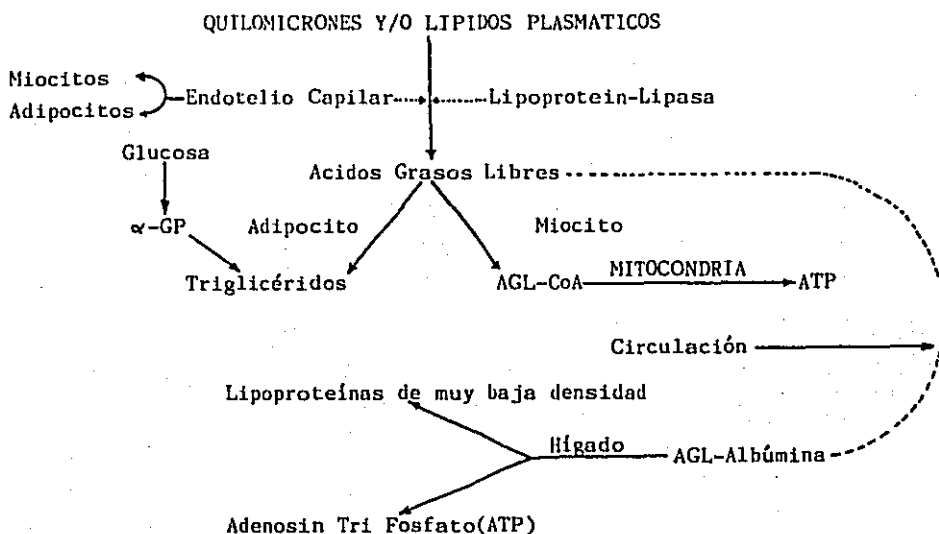


Fig: 15. METABOLISMO DE LOS LIPIDOS PLASMATICOS
(de: JPEN,8:5,563-567,1984)

Los AG liberados ingresan al músculo y al tejido graso, en éste último son reesterificados a triglicéridos y así son almacenados, mientras que en el músculo pueden ser fácilmente oxidados para la provisión de energía. Además, una apreciable proporción de los AG liberados recirculan unidos a la albúmina, causando incremento en los niveles de los AGL. Ellos son fuente energética en el hígado, corazón y el músculo esquelético. A nivel hepático los AGL circulantes son también convertidos en lipoproteínas de muy baja densidad (o pre-beta-lipoproteínas) y secretadas hacia el plasma.

En los adultos normales, la tasa máxima de eliminación de los lípidos es alrededor de 3,8 gr/Kgr/24, que corresponden a 35 Kcal/Kgr/hr. Posterior al trauma, ésta tasa se incrementa hasta 250%, y durante los períodos de ayuno hasta un 50% adicional.

MOVILIZACION DE LOS LIPIDOS Y LIPOLISIS

En una persona normal los lípidos constituyen más del 80% de la reserva energética. Los depósitos de lípidos, junto a los escasos de carbohidratos, pueden ser casi completamente depletados sin detrimento para el individuo. Por lo contrario, el empleo de las proteínas es limitado y aún su depleción

moderada puede afectar adversamente a un organismo expuesto al estrés. En consecuencia, cuando un individuo debe de emplear sus reservas endógenas como fuente energética, fisiológicamente los lípidos son, la mejor fuente. La mayoría de los tejidos, incluyendo al corazón y al músculo esquelético, pueden emplear fácilmente a los AG como sustratos energéticos para su metabolismo. El empleo de ellos por éstos tejidos preserva los limitados depósitos de carbohidratos para su empleo por el SNC y los eritrocitos. Adicionalmente, el cerebro, en forma parcial, puede adaptarse al empleo de cuerpos cetónicos (AcAc, BOHB) como material energético. Así en los estadios post-absorción la grasa puede aportar aproximadamente un 50 a 60% de la energía. Si la privación de alimentos continúa por varios días los mecanismos adaptativos se encargan de que un mayor porcentaje de energía sea derivada de la grasa y por consiguiente se ahorra el nitrógeno corporal. El grado con el cual un organismo es capaz de tolerar el ayuno está relacionado con su capacidad para emplear los lípidos como fuente energética. Teóricamente una respuesta óptima al estrés involucra la movilización y el empleo de lípidos. El patrón de respuesta hormonal ante el estrés: incremento de epinefrina, glucagon y cortisol, y la disminución de la insulina así como el incremento de la actividad del SNC favorecen la movilización de los lípidos de sus depósitos. Sin embargo, simultáneamente pueden actuar otros factores que tienden a suprimir la movilización o el empleo de la grasa. Por ejemplo, la elevación de la concentración del lactato a partir de la glucólisis muscular (estimulada por efecto catecólico), estimula la reesterificación en el interior de los adipocitos, lo que significa, que aún si la lipólisis se encuentra estimulada, el monto de AG liberados hacia el plasma no es el reflejo real de la magnitud de dicha estimulación. La disminución en el pH inhibe la lipólisis y, pueden inhibir directamente la lipólisis y estimular la reesterificación al incrementar la tasa de formación del alfa-glicerofosfato, el cual forma el esqueleto sobre el que se unen los triglicéridos. Además, es necesario el flujo sanguíneo adecuado en el tejido adiposo para que el incremento de la tasa lipolítica se refleje por el aumento en la movilización de los AG. El estímulo simpático disminuye el flujo sanguíneo sobre los depósitos de grasa y sustituye así otro impedimento potencial para la movilización de los lípidos en la sepsis o en el trauma. En suma, la respuesta general al estrés parece favorecer la movilización de los lípidos de sus depósitos para su empleo en forma de AG pero, muchos factores interactúan para determinar si ésta respuesta realmente ocurrirá.

Una vez que los AGL han sido capturados por los tejidos, su eventual oxida-

ción completa tiene muchos sitios de control que pueden ser influidos por estados de estrés. La falta de oxígeno es una obvia consideración, entre otros se incluye la actividad de la enzima sintetasa de acil-CoA, la disponibilidad de CoA-SH y la adecuada disponibilidad de la carnitina para la translocación de los acil-CoA hacia la mitocondria para su respectiva oxidación.[25,29,30,31, 32,33]

METABOLISMO DE LAS PROTEINAS Y DE LOS AMINOACIDOS

Muchos aminoácidos tienen vías metabólicas específicas, sin embargo, existen reacciones generales a ellos. La vía catabólica de los aminoácidos con pocas excepciones, comienza con la separación del grupo amino del esqueleto carbonado de la molécula, convirtiéndose en alfa-cetoácidos. El residuo desaminado puede ser oxidado completamente o entrar a formar parte de los hidratos de carbono o de las grasas. El grupo amino puede eliminarse directamente por vía renal, formar productos de desecho como la urea o participar en la síntesis de compuestos nitrogenados (purinas, pirimidinas, aminoácidos, etc.).

Dentro de las reacciones metabólicas comunes a los AA se considera a:

- * Desaminación oxidativa
- * Transaminación
- * Transdesaminación
- * Transamidación

[*:18,19]

METABOLISMO DE LOS AMINOACIDOS DE CADENA RAMIFICADA

Los tres AA de cadena ramificada: leucina, isoleucina y valina son esenciales y, en conjunto representan alrededor del 40% del requerimiento diario mínimo de los AA esenciales. Sus concentraciones se afectan fuertemente por la ingesta proteica o calórica. En contraste a otros AA el ayuno de 24 horas eleva sus niveles. La mayor parte de los AA de cadena ramificada arteriales son extraídos a nivel muscular, a diferencia de la marcada captura del resto de los AA por parte del hígado.

Los AA de cadena ramificada, principalmente la leucina, son importantes no solo como sustratos para la síntesis proteica, sino también como fuente calórica a nivel periférico y también como reguladores del metabolismo proteico.

Función metabólica de los AA de cadena ramificada

- * Fuente calórica periférica
- * "Anabólica": promoviendo la síntesis proteica
 - Disminución del metabolismo
 - Incremento de la síntesis
- * Normaliza el metabolismo de los neurotransmisores cerebrales

El catabolismo de la mayoría de los AA para la producción calórica ocurre

predominantemente en el hígado. Los AA de cadena ramificada también se metabolizan en los tejidos extrahepáticos. En la siguiente figura se muestran las dos enzimas iniciales en la vía catabólica de los AA de cadena ramificada y son, en orden, una transaminasa, que produce un alfa-cetoácido de cadena ramificada y una deshidrogenasa.

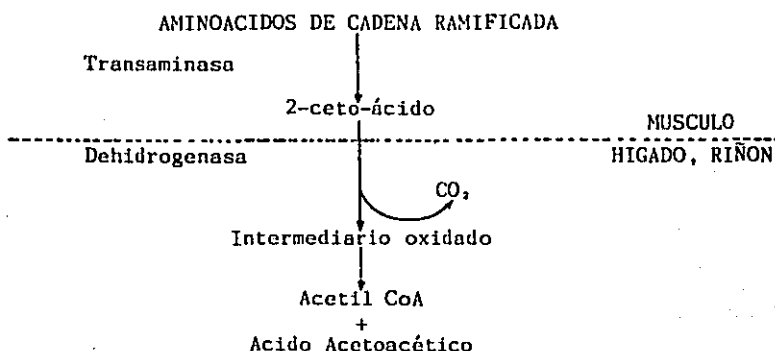


Fig: 16. CATABOLISMO DE LOS AMINOACIDOS DE CADENA RAMIFICADA
(de: Advances in Clinical Nutrition I. Johnston 82)

Las transaminasas de los AA de cadena ramificada se encuentran distribuidas predominantemente en el músculo esquelético y en menor grado en el hígado. En contraste, las deshidrogenasas de los AA de cadena ramificada (paso irreversible en su catabolismo) se localizan en mayor proporción en el hígado y otros tejidos que en el músculo. Así, el paso limitante a nivel hepático y renal es la transaminasa, mientras que en el músculo esquelético es la deshidrogenasa.

La actividad de éstas dos enzimas responde a gran variedad de factores biológicos: alteraciones en la dieta, ritmo circadiano, diferencias entre distintos grupos musculares, diferencias de especie y factores hormonales. El ayuno incrementa su oxidación completa a nivel del ciclo de Krebs. En la periferie, en situaciones tales como: ejercicio, estrés por lesión, sepsis o enfermedades hepáticas constituyen una importante fuente calórica.

Odessey y cols., propusieron que en el ayuno celular el "ciclo alanina-AA de cadena ramificada" aporta calorías a los tejidos periféricos. En esta secuencia dichos AA (de origen esplácnico) son la fuente del nitrógeno para la síntesis de alanina y/o glutamina, luego se liberan al torrente sanguíneo para la gluconeogénesis hepática (o renal en el caso de la glutamina).[24,25, 34,35]

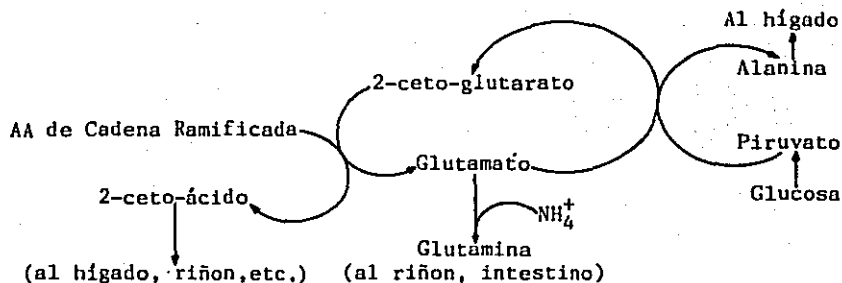


Fig: 17. VIAS DEL NITROGENO DE LOS AA DE CADENA RAMIFICADA A NIVEL MUSCULAR (de: Advances in Clinical Nutrition I. Johnston 1ª Ed. 1982)

El aporte exógeno de AA de cadena ramificada puede incrementar la producción de alanina (asumiendo que se aporta una cantidad adecuada de glucosa que sirve de fuente para el esqueleto carbonado del piruvato). Por lo tanto, la alanina es un indicador del incremento en la oxidación de los AA de cadena ramificada. También, el aporte exógeno de ellos disminuye la liberación de alanina (indicador del catabolismo proteico), por lo que tienen un efecto ahorrador de proteínas.[34,35]

ELIMINACION DEL NITROGENO

El amoníaco procedente de los AA puede ser empleado en las reacciones de transaminación de los cetoácidos o ser excretado como una sal de amonio, particularmente en los estados de acidosis metabólica. Sin embargo, la mayor parte del nitrógeno amoniacal formado en el metabolismo de los AA es eliminado del cuerpo en forma de urea. Y, es el producto final del metabolismo proteico en los humanos. Los detalles de la vía metabólica se describirán más adelante.

Aunque el amoníaco puede ser producido constantemente en los tejidos por reacciones que incluyen el metabolismo de los AA, normalmente solo pequeñas concentraciones de amoníaco se pueden demostrar en la sangre; esto se logra debido a la rapidez con la que el amoníaco se remueve por cualquiera de las siguientes vías:

1. Vías que entrañan síntesis: El amoníaco puede emplearse en reacciones anabólicas. Por ej: en la aminación por reducción de los alfa-cetoácidos, para formar nuevos AA, es decir una inversión de las reacciones de transdesaminación. La síntesis de purinas, pirimidinas y porfirinas exige la participación del amoníaco.

2. Excreción directa: Cuando la desaminación ocurre en el riñón y no existe necesidad fisiológica inmediata de su síntesis, el amoníaco liberado puede excretarse directamente por la orina. El amoníaco urinario representa el 40% del total excretado.

3. Vía de la glutamina: Los riñones poseen diversas vías metabólicas que pueden producir NH_3 , a partir de la glutamina. Las localizadas en el citosol incluyen:

a. Vía de la glutaminasa independiente de fosfato, actualmente se acepta que ésta vía refleja la capacidad de la enzima gamma-glutamiltanspeptidasa.

b. La vía de la glutaminasa II, que emplea las enzimas glutamino-cetoácidoaminotransferasa (GKA) y la w-amidasa para transaminar un cetoácido a su respectivo AA y producir en forma concomitante NH_3 , y alfa-cetoglutarato (α -KG).

c. La vía de la glutamino sintetasa que en realidad invierte el proceso de producción convirtiendo el glutamato y el NH_3 , nuevamente en glutamina.

La vía de la glutaminasa dependiente de fosfato es la más importante por lo cual se describe ampliamente. Consiste de una secuencia de reacciones que convierten finalmente los dos nitrógenos de la glutamina en moléculas de NH_3 , y la estructura pentacarbónica de la glutamina en glucosa y CO_2 , o ambos. Los sitios para la regulación pueden ser a nivel de diversas enzimas de la vía. Después de penetrar en las células del túbulo renal por transporte en las membranas luminal y antiluminal, la glutamina debe de atravesar la membrana mitocondrial, proceso que al parecer se lleva a cabo por un transportador específico. En seguida, la glutamina intramitocondrial es desaminada por la glutaminasa, enzima dependiente de fosfato (PDG), produciendo NH_3 , y glutamato. La actividad de la PDG se puede alterar por diversas sustancias incluyendo al fosfato, y el proceso de activación aparentemente incluye la dimerización de la enzima. Al parecer durante la entrada de la glutamina a la mitocondria y en la actividad de la glutaminasa dependiente de fosfato se establecen los sitios de regulación, aunque no existe aún acuerdo general sobre la importancia relativa de cada proceso. Fig: 18[36]

La siguiente etapa en la vía es el metabolismo del glutamato. La conversión a alfa-cetoglutarato es vital porque el glutamato es el producto final inhibidor de la PDG. El glutamato se metaboliza a alfa-KG por dos vías alternativas:

1. Transaminación del oxalacetato con producción concomitante de alfa-KG y aspartato, reacción catalizada por la enzima glutamato-oxalacetato transaminasa (GOT).

2. La desaminación del glutamato por la enzima glutamato deshidrogenasa (GDH) la convierte en NH_3 y α -KG.

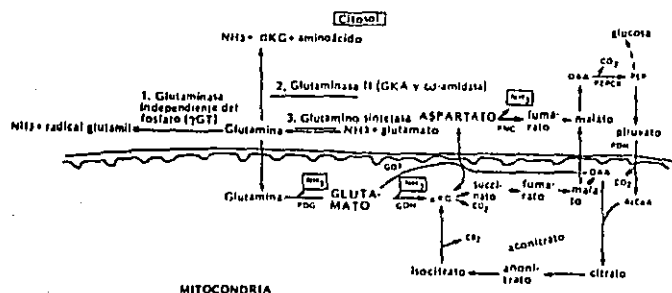


Fig: 18. VIAS RENALES DE PRODUCCION DE NH_3 ,
(de: Ref: 36)

El aspartato procedente de la reacción de transaminación, puede ser convertido en el citosol por el ciclo de la purina-nucleótido en NH_3 y fumarato.

La conversión del glutamato en α -KG por la GDH incluye la conversión simultánea del NAD a su forma reducida NADH y la proporción entre los nucleótidos de la piridina oxidados y los reducidos parecen influir de manera importante en ésta etapa. Además, puede ser modulada por el pH y la concentración de α -KG. En consecuencia, la desaminación del glutamato es una etapa crítica en la vía y puede ser regulada por diversos mecanismos.

El α -KG es descarboxilado por la α -KG deshidrogenasa a succinato, metabolito de 4 carbonos. El succinato prosigue a través del ciclo del ácido cítrico a malato, que es llevado por un transportador específico fuera de la mitocondria hacia el citosol. La regulación también puede llevarse a cabo en ésta etapa de salida.

Al parecer, el paso crítico en la regulación final es la descarboxilación del oxalacetato a fosfoenolpiruvato (PEP), catalizada por la enzima fosfoenolpiruvato carboxicinas (PEPCK). El PEP puede seguir la vía gluconeogénica para formar glucosa o ser convertida en piruvato, lo que permite el reingreso del residuo de carbono al ciclo de Krebs para metabolizarlo hasta CO_2 . En cualesquiera de los casos (formación de glucosa o CO_2), la conversión de éstas moléculas neutras finales consume dos iones hidrógeno generados en el paso de la conversión de la glutamina a α -KG. Para que la producción del amoníaco a partir de la glutamina facilite la eliminación neta de ácido del organismo

es esencial que se neutralicen éstos dos iones de hidrógeno. Cabe mencionar que la unión reguladora entre el metabolismo renal de los carbohidrato y del amoníaco es la formación de PEP, más bién que la producción final de glucosa. Asimismo existen pruebas que indican que la etapa catalizada por la PEPCCK tiene un papel esencial en la regulación de la formación de amoníaco.

Además de las múltiples vías metabólicas y la diversidad de los sitios posibles de regulación en la vía PDG, la producción de amoníaco se complica más por los sitios específicos de la nefrona en que acontece la amionogénesis y su regulación.[36]

4. Formación de la urea: Ciclo de Krebs-Henseleit: Si la desaminación ocurre en el hígado (la mayor parte de éstas reacciones se efectúan a éste nivel), el amoníaco puede ingresar al "ciclo de la ornitina" y formar urea.

Exceptuando al encéfalo se cree que el hígado es el único órgano capaz de formar urea. En los animales con hepatectomía total, el contenido urinario y sanguíneo de urea declina muy pronto y el amoníaco y los AA se elevan concomitantemente. Krebs y Henseleit estudiaron la formación de urea y formularon una serie de reacciones para explicar su producción en el hígado. Se encontró que tres AA participan de las reacciones y son la: ornitina, citrulina y la arginina, así como la enzima arginasa que solo existe en el hígado y que se encarga de la hidrólisis final de la arginina a ornitina y urea.

La síntesis de urea implica los siguientes pasos:

a. Formación de citrulina a partir de la ornitina: La citrulina se forma por la adición de CO_2 y NH_3 a la ornitina. Esto se lleva a cabo mediante el proceso de transcarbamilación, y la fuente activa de bióxido de carbono y de amoníaco es el fosfato de carbamilo, formado por una reacción entre el CO_2 , NH_3 y el ATP. Como activadores en ésta reacción se requieren el ácido N-acetilglutámico (AAG) y la biotina. El AAG no funciona como sustrato, sino que, al actuar en el sitio no catalítico de la enzima carbamifosfato sintetasa, mantiene a ésta estructuralmente activa. Primero el CO_2 es activado en el sistema carbamifosfato sintetasa antes de que el amoníaco pueda participar en la reacción. El AAG, el ATP y la biotina se requieren para la activación. Finalmente, el CO_2 activo reacciona con la glutamina como donador amigénico para formar, en presencia del AAG y de ATP, el fosfato de carbamilo; las reacciones son catalizadas por la carbamifosfato sintetasa.

El grupo carbamilo del fosfato de carbamilo es transferido posteriormente a la ornitina para formar la citrulina, que en realidad corresponde a la carba-

mil-ornitina. Fig: 19[37,38]

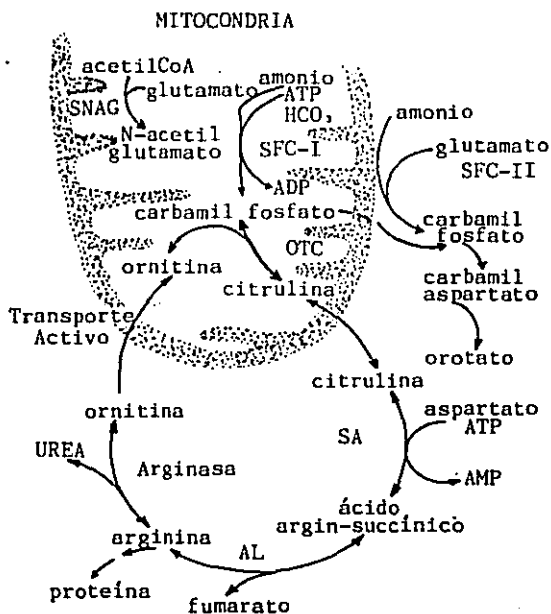


Fig: 19. Ciclo de la Urea y reacciones mitocondriales y citoplasmáticas. SNAG: sintetasa A-acetil glutámica; SFC: sintetasa de fosfato de carbamilo; AL: argininasuc cinasa; OTC: ornitina transcarbamilasa; SA: sintetasa arginsuccinica. (de Hiperamonemia. Curr Probl Ped 14:1-69, 1984)

b. Conversión de la citrulina a arginina: Incluye dos pasos intermedios:

* Condensación de la citrulina con el ácido aspártico en presencia de la enzima condensante, ATP y de magnesio para formar el ácido argininsuccínico.

* El ácido formado se fragmenta en arginina y ácido fumárico, éste último es convertido posteriormente en el ciclo de Krebs en los ácidos málico y oxalacético, los cuales regeneran el ácido aspártico por transaminación. Este segundo paso es catalizado por la enzima argininsuccinasa.

c. Formación de la urea a partir de la arginina: Una vez formada la arginina, es hidrolizada a nivel hepático produciendo ornitina y urea, el paso es catalizado por la enzima arginasa.

En consecuencia, cinco AA intervienen directamente en la formación de

la urea: ác. aspártico, ác. N-acetilglutámico, arginina, ornitina y la citrulina. El ácido aspártico puede obtenerse por la transaminación del ácido oxalacético, mientras que la ornitina y la citrulina se originan a partir de la arginina. Se ha demostrado que éste último AA Aumenta notablemente la producción de urea y al mismo tiempo disminuye la cantidad del amoníaco sanguíneo. Fig: 19[15,18, 19,37,38]

Otras vías catabólicas de los aminoácidos incluyen a la cetogénesis y a la gluconeogénesis.

METABOLISMO DE LAS PURINAS

El catabolismo de las purinas como el ATP, implica la pérdida gradual del fosfato de alta energía y su conversión en adenosina, molécula que es degradada por la enzima adenosin deaminasa a inosina, la cual se transforma en hipoxantina al actuar sobre ella la enzima nucleósido fosforilasa. La hipoxantina, en aerobiosis, es degradada por la xantinaoxidasa que la convierte en xantina, que nuevamente es oxidada por la misma enzima, produciendo como metabolito final del catabolismo purínico, en la especie humana, al ácido úrico. Fig:20 . [18,39,40]

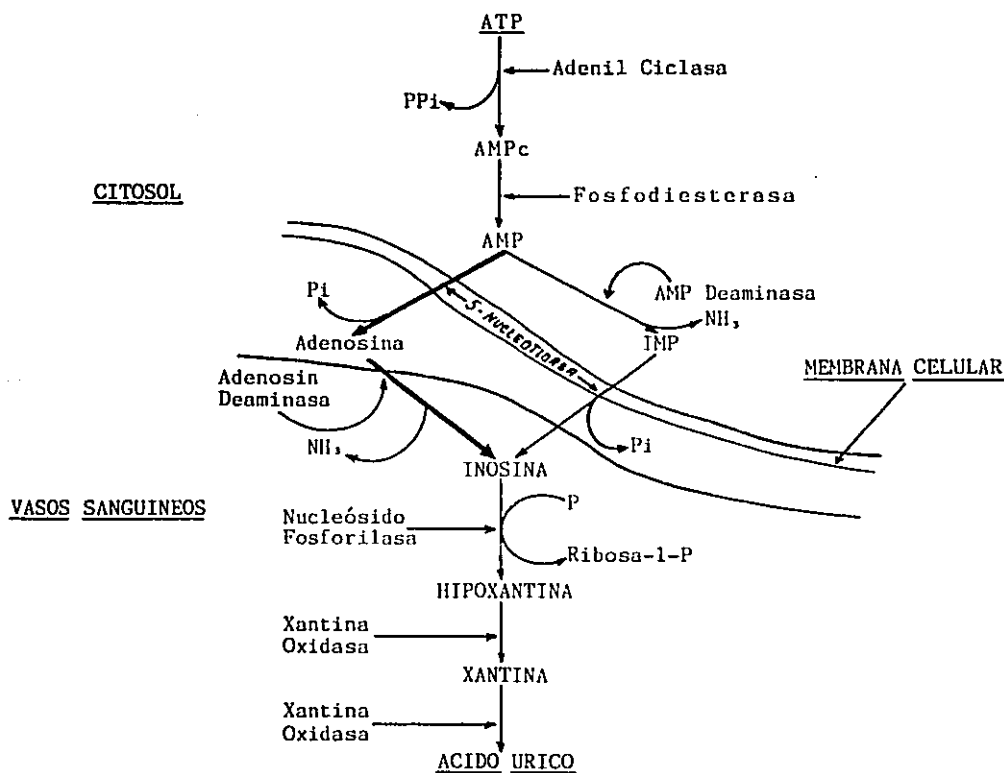


Fig: 20. VIA DE LA DEGRADACION METABOLICA DEL ATP
(de: The Am J Card. Vol 52, July 20 1983)

2ª PARTE

COMPORTAMIENTO METABOLICO EN DIVERSAS PATOLOGIAS

ACIDOSIS LACTICA

DEFINICION

La acidosis láctica es una acidosis metabólica causada por la acumulación de lactato e ión hidrógeno, y se acompaña de aumento en la concentración sanguínea de lactato. Para el diagnóstico de acidosis láctica no se ha fijado la magnitud de la acidosis, definida por el pH, y la concentración de lactato requeridos; existen valores, pero no un acuerdo general en ellos. El pH más alto y el lactato más bajo aún compatibles con acidosis láctica que han sido reportados en la literatura son: 7,37 y 1,3 mMol/l respectivamente. Los criterios para la concentración del lactato sanguíneo en la acidosis láctica incluyen: "una elevación sanguínea de lactato" mayor de 1,3 mMol/l, mayor de 2,0 y de 7,0, mientras que para el pH incluyen valores por debajo de 7,37 y 7,30. La acidosis láctica no debe ser diagnosticada si los cambios en la concentración de lactato o en el pH son mínimos. En la acidosis debida a insuficiencia circulatoria o a choque séptico, una concentración del lactato $\geq 4,0$ se asocia a incremento importante en la mortalidad. Sugieren el diagnóstico probable de acidosis láctica las concentraciones de 4 o 5 mMol/l de lactato, con disminución simultánea y comparable en la concentración del bicarbonato plasmático éstos valores, además se asocian al aumento en la concentración del ión hidrógeno arterial (pH).

Debe de recordarse que los términos de lactato y ácido láctico no son sinónimos. Lactato es el residuo aniónico del ácido láctico previamente amortiguado. La concentración sanguínea por encima de los rangos normales indican una alteración en la producción de ácido láctico, de su empleo o de ambos. Según las circunstancias, la hiperlactatemia se asocia con acidemia, alcalemia o equilibrio ácido-base. [41,42,43,46]

CONSIDERACIONES GENERALES

El ácido láctico es un ácido fuerte (pKa: 3,8) que se encuentra completamente disociado a pH corporal. Por cada miliequivalente de ácido láctico producido se libera un miliequivalente del ión hidrógeno y uno del anión lactato.

El ión hidrógeno reduce la concentración del bicarbonato y de la reserva total de base. El ácido pirúvico, precursor inmediato del ácido láctico y con el que se encuentra en equilibrio, es también un ácido orgánico fuerte y se encuentra 20 veces más disociado a pH corporal que el ácido láctico. El ácido pirúvico normalmente se halla en concentraciones pequeñas, aproximadamente el 10% del ácido láctico y no contribuye de manera importante al desarrollo

de la acidosis metabólica, aún en la acidosis láctica, en la cual su concentración es menor de 3 mMol/l. Aún más, la conversión del piruvato a lactato emplea dos iones hidrógeno, y se la puede considerar como una reacción de protección en la cual la acidosis es minimizada o amortiguada.[41,42]

METABOLISMO DEL ACIDO LACTICO

El lactato es un producto metabólico de la glucólisis y se encuentra en equilibrio con el piruvato en virtud de la reacción catalizada por la enzima láctico deshidrogenasa, tal como se muestra en la siguiente reacción:



Esta reacción enzimática tiene lugar en el citosol.

En la siguiente reacción la concentración de lactato está determinada por la concentración de piruvato, NADH, NAD⁺ e ión Hidrógeno:

$$\text{LACTATO} = K \frac{[\text{Piruvato}^-] [\text{NADH}] [\text{H}^+]}{[\text{NAD}^+]}$$

Donde "K" es la constante de equilibrio de la reacción y NADH y NAD⁺ representan la concentración de los piridin nucleótidos libres: reducido y oxidado. La proporción NADH/NAD⁺ refleja el estado redox del citosol celular, y se considera a la concentración del piruvato como el determinante más importante del nivel del lactato. La relación lactato/piruvato (L/P) se puede simplificar, en base a la anterior ecuación, de la siguiente manera:

$$\text{L/P} = K \frac{[\text{NADH}] [\text{H}^+]}{[\text{NAD}^+]}$$

La relación NADH/NAD⁺ refleja el estado redox del citosol y está determinada, primariamente, por la función mitocondrial. Aunque la disponibilidad de oxígeno es crítica, no significa que su presencia sea la única determinante del estado redox de la célula, ya que otros factores como la fosforilación oxidativa, el transporte activo, la actividad del ciclo de Krebs y la transferencia mitocondrial de equivalentes reducidos son también importantes. Por lo tanto, las alteraciones en la concentración de NADH, NAD⁺ y en la relación

L/P no solo reflejan la oxigenación tisular. El NADH es generado normalmente durante la glucólisis y es reoxidado a NAD^+ por acción mitocondrial. Cuando la función mitocondrial se encuentra alterada el NADH no es reoxidado, la concentración de ATP disminuye y la generación del piruvato y del lactato se incrementa. Cuando la concentración de ATP disminuye, la enzima que limita la tasa de glucólisis la fosfofructocinasa, se activa produciendo aumento en el flujo de sustratos para el piruvato. La acumulación de NADH y la desviación del estado redox de la célula acelera la conversión del piruvato a lactato. La reoxidación del NADH también se realiza en el citosol por transferencia del ión hidrógeno del NADH al piruvato. El NAD^+ regenerado es empleado por la gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa, esto permite el incremento de la glucólisis. Si la relación NADH/NAD^+ y la concentración del piruvato se mantienen constantes el aumento o la disminución en la concentración del ión hidrógeno, alteran la concentración del lactato y la relación L/P. Sin embargo, los cambios aislados en la concentración del ión hidrógeno no producen cambios significativos en la concentración del lactato, pero pueden alterar marcadamente la relación L/P. Los efectos de la alteración en la concentración del ión hidrógeno sobre las reacciones enzimáticas intracelulares y en el transporte de lactato son más importantes que el efecto sobre la enzima LDH y ellos más que los cambios en la concentración del lactato. La inhibición de la fosfofructocinasa por el ión H^+ disminuye la producción de lactato e inhibe su salida de la célula. El efecto neto de éstos cambios es la disminución del lactato sanguíneo. Además, la fosfofructocinasa se activa concomitantemente, y se incrementan la glucólisis y la producción de lactato, y el transporte de éste último se facilita. El efecto neto es el incremento en la concentración de lactato. En la práctica los cambios que ocurren en la tasa glucolítica y talvéz en el transporte del lactato predominan, y no así los cambios que ocurren en el equilibrio de la reacción catalizada por la enzima LDH. [24,41,42]

La extracción hepática del lactato y su homeostasis también pueden ser influidas por el pH. La captura hepática del lactato disminuye a la par del pH debido a la inhibición de la piruvato carboxilasa, y cuando el pH es 7,0 o menos el hígado se convierte en un órgano productor de lactato. La falta de acidosis láctica como consecuencia de acidosis metabólica severa puede deberse a los mecanismos reguladores del pH intracelular o a la concomitante reducción de la formación del ácido láctico a nivel periférico a causa de la inhibición de la fosfofructocinasa por el pH muscular y de otros tejidos glucolíticos. En éste aspecto, la reducción en la producción periférica de ácido láctico

enmascara la disminución en el empleo del lactato por el hígado, ya que la concentración del lactato sanguíneo no se altera. La acidosis severa (pH menor de 7,1) afecta negativamente la captura del lactato por el riñón, otro órgano importante en el empleo del lactato.

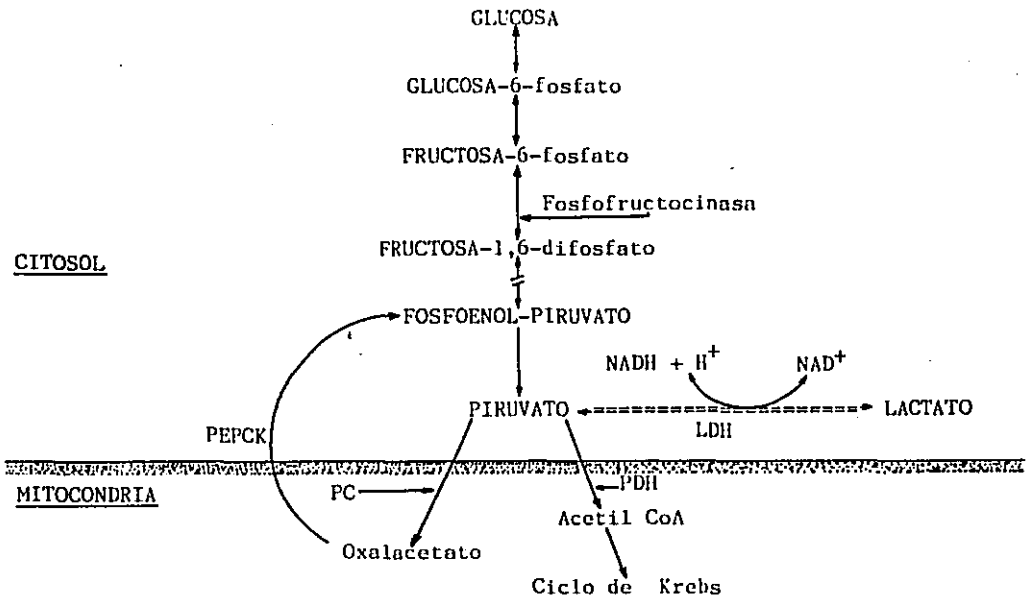


Fig: 21. VIAS DE CONFLUENCIA EN LA REACCION PIRUVATO-LACTATO (de: referencia 42)

El piruvato juega un papel básico en el metabolismo del lactato y los factores que afectan su concentración también repercuten en la homeostasis del lactato. La acidosis láctica puede contemplarse como un desorden en el metabolismo del piruvato, mientras que la hiperlactacidemia sirve como un indicador de éste disturbio.

Es importante el balance entre la síntesis del piruvato y su empleo. La vía glucolítica y la transaminación son las fuentes más importantes del piruvato. Este puede emplearse en dos vías, las cuales dependen de la actividad mitocondrial, del estado redox y de la disponibilidad de ATP. En el tejido adiposo, el cerebro, el músculo y otros el piruvato es metabolizado a acetil-CoA para ser subsecuentemente empleado a través de una reacción catalizada por la enzima piruvato deshidrogenasa (PDH). El NADH es el cofactor en ésta reacción, y si no existe en cantidades suficientes la conversión del piruvato a acetil-CoA

se inhibe, en consecuencia la conversión del lactato se incrementa. La actividad de la PDH es inhibida por el ayuno, la diabetes, y en las situaciones que alteran la oxidación mitocondrial de NADH a NAD^+ . En el hígado y en el riñón el piruvato se emplea predominantemente para la gluconeogénesis. El primer paso y el limitante en ésta secuencia es la conversión del piruvato a oxalacetato y es catalizada por la enzima piruvato carboxilasa que requiere de adecuado aporte de ATP. Así, la alteración en la función mitocondrial interfiere con la reoxidación del NADH, la generación de ATP e influye en la actividad de la PDH, de la piruvato carboxilasa, y también sobre el metabolismo del piruvato, lo que en conjunto ocasiona acumulación del lactato.

Debido a que la concentración del piruvato depende del equilibrio entre la producción y el empleo, no es necesario que la función mitocondrial esté alterada para que se incremente la producción de lactato. La glucólisis rápida inducida por la alcalosis o la insulina puede generar piruvato y NADH más rápido que su empleo y así se asocia con incremento en la formación de lactato.

Otra fuente de piruvato es la transaminación de la alanina a piruvato que ocurre principalmente en el hígado, y la desaminación de la glutamina en los riñones. La producción normal del lactato es de 20 mMol/Kgr/día; la mitad deriva de la glucólisis. Esta producción es enorme considerando que la excreción neta del organismo es de 70 mMol/día. Es importante el empleo del lactato por el organismo; todos los órganos pueden producirlo y consumirlo en condiciones especiales (excepto los eritrocitos que carecen de mitocondrias). En circunstancias normales los principales productores de lactato son los eritrocitos (producen un 25% del total), el cerebro, la piel y el músculo estriado. El ejercicio aumenta mucho la producción por el músculo estriado. En hipoxia y acidosis grave, inclusive, el hígado que normalmente emplea el lactato puede producirlo. El hígado en condiciones normales consume bastante lactato y tiene una capacidad fija para eliminarlo, por lo menos el doble del recambio diario normal. Se estima que el 50% de la producción diaria del lactato es consumida por el hígado y hasta un 35% por el músculo estriado. El riñón además de emplearlo lo elimina por filtración si su concentración plasmática excede de 6 a 10 mMol/l; y si es menor de ésta cifra el riñón lo reabsorbe completamente.

Los estudios con radioisótopos han demostrado que la oxidación del lactato en el ciclo de Krebs (vía del piruvato) consume 2/3 del lactato, el resto se emplea en la gluconeogénesis. El deterioro en su empleo puede originar un acumulo grave del lactato, lo que ocasiona la acidosis láctica.

En resumen, la acidosis láctica es una alteración de la homeostasia de ácidos y bases, y si ésta es grave el pronóstico para el paciente es sombrío.
{41,42,44,45}

ALTERACIONES METABOLICAS DE LA CETOACIDOSIS DIABETICA

La cetoacidosis diabética es complicación frecuente en la Diabetes Mellitus, y es quizá el trastorno ácido base más antiguo del que se tiene registro (Arateus de Cappadocia 81-138 a.C.). Las investigaciones más recientes han conducido al conocimiento de las alteraciones metabólicas que precipitan su aparición. De los muchos efectos de la Diabetes Mellitus descontrolada, dos son de importancia: La alteración en la producción y disposición de la glucosa, que es causa de la diuresis osmótica, la depleción de volumen y de la deshidratación; y la cetosis acelerada que ocasiona la acidosis metabólica. El conocimiento de la cetosis y de la hiperglucemia implica la comprensión de los fenómenos bioquímicos que constituyen la respuesta normal del organismo al ayuno y la inanición. La consecuencia de la inanición intracelular exagerada, como ocurre en ésta patología, es la cetoacidosis. Su patogenia incluye a cuatro sistemas básicos: el tejido adiposo, el hígado, el músculo y el riñón.[49]

ALTERACIONES EN EL METABOLISMO DE LA GLUCOSA Y DE LOS LIPIDOS

En el tejido graso los triglicéridos se hidrolizan continuamente dando una molécula de glicerol y tres de ácidos grasos libres (AGL). Este proceso es modulado por lipasas hormono-sensibles que se activan por la deficiencia no absoluta de insulina y, por la presencia de las hormonas contrareguladoras (glucagon, adrenalina, ACTH y hormona del crecimiento), cuya acción a nivel intracelular está mediada por el incremento en el AMPc. En condiciones normales los AGL son convertidos nuevamente en triglicéridos por esterificación con alfa-glicerofosfato, que deriva de la glucólisis anaerobia, una vez que la insulina ha facilitado el transporte de la glucosa al adipocito. El glicerol no puede recircular aunque exista insulina, ya que la glicerol cinasa, enzima activadora, no existe en el tejido adiposo. Con el déficit de insulina, el glicerol y los AGL salen de los adipocitos a la circulación sistémica y son transportados al hígado.

El glicerol y los AGL, liberados de los depósitos grasos periféricos, son captados por los hepatocitos. El primero es activado con consumo de energía a alfa-glicerofosfato por la glicerolcinasa contenida en el hígado. En pasos siguientes puede ser transformado hasta glucosa mediante la vía de la glucólisis inversa (gluconeogénesis).

Para ingresar a la vía metabólica los AGL previamente deben de activarse a Acil-CoA. Este substrato dispone de dos vías metabólicas: la primera el Acil-

CoA puede esterificarse con alfa-glicerofosfato para formar nuevamente triglicéridos (Tg), ésto es la causa del hígado graso de la cetoacidosis diabética. Los Tg también pueden ser liberados del hígado a la circulación sanguínea, siendo transportadas en forma de lipoproteínas de muy baja densidad y dan el aspecto lechoso al plasma de éstos pacientes. La otra vía es la catabólica, la cual se desarrolla en la mitocondria; ya que el Acil-CoA no puede atravesar la membrana mitocondrial primero se debe trans-esterificar con la carnitina por acción de la enzima palmitiltransferasa I. Después, el éster de la carnitina pasa al interior de la mitocondria por medio de una translocasa, en la mitocondria la esterificación se revierte por la enzima palmitil transferasa II, la cual se encuentra localizada en el lado interno de la membrana mitocondrial, el producto, el Acil-CoA ingresa a la vía catabólica de la beta-oxidación de los AG. En éste proceso se generan: el FADH y el NADH. Este último tiene importancia dentro de los mecanismos de control metabólico de la gluconeogénesis hepática. El producto final de la beta-oxidación es el acetyl-CoA, que puede ingresar a varias vías metabólicas. Una pequeña proporción ingresa al ciclo de Krebs, pero si se produce en exceso, la mayor parte se emplea para la síntesis de cuerpos cetónicos y también en la vía del hidroximetil-glutaril-CoA, producto intermediario en la formación del colesterol. El primer cuerpo cetónico producido por la fusión de dos acetyl-CoA es el acetoacetato; su conversión a beta-hidroxibutírico, el segundo cetoácido, es catalizada por la enzima beta-hidroxibutírico deshidrogenasa, la cual deshidrogena al primero. El equilibrio de ésta reacción favorece la conversión del acetoacetato a beta-hidroxibutírico. Además, debido a la presencia de gran cantidad de NADH, formado durante la beta-oxidación y siendo cofactor donador de protones para la formación del beta-hidroxibutírico, favorece su producción. Esto ocasiona que la concentración del beta-hidroxibutírico sea 3 a 6 veces más alta que la del acetoacetato. El tercer cuerpo cetónico es la acetona, no es una molécula ácida, y se forma por la descarboxilación espontánea o enzimática del acetoacetato. La acetona no contribuye al trastorno ácido-base y al ser volátil se elimina por los pulmones, siendo la causa del aliento característico de éstos pacientes. [46,47, 49,50]

El exceso del glucagón, característico en ésta patología, activa la cetogénesis por dos mecanismos: la primera por incremento de la carnitina hepática, circunstancia que favorece la formación de ésteres grasos de acilcarnitina. Se desconoce el mecanismo responsable para el incremento de la carnitina, pudiera estar involucrado la movilización de sus depósitos a nivel muscular, proceso

análogo al de otras sustancias a partir de la periferia hacia el hígado para apoyar la gluconeogénesis y la cetogénesis. Más aún el hecho de que los niveles de la carnitina libre plasmática disminuyen durante la cetoacidosis diabética sugieren que el aumento en su captura por el hígado puede estar involucrado.

Segundo, el glucagon disminuye el malonil-CoA hepático, el cual es el primer intermediario de la síntesis de AG de cadena larga y potente inhibidor de su oxidación a nivel del paso regulado por la carnitina palmitil transferasa. La disminución en su concentración ocasiona la desinhibición de la oxidación de los AG y la alteración en su síntesis. Estas dos reacciones corresponden a la respuesta clásica dual del metabolismo hepático de los lípidos y que es característico de la cetoacidosis diabética. La disminución en la síntesis del malonil-CoA se debe principalmente a la interrupción, mediada por el glucagon, del paso involucrado en la transformación de Gl-6-P a malonil-CoA. El glucagon también inhibe la acetil-CoA carboxilasa directamente al promover su fosforilación. Fig:22

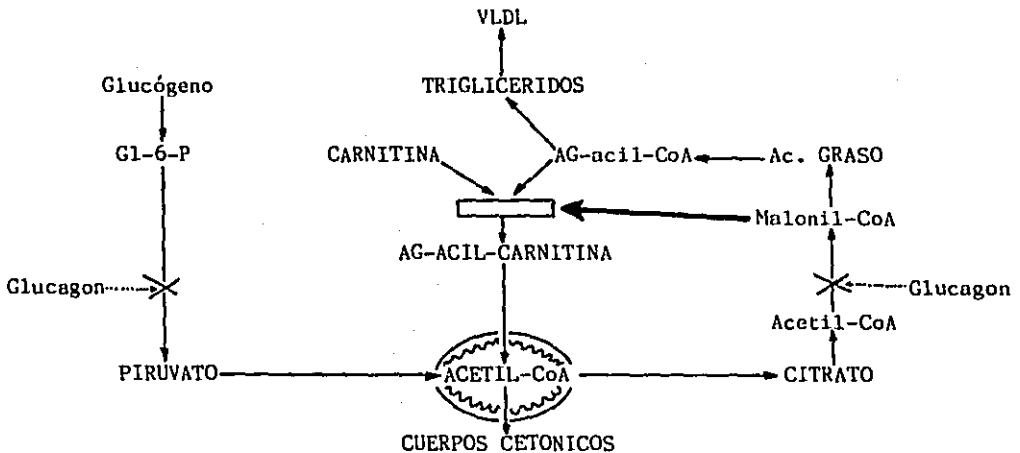


Fig: 22. RELACION ENTRE LA GLUCOLISIS Y EL METABOLISMO LIPIDICO EN EL HIGADO
(de: N Engl J Med 1983;309:159-169)

El mayor efecto del glucagon es el bloqueo de la glucólisis, lo que ocasiona la disminución en los niveles de fructosa-2,6-diP. El glucagon también inhibe la enzima acetil-CoA carboxilasa que convierte el acetil-CoA a malonil-CoA. La enzima promueve la síntesis de AG y suprime su oxidación. Cuando los niveles

de malonil-CoA se encuentran disminuidos por el exceso de glucagon cesa la lipogénesis y se activa la oxidación de los AG y la cetogénesis.[48,49,50,51]

Otro aspecto importante en la alteración metabólica de la cetoacidosis diabética es la hiperglicemia. Su control es más complejo que el de la cetogénesis. Al iniciarse la descompensación se incrementa en forma acelerada la producción hepática de glucosa. La causa primaria de la sobreproducción se cree que sea el incremento de la relación glucagon/insulina en la sangre venosa portal. Las catecolaminas, el cortisol y la hormona del crecimiento también participan en la sobreproducción de glucosa, ya que sus concentraciones se encuentran aumentadas durante ésta patología. Además del mismo proceso fisiopatológico, las enfermedades intercurrentes y/o el estrés emocional inducen la liberación de éstas hormonas. Los pacientes que tienen sensibilidad incrementada a los efectos del glucagon, cortisol o epinefrina pueden fácilmente presentar cetoacidosis.

La Fr-2,6-diP es un componente importante en el control del metabolismo de la glucosa en el hígado. Se trata de un intermediario metabólico que posee profundos efectos sobre la actividad de dos enzimas hepáticas: la fosfofructocinasa y la Fr-difosfatasa. Estas enzimas son fundamentales en la regulación de la glucólisis y de la gluconeogénesis respectivamente. Las alteraciones de su actividad al disminuir la Fr-2,6-diP hepática, probablemente, inicien los cambios del metabolismo de los carbohidratos y de los lípidos que caracterizan al estado diabético descontrolado y al del ayuno.

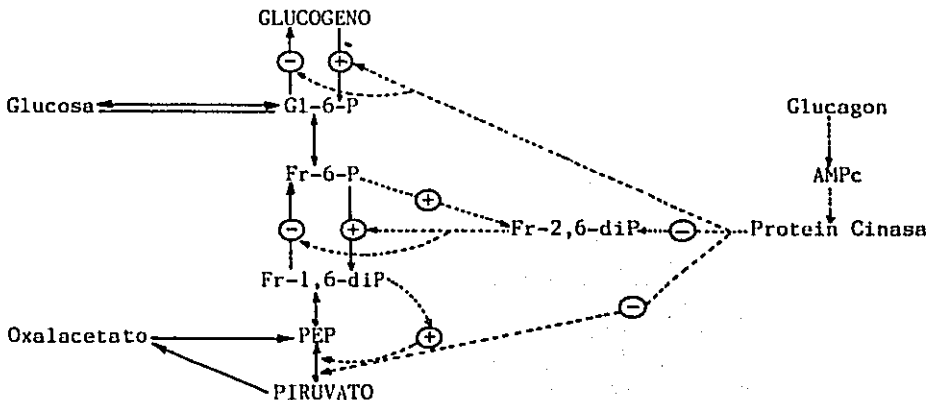


Fig: 23. REGULACION DE LA GLUCOLISIS Y LA GLUCONEOGENESIS EN EL HIGADO
(de: Biochem J 1982;206:1-12)

En la Fig: 23 las líneas continuas representan las vías metabólicas. Las flechas hacia abajo representan la secuencia glucolítica y las hacia arriba la gluconeogénesis. Las líneas con doble flecha representan las reacciones reversibles. Las flechas simples las reacciones no reversibles (debido a que las enzimas que catalizan las reacciones de la glucólisis son distintas de las enzimas que catalizan el proceso inverso o sea la gluconeogénesis). Las líneas discontinuas indican actividad reguladora. El signo (-) inhibición y el signo (+) estimulación. Por simplicidad solo se muestra los sitios reguladores clave.

El glucagon disminuye los niveles de Fr-2,6-diP y con ello inactiva a la fosfofructocinasa I, también bloquea la conversión de Fr-6-P a Fr-1,6-diP e inhibe la glucólisis. La caída en los niveles de Fr-2,6-diP desinhibe la Fr-1,6-difosfatasa permitiendo la conversión eficiente de Fr-1,6-diP a Fr-6-P, y a consecuencia de ésto se activa la gluconeogénesis. El glucagon también estimula la catálisis del glucógeno inhibiendo su síntesis. El glucagon induce un bloqueo secundario en la glucólisis en el paso regulado por la piruvato cinasa.

La Fr-2,6-diP se sintetiza a partir de la Fr-6-P y ATP por acción de la 6-fosfofructo-2-cinasa, a la cual se ha asignado el nombre trivial de fosfofructocinasa II (PFK2) para distinguirla de la clásica fosfofructocinasa I (PFK1). La Fr-2,6-diP es defosforilada por la Fr-2,6-difosfatasa II (FBPasaII) para distinguirla de la Fr-1,6-difosfatasa I (FBPasaI), enzima gluconeogénica que cataliza la conversión de Fr-1,6-diP a Fr-6-P.

La Fr-2,6-diP primero activa a la PFK1, al prevenir su inhibición por el ATP, pero también aumenta los efectos estimuladores del AMP y de la Fr-1,6-diP sobre la enzima. La PFK1 de los mamíferos es una enzima complicada, con múltiples sitios de acción alostérica inhibidora y activadora, pero el control conocido más importante es la Fr-2,6-diP. En la vía contraria la Fr-2,6-diP inhibe la actividad de la FBPasaI y por ello tiende a bloquear la conversión de Fr-1,6-diP a Fr-6-P. Así, cuando la concentración de Fr-2,6-diP se eleva, la conversión de glucosa a piruvato (glucólisis) ocurre fácilmente, mientras que la conversión de piruvato a Gl-6-P (gluconeogénesis) se altera. Cuando la concentración de Fr-2,6-diP disminuye se invierte la dirección del flujo sobre las dos vías. En la fig: 23 se observa la relación entre éstos procesos.

Los niveles hepáticos de Fr-2,6-diP cambian rápida y profundamente en respuesta a señales metabólicas. Las alteraciones recíprocas en la actividad de la PFK2 y de la FBPase II son debidas al incremento del AMPc inducido por el glucagon, con activación subsecuente de las protein-cinasas y la fosforilación

de las enzimas. La epinefrina puede también disminuir los niveles hepáticos de Fr-2,6-diP, pero en menor proporción que el glucagon.

Se pensó que la PFK2 y la FBPII eran dos diferentes enzimas, pero El Maghara y cols. concluyeron que la actividad atribuida a éstas enzimas eran controladas por una sola proteína, en otras palabras la enzima es un dímero y actúa como fosfatasa (fosfohidrolasa) y cinasa (fosfotransferasa). La señal para que la enzima actúe de una forma u otra parece depender de la fosforilación de la proteína dependiente del AMPc. Cuando se encuentra defosforilada actúa como cinasa y en forma fosforilada como fosforilasa.

Los niveles hepáticos de Fr-2,6-diP se encuentran disminuidos debido a que la proporción de glucagon/insulina está elevada lo que también acelera la gluconeogénesis. El glucagon activa simultáneamente la degradación del glucógeno. El resultado final es que el hígado se constituye en el mayor productor de glucosa. La sobreproducción de glucosa y la disminución de su metabolismo a nivel periférico, como consecuencia de la deficiencia de insulina y/o a la resistencia a nivel celular, condicionan la diuresis osmótica y la depleción de volumen, con el consecuente desequilibrio hidro-electrolítico característico de la cetoacidosis diabética.

Existen otras vías que contribuyen a la sobreproducción de glucosa. Antes se mencionó al glicerol como substrato gluconeogénico, pero, cuantitativamente son más importantes los aminoácidos gluconeogénicos: alanina, glicina, serina y ác. glutámico, los cuales derivan de la proteólisis muscular. Otro substrato gluconeogénico importante es el lactato. La etapa inicial de la gluconeogénesis a partir del lactato o de la alanina es la conversión de éstos a piruvato. Las barreras termodinámicas que impiden la conversión directa del piruvato a fosfoenolpiruvato se evitan empleando al oxalacetato como intermediario. Las dos enzimas responsables: piruvato carboxilasa y fosfoenolpiruvato carboxicinasas, son sitios de regulación metabólica en la gluconeogénesis. La primera requiere a la Acetil-CoA como efector positivo (activador), y constituye el primero de varios mecanismos de control comunes a la gluconeogénesis y a la cetogénesis. Otro sitio más hacia la vía de la glucosa es la etapa de la triosa fosfato para la cual se requiere como cofactor al NADH.[50]

Una vía metabólica que se estimula cuando "no hay insulina" es la glucogénesis, la cual libera glucosa al torrente circulatorio. Semejante a la lipólisis, éste proceso es activado por la cascada cíclica del AMP y la última enzima requerida es la fosforilasa. La depleción de glucógeno es una característica constante de la cetoacidosis diabética, así como también lo es de la inanición.

En la figura Nº 24 se indican con flechas interrumpidas los sitios en que disminuye o se detiene el flujo de carbonos en la cetoacidosis diabética. E incluyen la síntesis de colesterol a partir del hidroximetil glutaril-CoA (HMG-CoA), de nuevos ácidos grasos a partir de la Ac-CoA (y en consecuencia de la derivación hexosa monofosfato que genera el cofactor reducido NADH para la síntesis de ácidos grasos), del glucógeno a partir de la Gl-6-P y, por último la glucólisis a nivel de tres enzimas claves: glucocinasa, fosfofructocinasa y piruvatocinasa). La insulina estimula todas éstas vías.

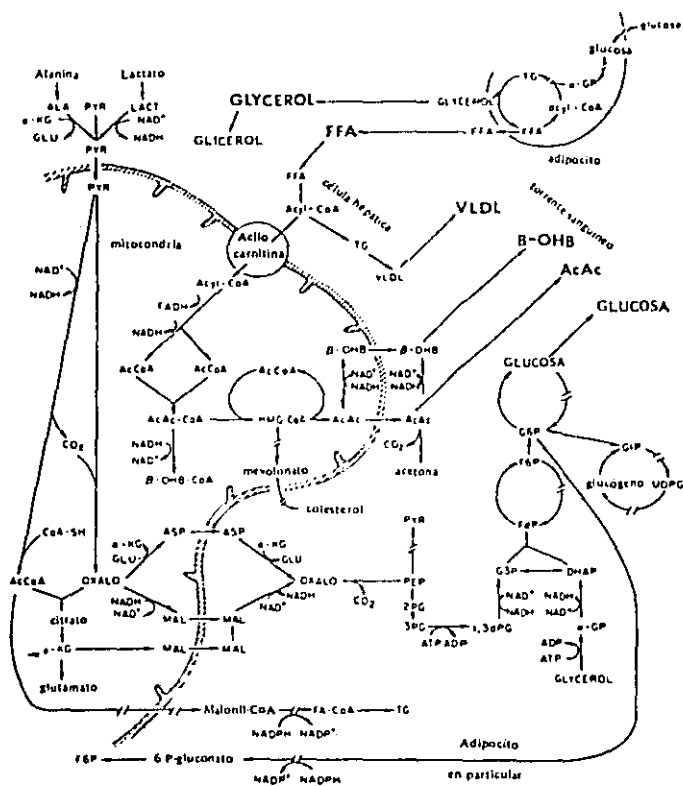


Fig: 24. MECANISMOS DE REGULACION DE LA CETOGÉNESIS Y DE LA GLUCONEOGÉNESIS (de: Ref: 49)

Cuando existe déficit de insulina el músculo contribuye a la hiperglucemia por los siguientes mecanismos:

1. disminución en la captación de glucosa;
2. liberación de AA gluconeogénicos por la proteólisis y;
3. liberación de lactato por la glucólisis anaerobia y la glucogenólisis.

En forma simultánea, con el déficit de insulina, se inhibe la captación de AA y la síntesis de proteínas y de glucógeno. También el músculo disminuye su consumo de cuerpos cetónicos, contribuyendo a la cetonemia de la cetoacidosis.[48,49,53,54,55]

El riñon, por su lado, contribuye al incremento de la glucemia a través de la gluconeogénesis, que aunque menor que la hepática, es también importante. La eliminación de cuerpos cetónicos por la orina ayuda a reducir la concentración sanguínea pero agrava la pérdida de electrólitos.

La descompensación metabólica de la cetoacidosis diabética tiene mayor incidencia en los diabéticos conocidos y los tipo I recientes que en los tipo II.

El conocimiento de los mecanismos básicos de la producción exagerada de cetoácidos y de glucosa es fundamental para obtener la homeostasis metabólica en base a las medidas terapéuticas a aplicar.[49,50]

ACIDOSIS METABOLICA EN EL ALCOHOLICO

CONSIDERACIONES GENERALES.

El etanol es un compuesto notable por la multiplicidad de sus efectos sobre las vías metabólicas y los procesos fisiológicos. Su consumo data desde los albores de la evolución de la civilización humana y actualmente se encuentra tan distribuido, que se puede decir, con pocas posibilidades de equivocación, que donde exista una agrupación social humana se ingiere el alcohol, en alguna de sus múltiples presentaciones, en mayor o menor grado y frecuencia. En un reporte del Instituto de Medicina de la Academia Nacional de Ciencias de los Estados Unidos se menciona:"existe un estimado de 12 millones de tomadores problema; las muertes relacionadas con el abuso alcohólico se calculan entre 50.000 y 200.000 por año; entre las complicaciones médicas relacionadas con su consumo crónico se mencionan: arritmias cardíacas, muerte súbita, pancreatitis, malnutrición, alteraciones metabólicas, gran variedad de manifestaciones psiquiátricas, etc.; su empleo es causa prominente de accidentes, incendios, crímenes, homicidios y suicidios. El costo anual estimado por el abuso alcohólico varía entre 40 y 60 billones de dólares".[57,58]

La cetoacidosis alcohólica, complicación aguda del alcoholismo, se incluye dentro del diagnóstico diferencial de cualquier paciente con acidosis metabólica con brecha aniónica incrementada. El primer reporte de cetoacidosis alcohólica, como un síndrome diferente, fué descrito por Dillon, Dyer y Smelo en 1940. La mayor parte de los conocimientos básicos, así como su enfoque terapéutico se deben a ellos. Aunque la mayor parte de las series publicadas no presentan gran número de casos, probablemente, la condición sea más común, especialmente en instituciones que manejan a un amplio sector poblacional.[58,60,64]

ASPECTOS FARMACOLOGICOS.

El etanol es una sustancia polar misible con agua en toda proporción. Debido a su pequeño tamaño y débil carga eléctrica se mueve fácilmente a través de las membranas celulares por difusión simple, se absorbe fácilmente en el tracto gastrointestinal, principalmente a nivel del intestino delgado. La concentración del alcohol varía con el tipo de bebida ingerida, siendo más baja con la cerveza y el vino que con las bebidas destiladas. En orden creciente de potencia las proteínas, grasas y azúcares disminuyen su absorción.

Después de su absorción en el intestino, el etanol alcanza la circulación portal y atravieza e hígado antes de llegar a la circulación sistémica. Se

difunde rápidamente a través de los capilares y de otras membranas, distribuyéndose en toda el agua corporal tanto intra como extra celular.

En el organismo existe una cantidad mínima de producción endógena de etanol que deriva de la fermentación bacteriana intestinal o de su síntesis por varias vías de producción endógena. Una posible función de la enzima alcohol deshidrogenasa (ADH) es el metabolismo del alcohol endógeno que llega al hígado a partir del intestino.

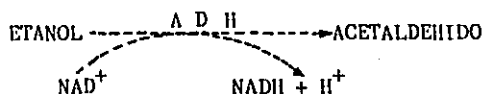
La tasa de equilibrio del etanol sanguíneo con los diferentes órganos, como el cerebro, hígado, pulmones, riñones, etc., es rápida y depende principalmente del flujo sanguíneo del órgano en cuestión. Una pequeña cantidad de etanol, usualmente menor del 2%, se excreta por el aire espirado, la orina y el sudor, cuando su concentración sanguínea es mínima. Si los niveles se elevan hasta 200 a 300 mgr/dl, la excreción pulmonar y renal alcanza al 10 a 15% del total eliminado. El metabolismo hepático es responsable del 75% de su eliminación. La capacidad máxima de metabolismo en el hígado humano es de 2 mMol/min y en los tejidos extrahepáticos de 0,4 mMol/min. Basándose en la cinética de Michaelis-Menten la tasa metabólica máxima, estimada para una persona de 70 Kgrs, es de 200 a 240 gr/día. En el alcohólico crónico ésta cifra puede elevarse hasta 370 gr/día.[55,57,64]

CATABOLISMO Y EFECTOS METABOLICOS DEL ALCOHOL.

El hepatocito tiene tres vías principales para el metabolismo del etanol, cada una de ellas situada en diferentes organelos intracelulares. La vía de la alcohol deshidrogenasa del citosol o fracción soluble de la célula, el sistema de catalasa que reside en los peroxisomas y el sistema microsómico de oxidación del etanol situado en el retículo endoplásmico rugoso. Esta actividad oxidante del etanol en el microsoma requiere de tres componentes: diversos citocromos P-450, la enzima NADPH-citocromo-c reductasa y la lecitina; ésta vía metabólica es la principal para el incremento de la oxidación del etanol en el hígado, posterior a la ingesta crónica de alcohol.

CARACTERISTICAS QUIMICAS DE LA VIA ALCOHOL DESHIDROGENASA.

La ADH, enzima del citosol, cataliza la conversión del etanol en acetaldehído:



La alcohol deshidrogenasa humana (alcohol: NAD⁺ oxidoreductasa, EC 1.1.1.1) es una molécula dimérica con un peso molecular de 85.000 u.m.a. En el hígado adulto se encuentra como una mezcla compleja de isozimas. Existen tres genes separados que codifican tres cadenas diferentes de polipéptidos: alfa, beta y gamma. Ya que la enzima es un dímero, la estructura molecular de la ADH puede ser homo o heterodimérica.

METABOLISMO DEL ETANOL Y BALANCE HEPATICO DEL ATP.

En el hígado como en cualquier otro órgano, el ATP debe de ser producido mediante la fosforilación oxidativa en cantidad necesaria para cubrir las demandas energéticas celulares. En reposo el organismo humano consume alrededor de 0,25 l/min, o aproximadamente 16 moles de oxígeno/día. Ya que el 25% del consumo de oxígeno ocurre en el lecho esplácnico y 3/4 le corresponden al hígado, entonces, éste debe emplear aproximadamente 3 moles de oxígeno por día. Aceptando ésto y la relación P:O de 3 (tres moléculas de ATP por cada molécula de oxígeno empleada en la cadena de electrones), se puede calcular la producción diaria de ATP en el hígado, siendo de 18 moles (3 moles de oxígeno x 2 x 3 [debido a que existen dos átomos por cada mol de oxígeno], la P:O = 18).

La oxidación de 1 mol (46grs) de etanol a CO₂ produce 16 moles de ATP. como se mencionó antes 1,1 moles (51 grs) pueden aportar al hígado virtualmente todos los requerimientos diarios de ATP (esto es, menos de 2 cocktails diarios). Sin embargo, el hígado normal puede metabolizar hasta 6 veces ésta cantidad. Para que exista un adecuado balance de ATP durante el metabolismo del etanol, el hígado debe de incrementar su consumo de ATP o emplear vías que lo produzcan en menor cantidad por etanol metabolizado. Existe evidencia del incremento en el empleo de ATP pero corresponde solo a una oxidación adicional de 40 grs de etanol en el alcohólico crónico. Por ello lo segundo debe de ser más importante.

El acetaldehído formado por la ADH pasa rápidamente hacia la mitocondria hepática donde la enzima aldehído deshidrogenasa la oxida a ácido acético. Este a su vez, activado por ATP y Co-A, por acción de la enzima acetato tiocinasa forma la acetil Co-A, que mediante el ciclo de Krebs se metaboliza hasta CO₂ y H₂O, puede también condensarse para formar cuerpos cetónicos o formar grasas. [55,56,57,64]

El hígado puede metabolizar el etanol hasta ácido acético y posteriormente liberarlo a la circulación sistémica; por ello cada mol de etanol solo produce 6 moles de ATP, lo que permite metabolizar tres moles (138 grs)/día de etanol por ésta vía. Probablemente, la falta de una oxidación completa del ácido acéti-

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

co en los tejidos periféricos sea la causa de la moderada acidosis acética que existe en estos enfermos. La alteración es más evidente en situaciones de aporte inadecuado de oxígeno periférico.

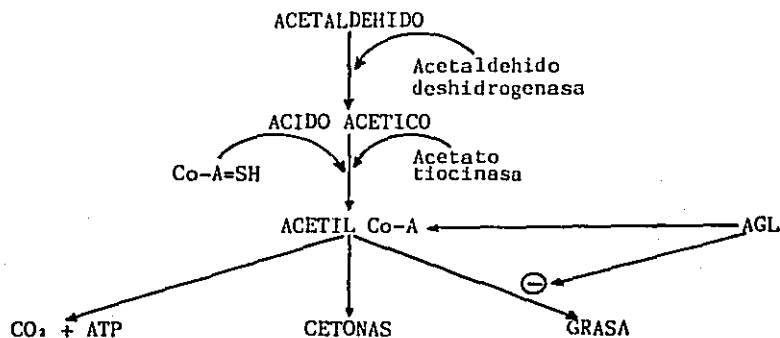


Fig: 26. METABOLISMO DEL ETANOL EN EL HIGADO
(de: Ref. N° 56)

Por otra parte, si el ácido acético es convertido a cuerpo cetónico (beta-hidroxi-butírico/acetatoacetato 2:1) el hígado puede metabolizar mayor cantidad de etanol diariamente, 6 moles (276 grs) sin excederse de los límites del balance diario de ATP.

En resumen: el balance de ATP debe de ser mantenido en todos los órganos. El hígado puede emplear solo 18 moles de ATP diarios, pero la oxidación completa del etanol, fácilmente puede cubrir más de ésta cantidad. En el enfermo con ayuno y deficiencia relativa de insulina la formación de cuerpos cetónicos permite al hígado metabolizar mayores cantidades de etanol manteniendo el balance de ATP. Por ello, en ésta situación los cuerpos cetónicos y no el ácido acético o el CO₂ pueden ser los productos principalmente producidos.[61]

TABLA:1
BALANCE DEL ATP HEPATICO DURANTE EL METABOLISMO DEL ETANOL

CONVERSION DEL ETANOL A:	MOLES DE ATP/MOLES DE ETANOL
ACIDO ACETICO	+ 6
CO ₂ + H ₂ O	+ 16
B-HIDROXI-BUTIRATO	+ 2,5
ACETOACETATO	+ 4

Cada mol de NADH produce 3 moles de ATP, 2 se emplean en la síntesis de derivados de la Co-A (acetato y AG) y 1 mol de NADH se emplea en la síntesis del beta-hidroxi-butirato.

En los alcohólicos, se ha descubierto alteraciones morfológicas notables que incluyen: tumefacción y crestas anormales y presencia de megamitocondrias. Estas anomalías estructurales guardan relación con trastornos funcionales, tales como la disminución de la oxidación de los AG y de diversos sustratos, incluyendo al acetaldehído. Las mitocondrias tienen disminuida su concentración de citocromos a y b, también la actividad de la enzima deshidrogenasa succínica es menor. La capacidad respiratoria de la mitocondria se encuentra disminuida al emplear piruvato, succinato y acetaldehído como sustratos.[55,61]

ETANOL Y METABOLISMO DE LA GLUCOSA Y DEL ACIDO LACTICO.

La elevación de la relación NADH/NAD desvía la producción del piruvato a lactato disminuyendo la disponibilidad de éste metabolito como fuente para la formación de glucosa. Además la formación de glucosa puede estar disminuida a partir de varios AA que proporcionan metabolitos carbonados a las vías gluconeogénicas, a nivel de intermediarios del ciclo de Krebs, lo que condiciona una caída en el nivel de oxalacetato, precursor gluconeogénico, y, también se debe a la alta concentración de NADH. Por ello el flujo de carbonos del oxalacetato hacia la glucosa se encuentra disminuida. Consecuentemente los niveles sanguíneos de glucosa se mantienen a expensas de la depleción del glucógeno o de la ingesta diaria de carbohidratos. Por ello, en los individuos sin reserva adecuada de glucógeno la hipoglicemia puede ocurrir posterior a la ingesta de alcohol.

Los cambios redox relacionados con la oxidación del etanol producen desplazamiento del piruvato hacia lactato. Ello origina aumento de la concentración del lactato por aumento en su producción hepática, o por la disminución de su consumo en éste órgano del lactato producido en los tejidos extrahepáticos o por ambas situaciones. En consecuencia, aumenta el lactato sanguíneo, pero su concentración es moderada e inferior a la alcanzada en la acidosis láctica.[61]

Como resultado del metabolismo acelerado del alcohol la relación NADH/NAD en el citoplasma de los hepatocitos tiende a elevarse, lo que permite la reducción de los cetoácidos hacia su forma hidroxilada.

Los carbonos que se emplearían en la síntesis hepática de glucosa no son oxidados debido a que la piruvato deshidrogenasa se encuentra fuertemente inhibida por la concentración elevada de acetyl-CoA, por ello éste metabolito debe de ser eliminado del hígado en forma de ácido láctico. Aunque el hígado, en ésta situación clínica puede producir demasiado ácido láctico, la acidosis láctica resultante es moderada debido al metabolismo periférico de dicho ácido.

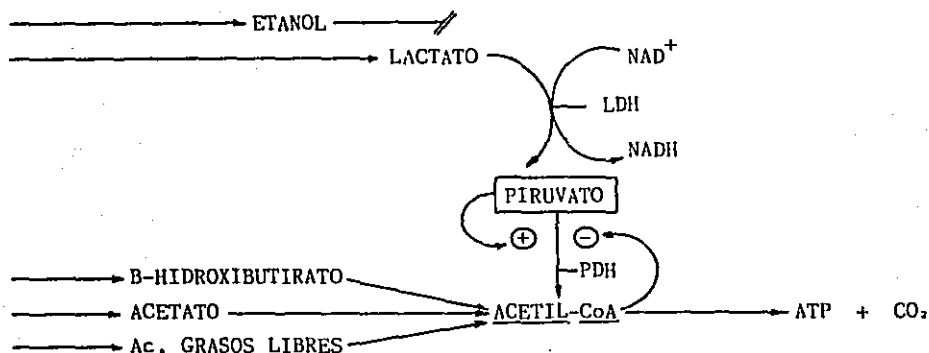


Fig: 27. VIAS METABOLICAS PERIFERICAS DEL ETANOL
(de: Metabolism, Vol. 32, Nº 3, 1983)

Si en la cetoacidosis alcohólica la concentración de lactato se encuentra muy elevada debe de sospecharse la presencia de otra alteración coincidente como: estado de choque, hipoxia, o deficiencia de tiamina. [59,60,61,62,63]

MODIFICACIONES EN EL METABOLISMO DE LOS LIPIDOS.

El aumento del cociente NADH/NAD hepáticos, eleva la concentración de alfa-glicerofosfato que al atrapar ácidos grasos facilita el acumulo de triglicéridos hepáticos. También se transfieren equivalentes de hidrógeno a la mitocondria por diversos mecanismos de "desviación". En estado normal los AG son oxidados por la beta-oxidación y luego en el ciclo de Krebs mitocondrial. De ésta forma los AG actúan como donadores de hidrógeno a la cadena de electrones. Sin embargo, cuando se oxida el etanol, los equivalentes de hidrógeno y que se dirigen a la mitocondria desplazan al ciclo del ácido cítrico como fuente de hidrógeno. Así, la actividad del ciclo disminuye, en parte porque se tornan lentas las reacciones que exigen NAD. Posterior a la ingesta de etanol la mitocondria adquiere un estado redox más reducido por cambios en el cociente beta-hidroxibutirato/acetoacetato. En el ciclo de Krebs, el sitio de mayor interacción del etanol es la oxidación del alfa-cetoglutarato. Además, los cambios en el potencial redox concomitantes a la oxidación del etanol disminuyen la concentración hepática de oxalacetato, cuya disponibilidad regula la actividad de la citrato sintetasa. En consecuencia la mitocondria emplea los equivalentes de hidrógeno producidos por el etanol y no los producidos por la oxidación en el ciclo de Krebs, de los fragmentos de 2 carbonos derivados de los AG.

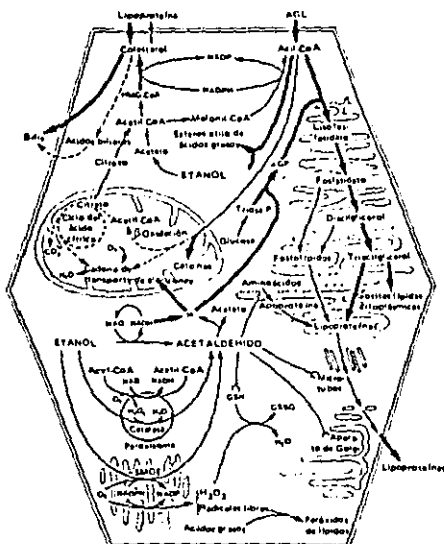


Fig: 28. OXIDACION DEL ETANOL Y LOS TRANSTORNOS DEL METABOLISMO LIPIDICO
(de: Ref. Nº 56)

Así pues, los AG que en estado normal actúan como fuente principal de energía para el hígado son sustituidos por el etanol. Este cambio ocasiona el depósito hepático de la grasa alimentaria o de los AG derivados de la síntesis endógena en ausencia de ingestión de lípidos. Este mecanismo es la causa del hígado graso alcohólico, primera etapa de la lesión hepática alcohólica.

Los lípidos que se acumulan en el hígado pueden originarse de 3 fuentes importantes: lípidos alimentarios (que se transportan en la sangre como quilomicrones), lípidos en forma de AGL y lípidos sintetizados por el propio hígado. Todas éstas grasas se acumulan en el hígado y causan trastornos metabólicos, como los siguientes:

1. Disminución de la oxidación hepática de los lípidos;
2. aumento de la lipogénesis hepática;
3. disminución de la liberación hepática de lipoproteínas;
4. aumento en la movilización de la grasa periférica y
5. aumento en la captura hepática de lípidos circulantes.

Se conoce que el efecto del etanol sobre la movilización de los AGL del tejido adiposo está mediado por el acetato.

Por otro lado, el etanol aumenta la peroxidación lipídica. Los aldehídos reaccionan fácilmente con mercaptanos y, la L-cisteína puede combinarse con acetaldehídos para formar hemiacetales. La conjugación de acetaldehído con L-cisteína, glutatión o ambos puede contribuir a la disminución del glutatión hepático. Este es uno de los mecanismos para la eliminación de los radicales libres tóxicos. La disminución severa del glutatión facilita la peroxidación y el daño talvéz sea por el aumento en la generación de radicales activos por los microsomas "inducidos" después del consumo crónico de etanol. Se ha comprobado que la vía microsómica que exige oxígeno, NADPH y algunas variedades del citocromo P-450 puede generar lipoperóxidos. Fig: 29

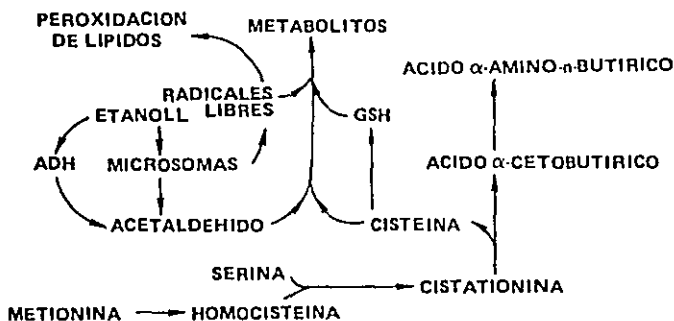


Fig: 29. GENERACION DE RADICALES LIBRES Y LIPOPEROXIDOS A NIVEL HEPATICO
(de: Pharmacol. Biochem. Behav., 13:17-30, 1980)

Teóricamente, el aumento de la actividad de la NADPH oxidasa microsómica, posterior a la ingesta de alcohol, puede ocasionar un aumento en la producción de H_2O_2 , que facilita la peroxidación lipídica.[55,56]

ALTERACIONES EN EL METABOLISMO DE LAS PROTEINAS.

Además de los cambios en el metabolismo de los carbohidratos y lípidos, el anormal estado redox también afecta el de las proteínas. En general, la síntesis proteica se trastorna, pero no todas las proteínas se afectan en el mismo grado o forma; en realidad, la síntesis de algunas de ellas inclusive se incrementa como por ejemplo de la colágena.

Durante la fase inicial de la lesión hepática, la actividad de la colagenasa neutra puede aumentar, pero posteriormente disminuye y así, contribuye a la acumulación de colágena. Por otra parte, la actividad aumentada de la pepti-

dil prolina hidroxilasa hepática y el aumento en la incorporación de prolina en la colágena hepática sugieren la importancia de la mayor síntesis de colágena. También el incremento de lactato es básica, ya que su elevación se relaciona con el aumento de la actividad de la peptidil prolina hidroxilasa. Los niveles séricos de prolina e hidroxiprolina, también se incrementan por inhibición de la prolina oxidasa por efecto de los altos niveles de lactato. [55,56,61]

ETANOL Y METABOLISMO DE LAS PURINAS.

La hiperlactacidemia tiene también efectos sobre el metabolismo del ácido úrico, ya que al disminuir la producción urinaria de ácido úrico origina aumento en su concentración sérica. La cetosis (por el ayuno) y la hiperlactacidemia y cetosis (por la ingestión de alcohol) favorecen el incremento de la concentración sérica de ácido úrico, simultáneamente a la disminución en su excreción. [55,56,61]

En resumen: Las alteraciones metabólicas de la cetoacidosis alcohólica son las siguientes:

- LIPOLISIS por: * Disminución de la insulina
 * Elevación del cortisol, catecolaminas y H. del crecimiento
 * Estimulación simpática directa
- CETOGENESIS por: * Disminución de la insulina
 * Elevación de los AGLs
 * Elevación del glucagon, catecolaminas y H del crecimiento
- CATABOLISMO de las * Disminución de la insulina
 CETONAS ALTERADA * Deshidratación
 por:
- PRODUCCION ALT. * Incremento de la relación $NADH/NAD^+$
 de G1. HEPATICA * Depleción de glucógeno
 por:

METABOLISMO CELULAR DEL CALCIO

Ya que las alteraciones del metabolismo intracelular del calcio en la célula isquémica representan un aspecto fisiopatológico básico, es necesario revisar, primero, su comportamiento en la célula normal para comprender el desequilibrio de su homeostasia durante los episodios de isquemia-anoxia celular.

PAPEL DEL CALCIO EN LA CELULA NORMAL.

Un estímulo común precipita eventos biológicos tan diversos como la contracción de un músculo, secreción de una hormona, inicio de diversos procesos metabólicos, transporte de líquidos y electrolitos, así como el crecimiento celular. Este estímulo, un flujo mínimo de iones de calcio es parte de los sistemas de "segundos mensajeros" intracelulares, transmite un mensaje químico y eléctrico que llega a la superficie de la membrana celular y a la maquinaria bioquímica intracelular. La célula, para controlar efectivamente éstos procesos debe regular al calcio. Para ello, las células han desarrollado un complejo sistema proteico que interactúa con el calcio gobernando la transmisión y la recepción de los mensajes intracelulares. Los trastornos en la homeostasia del sistema ocasionan alteraciones entre las que se pueden mencionar: hipertensión y vasoespasmo, asma bronquial, alteraciones de la coagulación relacionadas con disfunción plaquetaria, alteraciones de la secreción y de la motilidad intestinal, la diabetes del adulto, otras endocrinopatías, la aterosclerosis, alteraciones del crecimiento celular y posiblemente pérdida de la memoria. Por ello, el conocimiento de éste intrincado sistema puede conducir al mejor control clínico del calcio intracelular, posibilidad que presenta amplias implicaciones en el tratamiento de dichas enfermedades.[65]

En el cuarto de siglo pasado se ha incrementado el conocimiento de la función del calcio como mensajero intracelular en las células animales. Algunas de éstas respuestas son breves y a menudo repetitivas pero otras son prolongadas. Entre más se comprende la diversidad de patrones de respuesta, más se conoce la amplia organización del sistema de mensaje de célula a célula mediada por el calcio.

Junto con él se encuentran otros iones comunes al medio biológico e incluyen al magnesio, ión con doble carga eléctrica, al sodio, potasio y cloro con carga eléctrica simple.

¿Porqué el calcio, en el desarrollo de la evolución fué el elegido para actuar como segundo mensajero?

Para que una sustancia actúe como segundo mensajero, sobre una proteína blanco usualmente una enzima, debe ser capaz de unirse a ella firmemente y con alta especificidad. La unión altera la configuración de la molécula enzimática y por ello cambia su estado funcional. El mensajero debe de sufrir grandes variaciones en su concentración para alterar la función de un número variable de moléculas. Pueden ser necesarios incrementos de hasta 10 veces para cambiar el estado: "activación" y "desactivación" de una enzima.

Un ión como el calcio, no puede ser creado o destruido fácilmente; en lugar de ello su concentración libre en el citosol debe de ser regulada por moléculas que alternativamente se unan a él, removiéndolo o liberándolo de la solución para que pueda transportar el mensaje. Para que la célula distinga al ión mensajero de otros iones y lo mantenga firme en la unión debe de ser de estructura compleja. Las funciones celulares que requieren de estructuras complejas casi siempre son realizadas por proteínas. El calcio en unión específica se sitúa mejor y más firmemente que otros iones.

Los iones de cloro y potasio son relativamente grandes en radio, por lo que no son aptos para formar uniones compactas con las proteínas. El sodio tiene un radio más pequeño, muy similar al calcio, pero debido a que solo tiene una carga, al formar complejos con las proteínas, su unión es relativamente débil. Los grandes iones poliatómicos, comunes al medio biológico, como el fosfato y el bicarbonato, tienen aún menor capacidad para formar complejos firmes.

En éste proceso de eliminación restan el magnesio y el calcio. Ambos son iones pequeños, con carga doble, capaces de unirse firmemente a otros compuestos. Ambos iones, al formar complejos con las proteínas, rápidamente se unen a seis donadores de electrones, usualmente átomos de oxígeno, en un arreglo octahédrico. Un donador ocupa cada vértice del octaedro y los enlaces adyacentes se unen en ángulo recto. El calcio, mayor que el magnesio y cuya estructura es más compleja puede formar uniones con un total de 7 u 8 donadores de electrones.[66]

Debido al tamaño pequeño del magnesio puede arrastrar los oxígenos de las proteínas con las que formó el complejo en una configuración muy estrecha y regular. Sin embargo, una proteína no es lo suficientemente flexible para formar una cavidad regular que sea tan compacta para adaptarse a las pequeñas dimensiones del magnesio. En lugar de establecer una unión completa el magnesio con la proteína empleando sus 6 enlaces se une también a moléculas de agua. Estas sustituciones debilitan mucho la firmeza del complejo, por lo que menos

uniones entre la proteína y el ión deben de romperse para liberar al magnesio. El calcio requiere de un cambio menos drástico en la configuración de la proteína, por lo tanto puede completar las 6 uniones con ella.

La unión del calcio es más fuerte y específica que la unión del magnesio. Debido al radio menor y al número variable de uniones, el calcio es capaz de adaptarse a una conformación irregular en los sitios de unión. Así, una proteína puede unirse muy fuerte al calcio mientras excluye al magnesio, que se encuentra en el citosol en concentraciones miles de veces mayor. La proteína que se une al magnesio puede acomodar igual o mejor al calcio. La especificidad y la firmeza son esenciales para funcionar como mensajero intracelular, solamente el calcio cumple éstos dos requisitos.[66]

Las proteínas que se unen al calcio pertenecen a dos variedades. Las incorporadas en la membrana celular, que gobiernan el paso del calcio hacia el otro lado de la membrana y al interior de los organelos intracelulares; y las solubles en el citoplasma y dentro de los organelos mismos. Las proteínas del segundo tipo son activas en el control del calcio intracelular, pero su capacidad se encuentra limitada por su número reducido. En cambio las proteínas de la membrana son más eficientes debido a que actúan como transportadores. El principal papel de las proteínas solubles en el citosol y en los organelos es mediar el efecto intracelular de las señales provenientes del exterior.

En el grupo de las proteínas solubles se encuentran la troponina C (la descripción de su mecanismo de acción en la contracción muscular no entra en el contexto de ésta revisión) y la calmodulina. Esta última molécula tiene 4 sitios de unión para el calcio y con solo 1 o 2 de sus moléculas ocupadas presenta propiedades diferentes de otra molécula que tenga sus 4 uniones ocupadas por el calcio. Esta capacidad explica el porqué puede interactuar con gran número de proteínas. La calmodulina se encuentra presente en todas las variedades de células de los mamíferos. Actúa sobre las enzimas que catalizan la construcción o destrucción de uniones entre el fósforo y otros átomos. Entre éstas enzimas se encuentran las cinasas proteicas que fosforilan otras proteínas, lo que puede ser el inicio de determinada actividad enzimática. La calmodulina también tiene efectos sobre la división celular, sobre la conformación espacial celular al afectar a la tubulina de los microtúbulos, en la liberación de hormonas y sobre las células musculares. En éstas últimas, la elevación del calcio intracelular produce una respuesta inmediata que está mediada por la troponina C, pero también desencadena un cambio metabólico a largo plazo mediado por la calmodulina, que al ser activada por el calcio moviliza una protein-cinasa

que fosforila una segunda enzima, la que una vez activada cataliza la glucogé-
lisis. El miocito al metabolizar la glucosa liberada provee la energía necesaria
para el trabajo muscular.

Las proteínas que se unen al calcio residen en la membrana plasmática
en las membranas del retículo endoplásmico y la mitocondria, y son los regulado-
res más importantes del calcio libre en el citosol y los organelos. En las
células de los mamíferos, la concentración del calcio libre intracelular es
alrededor de 0,1 uMol o sea 4 millonésimas de gramo, alrededor de una diezmilé-
sima parte de la concentración sérica.[65,66,67]

En 1976, Annemarie Weber demostró que es necesario un nivel reducido de
calcio intracelular para impulsar el metabolismo de los fosfatos. Si la concen-
tración del calcio se eleva, el ión se combina con el fosfato para formar un
precipitado de cristales de hidroxapatita de calcio.

La ínfima concentración de calcio le permite ser un mensajero energética-
mente barato. Su movimiento a través de las membranas consume energía, usualmen-
te en forma de ATP. El nivel normal del calcio, muy bajo, significa que pocos
iones deben ser movilizados (se requiere de un aumento en factor de 10 para
la activación de las enzimas) con gasto energético mínimo para regular la acti-
vidad de una enzima. En contraste, otros sistemas de "segundos mensajeros"
como el AMPc, que debe de ser degradado, implican el empleo de gran cantidad
de energía.

Las proteínas unidas a la membrana celular y que regulan el calcio dentro
de la célula constituyen, por lo menos, 7 sistemas de transporte diferentes
y conforman 4 mecanismos biológicos distintos. Ellos se encuentran en la membra-
na celular, en el retículo endo y sarcoplásmico y en la mitocondria, su función
pueder ser admitir o eliminar el calcio.[66,68,69]

El sistema de alta afinidad es una ATPasa, que se provee de energía de la degra-
dación del ATP. La energía le permite eliminar al calcio en contra de un gra-
diente de concentración. La molécula posee 2 sitios activos: una destruye al
ATP y otra se une al calcio. Esta bomba fué descubierta por H.J. Schatzmann
de la Universidad de Bern. Virtualmente, se encuentra presente en todas las
células del organismo.

La bomba introduce protones (iones de hidrógeno) probablemente, en una
proporción de dos protones por cada ión de calcio. Como éste tiene dos cargas
positivas el intercambio permite que la bomba sea eléctricamente neutra. Por
ello no le afecta la diferencia de potencial eléctrico que prevalece a través
de la membrana celular de muchas células. La bomba puede ser regulada por varios

mecanismos. Cuando el calcio intracelular se une a la calmodulina, ésta activa a la bomba de calcio al unirse a ella. Otra forma de ser activada es por el fosfatidilinositol bifosfato, un lípido de la membrana celular.[1,2] Cuando una hormona provoca el ingreso del calcio, también disminuye la concentración de éstos lípidos de membrana, consecuentemente disminuye el estímulo a la bomba, permitiendo a la célula trabajar con un nivel intracelular mayor de calcio, lo que se traduce en la estimulación más fácil ante un segundo estímulo. La proteína tiene un peso molecular de 138.000 u.m.a. y una reducción de 50.000 u.m.a. no le priva de su actividad, por lo que éste péptido puede tener una actividad reguladora, constituyendo un tercer mecanismo de regulación. El cuarto mecanismo, que se da en el músculo cardíaco, es la fosforilación de la proteína de la bomba por una protein-cinasa, la cual es activada por el AMPc. El poseer mecanismos diversos de regulación da énfasis en la importancia de dicha bomba.

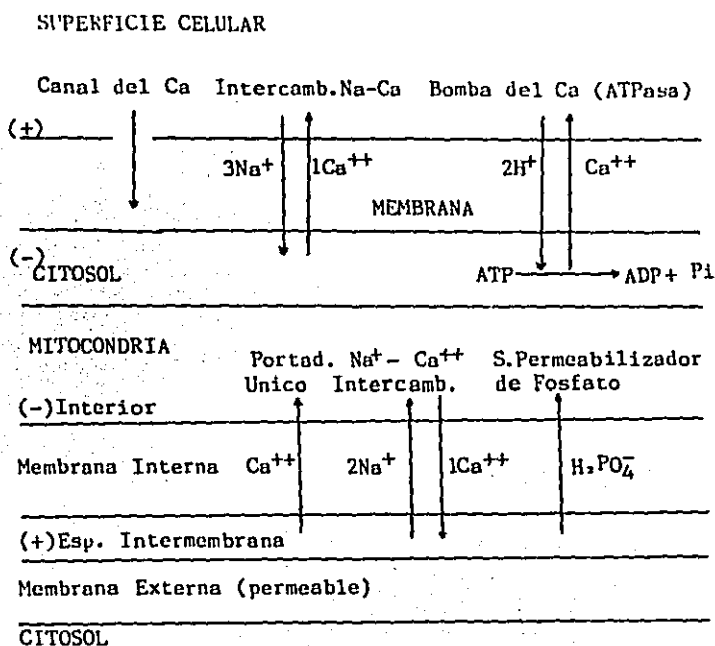


Fig: 30. MECANISMOS DE TRANSPORTE DEL CALCIO A NIVEL DE MEMBRANA
(de: Scientific American, Nov. 1985; pp: 50-58)

Este sistema de bomba es muy sensible a los incrementos mínimos en la concentración del calcio intracelular. Las oscilaciones más amplias activan otro sistema, el llamado intercambiador sodio-calcio. Su mecanismo, es una proteína abundante en las células excitables como las neuronas. El sistema emplea parte de la energía requerida para expulsar al calcio del gradiente de la concentración del sodio. Este ión es más abundante en el exterior de la célula en proporción de 10 a 1, mientras que para el calcio es de 1.000 a 1. Por ello el gradiente reducido del sodio apenas contiene la energía suficiente para forzar al calcio al exterior, en contra de un gradiente de concentración.

Se ha establecido que tres iones de sodio (con carga simple) ingresan a la célula por cada calcio de carga doble. El desequilibrio de la carga permite al proceso de transporte extraer la energía del potencial de membrana, o sea del gradiente de voltaje de la membrana. En estado de reposo la carga en el interior de la membrana es de -90 milivoltios. Así, el transporte permite que el flujo de carga sea a favor del gradiente, debido a que el efecto neto de un ciclo del intercambiador es mover una carga positiva hacia la célula. De tal manera que el gradiente químico y eléctrico impulsan al intercambiador. El sistema tiene alta capacidad, y una célula puede remover del citosol hasta 3×10^9 iones de calcio por segundo. [65,66]

¿Cómo ingresa el calcio a la célula? Ingresan a través de los canales del calcio que son poros moleculares en la membrana que permiten que un gran número de iones se muevan a favor del gradiente hacia el interior de la célula.

Los canales del calcio normalmente se encuentran cerrados, pero son sensibles al potencial de membrana y comienzan a abrirse cuando éste se eleva de -30 mv a +30 mv (durante éste período el 70% de los canales se encuentran ya abiertos) y a +40 mv se dá el pico máximo. Posteriormente, el ingreso de potasio retorna el potencial a su valor de reposo y cesa el influjo de calcio. Probablemente, el canal esté compuesto de tres proteínas diferentes, una de ellas actúa como "sensor" de voltaje. Esta proteína posee también polaridad eléctrica que le permite reorientarse en el orificio externo del canal cuando cambia el campo eléctrico.

Durante el milisegundo que el canal permanece abierto pueden ingresar 3.000 átomos por canal; 70% de ellos se encuentran abiertos en cualquier instante y pueden aumentar por el incremento en la concentración del AMPc que permite la fosforilación del canal. En las células no excitables, los canales permanecen abiertos y, son regulados por el AMP y no por voltaje. Los bloqueadores de los canales del calcio pueden actuar sobre los dos tipos de canal.

Dos mecanismos de transporte del calcio intracelular se encuentran alojados en el retículo sarco y endoplásmico, en algunas células como las del miocardio determinan el movimiento más importante del calcio intracelular. Los mecanismos de ingreso y de egreso del ión en éstos organelos son similares a los de la membrana celular.

Mientras que el retículo sarcoplásmico funciona como un modulador sensible y rápido, la mitocondria, otro organelo de control, actúa como regulador a largo plazo y a gran escala para el calcio. La capacidad de la mitocondria para la liberación y acumulación del calcio fué descubierta en 1961 por Frank D. Vasington y Jérôme V. Murphy. Este organelo es incapáz de efectuar cambios mínimos (submicromolares) y rápidos en la concentración pero su función es crucial en la prevención de las fluctuaciones mayores del calcio celular. [65,66,71]

La mitocondria se encuentra cubierta por dos capas de membrana. La externa es permeable a los iones y su papel en el transporte del calcio es pasivo. La captura de iones de calcio a través de la membrana interna es activada por el potencial de membrana de la mitocondria, que es alrededor de 80 mv, siendo negativa la carga del lado interno de la membrana. El potencial permite a la proteína transportadora, alojada en la membrana, movilizar al calcio positivo hacia el interior, región con carga negativa. El transportador actúa como un portador único, trasladando al calcio sin movimientos compensatorios de otros iones. Pese a que el sistema es de baja afinidad su capacidad de transporte es elevada, efectuando en la membrana interna de la mitocondria alrededor del 90% del total del calcio transportado en todas las membranas celulares de la mayoría de los organismos superiores.

La capacidad de almacenaje mitocondrial es semejante a su capacidad de captura. Otro transportador a nivel de la membrana interna traslada los iones fosfato del exterior hacia el interior de la mitocondria. El fosfato y el calcio forman el cristal de hidroxapatita. Este mecanismo permite almacenar grandes cantidades de calcio. Una célula normal no contiene demasiado calcio en la mitocondria, sin embargo las células lesionadas tienen disminuida su capacidad para extraer el calcio y lo captan en gran cantidad del espacio extracelular, siendo la mitocondria la encargada de capturar el exceso. Esta capacidad de amortiguación no es finita, y si grandes montos de calcio ingresan a la célula se puede sobrepasar su capacidad de almacenaje. El calcio, que normalmente es un transportador de señales vitales se convierte en un asesino iónico de la célula, pues las reacciones que modula continúan descontroladamente y el exceso del ión activa otras reacciones que no ocurren en la célula normal.

Dos mecanismos de transporte del calcio intracelular se encuentran alojados en el retículo sarco y endoplásmico, en algunas células como las del miocardio determinan el movimiento más importante del calcio intracelular. Los mecanismos de ingreso y de egreso del ión en éstos organelos son similares a los de la membrana celular.

Mientras que el retículo sarcoplásmico funciona como un modulador sensible y rápido, la mitocondria, otro organelo de control, actúa como regulador a largo plazo y a gran escala para el calcio. La capacidad de la mitocondria para la liberación y acumulación del calcio fué descubierta en 1961 por Frank D. Vasíngton y Jérôme V. Murphy. Este organelo es incapáz de efectuar cambios mínimos (submicromolares) y rápidos en la concentración pero su función es crucial en la prevención de las fluctuaciones mayores del calcio celular. [65,66,71]

La mitocondria se encuentra cubierta por dos capas de membrana. La externa es permeable a los iones y su papel en el transporte del calcio es pasivo. La captura de iones de calcio a través de la membrana interna es activada por el potencial de membrana de la mitocondria, que es alrededor de 80 mv, siendo negativa la carga del lado interno de la membrana. El potencial permite a la proteína transportadora, alojada en la membrana, movilizar al calcio positivo hacia el interior, región con carga negativa. El transportador actúa como un portador único, trasladando al calcio sin movimientos compensatorios de otros iones. Pese a que el sistema es de baja afinidad su capacidad de transporte es elevada, efectuando en la membrana interna de la mitocondria alrededor del 90% del total del calcio transportado en todas las membranas celulares de la mayoría de los organismos superiores.

La capacidad de almacenaje mitocondrial es semejante a su capacidad de captura. Otro transportador a nivel de la membrana interna traslada los iones fosfato del exterior hacia el interior de la mitocondria. El fosfato y el calcio forman el cristal de hidroxapatita. Este mecanismo permite almacenar grandes cantidades de calcio. Una célula normal no contiene demasiado calcio en la mitocondria, sin embargo las células lesionadas tienen disminuida su capacidad para extraer el calcio y lo captan en gran cantidad del espacio extracelular, siendo la mitocondria la encargada de capturar el exceso. Esta capacidad de amortiguación no es finita, y si grandes montos de calcio ingresan a la célula se puede sobrepasar su capacidad de almacenaje. El calcio, que normalmente es un transportador de señales vitales se convierte en un asesino iónico de la célula, pues las reacciones que modula continúan descontroladamente y el exceso del ión activa otras reacciones que no ocurren en la célula normal.

Pero en situaciones menos drásticas, después de que la mitocondria ha absorbido todo el exceso de calcio, el ión es liberado a una tasa que no altera el metabolismo celular. La expulsión lo realiza un transportador que cataliza el intercambio de sodio y calcio, el intercambiador es eléctricamente neutro, diferente al de la membrana celular, ya que transporta dos sodios por un calcio. Esta carga neutra permite la lenta eliminación del calcio pese al elevado potencial de membrana.[66,72]

El transporte opuesto constituye un ciclo fútil, consume energía al disipar el potencial de membrana mitocondrial generado por el transporte electrónico.

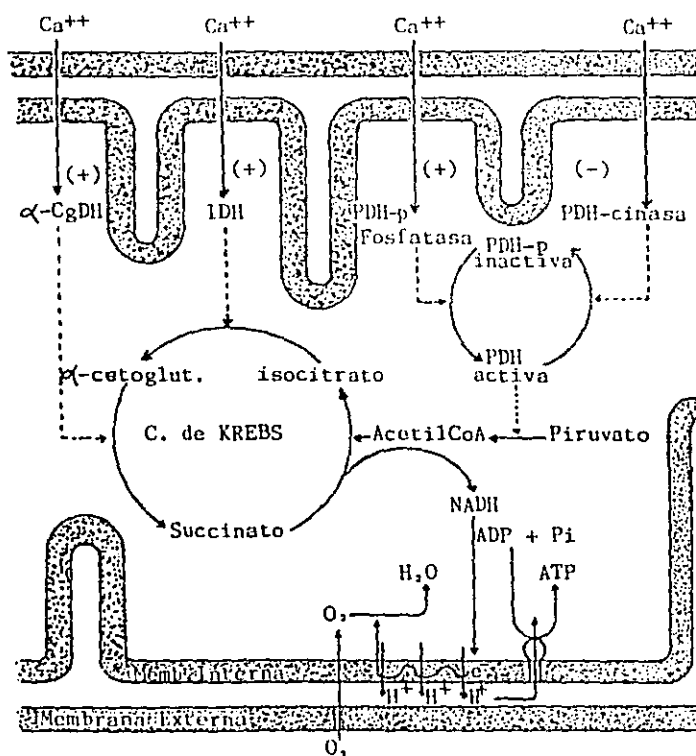


Fig: 31. EL CALCIO ACELERA LA RESPIRACION MITOCONDRIAL

Activa a las enzimas: alfa-cetoglutarato deshidrogenasa (alfa-CgDH), isocitrato deshidrogenasa (IDH) y a la piruvato deshidrogenasa fosfatasa (PDH-p fosfatasa) e inhibe a la PDH-cinasa, enzima que inhibe a la PDH.

(de: Scientific American, Nov 1985, pp: 50-58)

El calcio almacenado en la mitocondria no es inerte y posee un papel metabólico que se ha demostrado recientemente. Cuando el calcio libre mitocondrial alcanza una concentración por encima de 1 mMol, afecta la actividad de por lo menos 4 enzimas que catalizan la degradación de substratos que producen equivalentes reductores para la cadena de transporte de electrones. El efecto del calcio es acelerar los procesos metabólicos que abastecen a la cadena respiratoria, incrementando así la producción de ATP. Esta secuencia de eventos sirve como un mecanismo de retroalimentación positiva que ayuda a la célula a defenderse de los niveles excesivos del ión, ya que cuando éste ocurre, la célula necesita activar todos sus mecanismos para la eliminación del calcio. Todos ellos requieren de la energía producida en la cadena respiratoria. Las dos ATPasas transportadoras del calcio emplean directamente el ATP, el intercambiador Ca-Na, de la membrana, emplea la energía almacenada en el potencial de membrana, la cual es mantenida por la bomba de Na-K, la cual también es una ATPasa. El portador sencillo de la mitocondria requiere del potencial de membrana mitocondrial, que es generado por la respiración aerobia. Fig: 31 [65,66,68,71,72]

En la mitocondria, la elevación inicial de la concentración del Ca, a través de sus efectos metabólicos, asegura la producción de energía para que el transporte del calcio se mantenga activo. Los mecanismos que regulan al ión no actúan en forma independiente dentro de la célula, por lo contrario funcionan en estrecha armonía con el sistema AMPc y con los mecanismos reguladores de otros iones.

BIOQUIMICA DE LOS RADICALES LIBRES

CONSIDERACIONES GENERALES.

El concepto de que el oxígeno o sus productos puedan ser tóxicos, para el médico que con frecuencia se enfrenta a enfermedades isquémico-hipóxicas del corazón, cerebro, etc., parece poco creíble. Sin embargo, se han ampliado en forma considerable las evidencias que demuestran que los productos a partir del oxígeno puedan jugar un rol patogénico en múltiples enfermedades.

Es importante el potencial tóxico del oxígeno y de sus productos, y éste se ha desarrollado bajo la presión de la selección natural, influida por la estructura básica de los organismos de éste planeta. Se cree que cuando se origino la vida en la tierra, ésta se encontraba en un medio atmosférico desprovisto de oxígeno molecular, y las primeras formas de vida pudieron ser similares a las algas verde-azul actuales. Los organismos primitivos empleaban la energía lumínica para sintetizar glucosa por medio de la fotosíntesis, generando oxígeno molecular como subproducto. Estas células metabolizaban anaeróbicamente la glucosa para la obtención de energía por vía de la fermentación. En un inicio con el desarrollo de la fotosíntesis, las células tuvieron que contener el oxígeno producido en el medio intra y extracelular. El oxígeno molecular es una sustancia muy reactiva, particularmente con el carbono, nitrógeno e hidrógeno, los cuales tendrían que haber existido en forma abundante dentro y fuera de la célula. [75]

El oxígeno es un agente oxidante, oxida el carbono a bióxido de carbono, el hidrógeno a agua y el nitrógeno a óxido nitroso. El elevado potencial de oxidación del oxígeno indujo a las células, en los albores de la evolución de la vida, al desarrollo de mecanismos para la destoxificación intracelular. Actualmente, la mayoría de las células emplean la oxidación (captura electrónica) del oxígeno con enorme ventaja en el sistema de citocromos, donde la reducción completa (tetraivalente) del oxígeno a agua se emplea para generar ATP. Este proceso, muy eficiente, llamado glucólisis aerobia representa la fuente energética primaria para el metabolismo de la mayoría de las células. Sin embargo, se puede especular con la posibilidad de que el sistema de citocromos, primariamente, pudiera haber sido desarrollada como mecanismo para la destoxificación del oxígeno y, fué explotada en forma secundaria, por su capacidad para producir energía, a través de un proceso de selección natural para un metabolismo más eficiente de los escasos substratos de carbono orgánico. [73,74,75]

ASPECTOS BIOQUIMICOS.

Por muchas vías el oxígeno molecular es un aceptor electrónico terminal ideal para los organismos que derivan la energía a partir de la oxidación controlada de compuestos de carbono reducidos. Termodinámicamente es un buen aceptor de electrones, al promover el empuje necesario que permite el acople de reacciones, tales como la producción de ATP y así el atrapamiento de energía para su posterior empleo. Al mismo tiempo el oxígeno molecular, cinéticamente, es un mal participante de las reacciones de oxidación espontáneas, debido a su inusual distribución electrónica. El oxígeno, en estado fundamental, posee dos electrones desacoplados y por ello técnicamente es un "diradical". Uno de éstos radicales debe de encontrarse en un spin inverso, para que pueda ocurrir una oxidación divalente o cuatrivalente.

Es ésta restricción del spin la que impone una barrera cinética a la reacción espontánea del oxígeno. Esta misma restricción, sin embargo, permite al oxígeno ser el ideal para las reducciones enzimáticas. Cuando los substratos se encuentran acoplados adecuadamente, a nivel del locus activo enzimático, existe el tiempo necesario para que ocurra una inversión del spin, si éstas colisiones se produjeran en solución libre, el tiempo sería demasiado corto.

En el ser humano, bajo condiciones de normoxia, alrededor del 98% de la reducción del oxígeno es catalizada por el complejo enzimático citocromo aa₃, a nivel de las mitocondrias (citocromo oxidasa). Esta enzima afecta a 4 electrones que reducen al oxígeno molecular para producir dos moléculas de agua, producto completamente inocuo, sin liberación detectable de formas intermediarias, producidas por la reducción parcial del oxígeno. La forma exacta de como la citocromo oxidasa realiza ésta acción es todavía motivo de especulación y se encuentra en investigación; pero la vida en la tierra es afortunada de que la enzima en cuestión posea la capacidad de evitar la producción masiva de intermediarios tóxicos del oxígeno.[74,75]

Como se mencionó previamente, la mayor parte del oxígeno molecular, de los sistemas biológicos, bajo condiciones normales sufren una reacción tetravalente por el eficiente sistema intracelular ya descrito. Sin embargo, 1% a 2% escapa a ésta vía para ser sometida a reducción univalente.

Esta vía produce varias especies altamente reactivas: el peróxido de Hidrógeno (H_2O_2) y los radicales libres: superóxido (O_2^-) y el radical hidroxilo libre ($OH\cdot$).

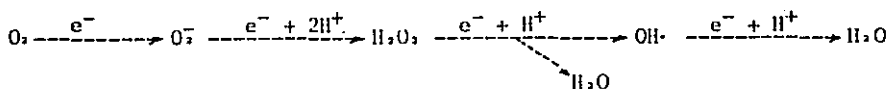


Fig: 32. VIAS UNIVALENTES PARA LA REDUCCION DEL OXIGENO MOLECULAR

Por una serie de transferencias de un simple electrón, el oxígeno molecular es reducido primero al radical libre superóxido (O_2^-), y a partir de él con la adición de un segundo electrón y 2 protones a H_2O_2 . Este por otra reducción univalente con la adición del tercer electrón y otro protón es reducido a agua y al radical libre $\text{OH}\cdot$. Una última reducción univalente con la adición del cuarto electrón y otro protón convierten el radical hidroxilo a agua. El superóxido y el hidroxilo son radicales libres, y contienen por definición un electrón desacoplado en su orbital electrónico más externo.

(de: Surgery, Vol. 94 N° 3 pp:407-411, 1983)

¿Qué es un radical libre?

Una unión química normal consiste de un par de electrones, opuestos en spin y distribuidos en un simple orbital molecular. Un radical libre es un átomo o una molécula simple que contiene un número impar de electrones, y así puede considerarse que posee un enlace abierto o, un medio enlace que le permite ser químicamente reactivo. El electrón impar a menudo es representado en la fórmulas como un punto. Si dos radicales reaccionan ambos se eliminan. Si un radical reacciona con un no radical otro radical libre es producido. Esta característica permite a los radicales libres participar de reacciones en cadena, que pueden, inclusive, ser de miles de ellas. Los radicales libres, con un electrón desacoplado en su orbital electrónico más exterior, son potentes agentes oxidantes o reductores. Los derivados del oxígeno molecular son más activos que él mismo, y representan un peligro severo para la integridad celular. Probablemente, por ello aparecieron en forma temprana en la evolución medios primitivos para la destoxificación intracelular, e inclusive antes del desarrollo del sistema de citocromos; el objetivo fué el prevenir que las células, literalmente, se "quemem" a sí mismas.[75]

La peroxidación por el oxígeno molecular de los AG no saturados puede ser iniciado por los radicales libres, y así, iniciar una serie de reacciones que termina por destruir la arquitectura molecular de la célula. Estos mecanismos de defensa incluyen las enzimas: superóxido dismutasa, catalasas y las glutatión peroxidasas.

McCord y Fridovich fueron los primeros en describir la función de la superóxido dismutasa (SOD) que se encuentra en la mayoría de los tejidos y cataliza la reducción del anión superóxido a H_2O_2 , siendo así, destoxificado. De manera similar las catalasas y peroxidasas detoxifican al H_2O_2 , al catalizar su reacción a H_2O .

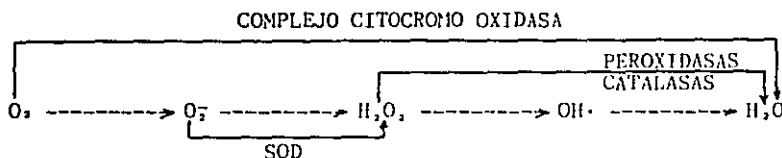


Fig: 33. MECANISMOS ENZIMATICOS PARA LA DETOXIFICACION DE LOS RADICALES LIBRES GENERADOS POR LA REDUCCION UNIVALENTE DEL OXIGENO MOLECULAR

La SOD cataliza la dismutación del superóxido a peróxido de hidrógeno y oxígeno sin la oxidación de otras moléculas en el medio intracelular. En forma similar, las catalasas y las peroxidasas catalizan la reducción del H_2O_2 , directamente a H_2O , sin la producción del tóxico radical $OH\cdot$. Estas enzimas sirven para detoxificar los 3 radicales altamente reactivos generados a partir de la reducción univalente del oxígeno molecular.

(de: Surgery, Vol 94, Nº 3 pp: 407-411, Sep.1983)

La reducción con 1, 2 ó 3 electrones de la molécula de oxígeno produce la formación del superóxido, peróxido de hidrógeno y el hidroxilo respectivamente. El H_2O_2 es citotóxico debido a su capacidad oxidativa moderada y se emplea en forma frecuente como antiséptico o desinfectante. Es bastante estable, y en soluciones concentradas puede ser almacenado por períodos largos. El radical hidroxilo es altamente reactivo, inestable, y es fuertemente oxidante, puede ser producido en una reacción (la cual se describe más adelante) catalizada por un metal entre el superóxido y el peróxido de hidrógeno. Biológicamente, el radical hidroxilo es capaz de producir gran daño oxidativo, aunque inespecífico, como también iniciar una cadena de reacciones de formación de radicales libres. El superóxido es el resultado de la reducción univalente del oxígeno. Químicamente es un buen agente reductor y es un moderado oxidante, que puede iniciar reacciones en cadena para la formación de radicales libres.[73,75]

MECANISMOS DE PRODUCCION.

Numerosos agentes han sido descritos como causantes del origen de los radicales libres y, otros más como catalizadores de su producción. Dentro de éstos mecanismos se incluyen: la reducción incompleta del oxígeno a nivel de la cadena de transporte electrónico en la mitocondria, la radiación, la fotólisis, la reducción directa del oxígeno, la síntesis de radicales libres intermedios durante el metabolismo del ácido araquidónico (éstos endoperóxidos pueden producir radicales libres del oxígeno), la actividad del citocromo P-450, la producción, controlada, en los leucocitos y en situaciones de isquemia en el período de reperfusión la fuente mayor de ellos es la enzima xantina oxidasa.

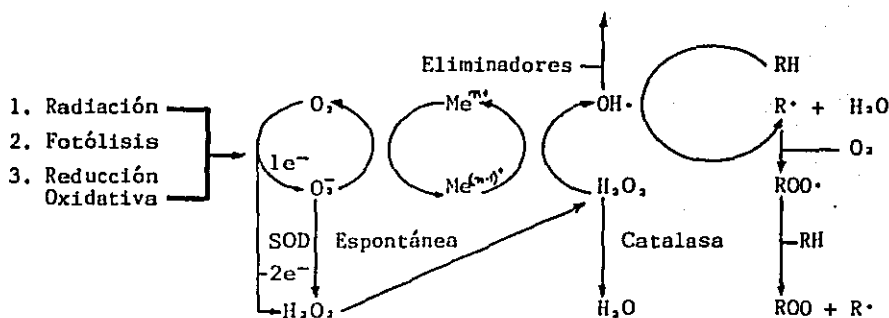


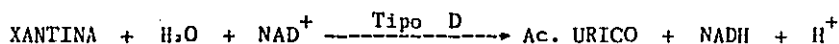
Fig: 34. PRODUCCION Y REACTIVIDAD DE LOS RADICALES DEL O_2 EN EL MEDIO INTERNO

Muchos agentes dentro de la célula generan el O_2^- . En una reacción en cadena, que es típica de la reactividad de los radicales libres, en el interior de la célula quelan metales (Mn^{m+}) que son reducidos por el superóxido a especies ($Mn^{(m-1)+}$) que reaccionan con el H_2O , para generar el $OH\cdot$. Nótese que en varios puntos de ésta secuencia las especies tóxicas pueden ser detoxificadas por la SOD, catalasas y otros eliminadores de radicales.

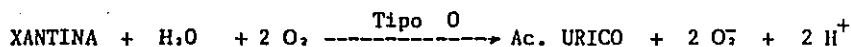
(de: Surgery, Vol. 94; N° 3, pp: 407-411, Sep. 1983)

A continuación se describe en forma extensa el mecanismo de producción de los radicales libres durante la isquemia.

La enzima xantina oxidasa fue el primer mecanismo biológico documentado de producción del radical superóxido. Se encuentra ampliamente distribuida en los tejidos. En la mayoría de las especies, el intestino, el hígado y los pulmones, son ricos en ésta enzima. En la mucosa intestinal, la enzima parece estar más concentrada en la región terminal de las vellosidades. Es sintetizada como xantina deshidrogenasa (tipo D). Esta forma representa el 90% de la actividad total de la enzima en los tejidos sanos. La deshidrogenasa no puede transferir electrones al oxígeno molecular para formar peróxido de hidrógeno o superóxido, pero puede reducir al NAD^+ tal como se describe en la siguiente reacción:



"In vitro", la deshidrogenasa rápidamente se convierte en oxidasa (Tipo O) al sufrir una proteólisis limitada o una oxidación sulfidrilica. La oxidasa puede emplear O_2 en vez de NAD^+ , produciendo O_2^- , H_2O_2 o ambos, tal como se observa en la siguiente reacción:



Aunque desde hace tiempo se conoce que ésta conversión es posible, se creía que "in vivo" no era factible pero, actualmente los estudios en tejidos vivos isquémicos, durante la reperfusión han demostrado que es posible y es una fuente de radicales libres.

¿Qué causa la conversión de la actividad tipo D a tipo O?

Se ha planteado la hipótesis de que el proceso se inicia cuando la disminución del flujo sanguíneo tisular produce insuficiente disponibilidad de oxígeno para la producción de ATP. Cuando se depleta la carga energética celular no es posible mantener los gradientes iónicos adecuados a través de las membranas lo que precipita la redistribución de los iones de calcio. Probablemente, la concentración elevada del calcio citosólico activa una proteasa capaz de convertir la deshidrogenasa en oxidasa. Varias de éstas proteasas activadas por el calcio ya han sido descritas en diversos tejidos. En forma concomitante, la depleción del ATP celular eleva la concentración de AMP, que es catabolizado a adenosina, inosina y por efecto de la purina nucleósido fosforilasa a hipoxantina.

La hipoxantina y la xantina sirven como sustrato purínico oxidable para la xantina oxidasa/deshidrogenasa. Por tanto, durante la isquemia dos importantes cambios ocurren a nivel tisular: la aparición de uno de los sustratos requeridos y una nueva actividad enzimática. El otro sustrato necesario para la actividad tipo O -el oxígeno molecular- es aportado durante la reperfusión del tejido. De ésta manera se inicia en forma brusca y masiva la producción del radical superóxido y del peróxido de hidrógeno. A nivel intestinal, la conversión completa de la forma deshidrogenasa a oxidasa toma lugar dentro de los primeros 10 segundos de la inducción de la isquemia. En el corazón el contenido de oxidasa se duplica después de 8 minutos de isquemia, mientras que en el hígado, bazo, riñones y pulmones se requieren de alrededor de 30 minutos para lograr el mismo incremento. La xantina deshidrogenasa del músculo esquelético es la única forma de la enzima que no se convierte a oxidasa durante la no-perfusión, esto se corrobora por la observación clínica de la resistencia relativamente mayor, a la isquemia del músculo esquelético en comparación con otros tejidos.[73,74,75,76,77]

La actividad tipo O que se presenta durante la reperfusión/isquemia es irreversible, y sugiere que la proteólisis podría ser la responsable de ésta conversión. Además, se puede prevenir por: la administración previa de una proteasa-serina inhibidora, la inhibición conjunta de la actividad de la calmodulina disminuye considerablemente la conversión del tipo D a O sugiriendo el rol directo o indirecto del calcio y de la calmodulina en la conversión,

Esto también se ha demostrado, ya que la administración previa de bloqueadores del ingreso del calcio, como el verapamilo, previenen el desarrollo de lesiones isquémicas mayores. [79,83]

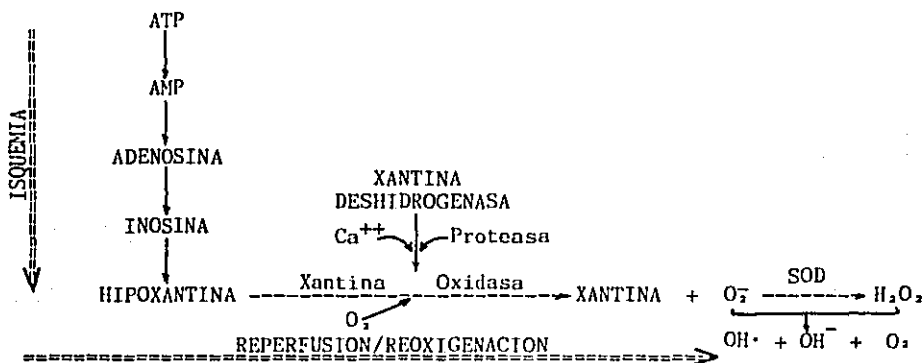


Fig: 35. MECANISMO PROPUESTO PARA LA PRODUCCION DE RADICALES LIBRES DURANTE LA ISQUEMIA (de: Surgery, Vol. 94; N° 3 pp: 415-421, Sep 1983)

PAPEL DEL HIERRO EN LA FORMACION DE RADICALES LIBRES.

Como se describió previamente, en situaciones de reperfusión, se producen radicales libres del oxígeno, principalmente el superóxido; durante ésta fase el daño celular es más objetivo por la peroxidación de los lípidos de la membrana, especialmente por los AG poliinsaturados (AGPI). Los estudios termodinámicos del superóxido han demostrado que posee insuficiente capacidad como para iniciar la peroxidación lipídica. Para la reacción entre el O_2^- y los AGPI, la energía producida (ΔG) a partir de la extracción del hidrógeno divinílico de los AGPI es + 18 Kcal/mol. La reducción del superóxido a H_2O_2 tiene un ΔG -18 Kcal/mol. Cuando la ΔG neta de la reacción es positiva, ésta es termodinámicamente desfavorable. La suma de ΔG antes mencionado es de +40 Kcal/mol; así, la iniciación directa de la peroxidación lipídica por el superóxido es improbable. Más aún, la reacción directa entre el O_2^- y los AGPI no es probable por la disposición de su spin. Sin embargo en presencia de un metal catalizador y de transición, como el hierro, se producen especies más reactivas que pueden superar la restricción del spin; así, el complejo que involucra al oxígeno y un metal de transición puede originar la peroxidación lipídica. [80,81,82]

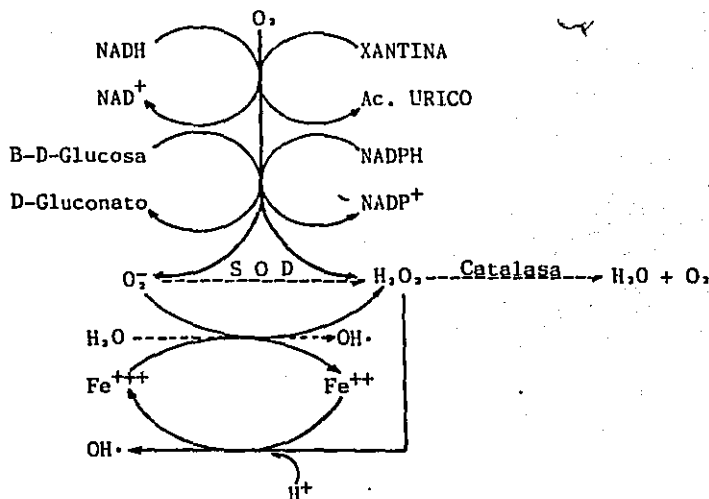


Fig: 36. GENERACION DEL $\text{OH}\cdot$ DURANTE LA REPERFUSION. LA VIA DEPENDIENTE DEL Fe ES LA REACCION DE HABER-WEISS.(de: Emerg Med Vol. 14:8, Aug 85)

Existe evidencia reciente de que el superóxido libera directamente hierro de la ferritina (por reducción del hierro del estado férrico al ferroso), añadiendo de ésta manera una otra explicación a la lesión tisular mediada por el superóxido.

Inicialmente se pensó que el radical hidroxilo era producido por la reacción de Haber-Weiss entre el superóxido y el peróxido de hidrógeno. Sin embargo, la evidencia actual indica que el radical hidroxilo no está involucrado en el inicio de la peroxidación lipídica, como demostraron Aust y cols. y Sugioka y cols., que los quelatos de bajo peso molecular del ión hierro, por ejemplo el ión perferrril (ADP-Fe^{+++}) pueden reaccionar con el O_2 para generar especies oxidantes muy activas, cuya naturaleza aún no está del todo aclarada.

Estos complejos pueden extraer directamente el hidrógeno de los ácidos grasos poliinsaturados sin la participación intermedia del agua o del $\text{OH}\cdot$.

Probablemente la ferritina es la fuente de liberación del hierro durante la isquemia. El mecanismo de liberación es la reducción de la forma de almacenamiento, que es en estado férrico (Fe^{3+}) insoluble, a la forma ferrosa (Fe^{2+}). No es sorprendente por ello, que el medio reductor que se desarrolla en la célula durante la isquemia se asocie al incremento de la concentración celular de quelatos del hierro de bajo peso molecular.

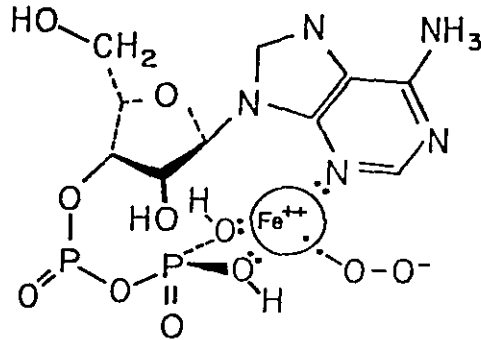
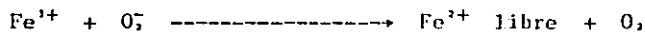


Fig: 37. ION ADP PERFERRIL
(de: Emerg Med Vol.14:8, Aug 85)

En condiciones anaeróbicas se observa una rápida liberación del hierro a partir de la ferritina y está mediada por el FMN. El FMN está frecuentemente asociado a la ferritina y puede ser reducida por el NADH o por el NADPH. La acumulación del primero durante la isquemia, ocurre conjuntamente a la acumulación del ácido láctico.

Se puede esperar una liberación adicional del hierro a partir de la ferritina durante la reperfusión. La transformación, dependiente del calcio de la xantina deshidrogenasa a la forma oxidasa y, la acumulación de hipoxantina durante la isquemia ocasionan la producción del superóxido por ésta enzima, durante la reperfusión. La liberación directa del hierro de la ferritina también puede ser producida por el superóxido a través de la reducción del metal al estado ferroso, tal como se demuestra en la siguiente reacción:



Se ha demostrado que durante la isquemia/reperfusión, el hierro es extraído de los sitios de almacenamiento intracelular para actuar como catalizador de la reacción de Haber-Weiss y, conformar especies químicas reducidas altamente reactivas. El conocimiento científico actual vislumbra el daño potencial que el hierro es capaz de producir a las células isquémicas.[79,80,81,82,83,84]

ALTERACIONES METABOLICAS EN LA ISQUEMIA CELULAR

INTRODUCCION.

La isquemia celular, en un concepto general, ocurre cuando el flujo sanguíneo se reduce por debajo del mínimo necesario para mantener los requerimientos metabólicos celulares. Dependiendo del grado de reducción, las alteraciones progresan desde la lesión metabólica hasta la estructural. En la isquemia celular aguda existe un transporte insuficiente de los substratos primarios, incluyendo al oxígeno. En situación de isquemia, el déficit de oxígeno se debe a la insuficiencia circulatoria, que es muy diferente a la falta de oxígeno por deficiencia en el transporte o en la liberación del oxígeno de la sangre.

El daño irreversible durante el ataque isquémico agudo depende del grado y duración del episodio. La distribución anatómica de la isquemia, el tipo celular involucrado y la circulación colateral potencial contribuyen al daño final.

Las alteraciones celulares pueden también ocurrir posterior al ataque isquémico, durante el reinicio de la perfusión sanguínea. Hearse, Nayler y cols., popularizaron el concepto de: "lesión por reperfusión". Se refiere a la lesión o muerte celular causada durante la reperfusión tisular, en contraste al daño o muerte celular producto del episodio isquémico precedente.

La lesión depende del tiempo, pero es necesario considerar la heterogeneidad celular, ya que en cualquier momento es posible encontrar células que tienen todas las características de la lesión isquémica junto a células relativamente normales a juzgar por su aspecto estructural.

La hipoxia difiere de la isquemia con respecto a la tasa de remoción de los productos catabólicos incluyendo a los hidrogeniones. El calcio y el oxígeno, disminuido, continúan estando presentes en el líquido extracelular.

Durante la isquemia-reperfusión existen por lo menos tres factores que debilitan y rompen las membranas: el estrés físico debido a los cambios de osmolaridad consecuentes a las alteraciones iónicas, la degradación y reorientación de los fosfolípidos y, la peroxidación lipídica asociada a la producción de radicales libres.

El comportamiento celular ante ésta agresión es semejante en todas las células de la economía, las pequeñas variaciones se deben a las diferentes tasas de actividad metabólica, variación en las reservas de substratos y a la susceptibilidad celular específica. Fig: 38. [44,85,87,88,93]

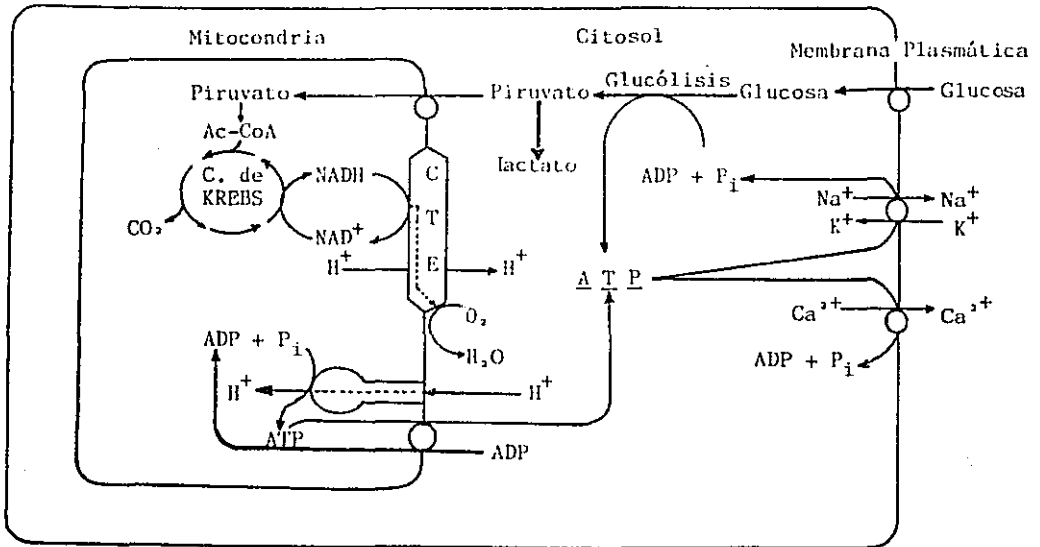


Fig: 38. METABOLISMO ENERGETICO EN LA CELULA
(de: Annals Emerg Med Vol.14, N° 8 Aug 1985)

COMPORTAMIENTO DEL CALCIO DURANTE Y DESPUES DE LA ISQUEMIA ANOXIA.

El insuficiente metabolismo oxidativo durante la isquemia-anoxia celular ocasiona una depleción rápida de las reservas de ATP. La célula posee escasa reserva de substratos para mantener el metabolismo anaerobio y es incapaz de sostener niveles adecuados de ATP con la glucólisis. La reducción brusca de los compuestos de alta energía disminuye la capacidad celular para mantener los gradientes iónicos a través de la membrana celular. Esto ha sido confirmado por los trabajos de Vyskocil y cols, Nicholson y cols. y Siemkowics, quienes demostraron que posterior a 1 ó 2 minutos de anoxia cerebral existe una pérdida excesiva del potasio celular con marcado ingreso de sodio y calcio. Esto disminuye a un 90% el calcio ionizado del intersticio del tejido cerebral. La acumulación del calcio en la mitocondria es una evidencia mas de su masivo ingreso en la célula anóxica. El movimiento del calcio en las células isquémicas es similar en todos los tejidos. En los vasos sanguíneos ocasiona el aumento del tono arterial y en el corazón incremento de la presión de llenado de las cavidades. Happel y cols. demostraron el ingreso masivo del calcio en las células

de la médula espinal lesionada, con incremento de hasta 4 veces por encima de lo normal.[68,90,72]

CAPTURA DE CALCIO Y ATP.

De acuerdo a la teoría quimiosmótica de Mitchell, el NADH derivado de la reducción del NAD, en el ciclo de Krebs, es oxidado por el sistema de citocromos en la superficie interna de la membrana mitocondrial. La energía de oxidación es empleada directamente por la bomba de protones que los transfiere y así, establece un gradiente energético electroquímico a través de la membrana mitocondrial y, la cual se emplea principalmente en la síntesis de ATP. Sin embargo, la energía se puede emplear también en el transporte activo de varias sustancias incluyendo al calcio o en la inversión del transporte de electrones, reduciendo así la concentración de NAD^+ .

La exposición de la mitocondria al calcio y a los sustratos metabólicos produce gran incremento en el consumo de oxígeno que se acompaña de bombeo de protones al exterior y de la captura del calcio en el interior de la mitocondria. La energía de oxidación se emplea en la mitocondria para la captura del calcio sin la producción intermedia de ATP. Este bombeo del calcio consume, obligadamente, energía y desacopla la fosforilación oxidativa del ADP a ATP. En presencia de concentraciones fisiológicas de fosfato se une al calcio dentro de la matriz mitocondrial. Así, la mitocondria mediante éste mecanismo protege a la célula de la elevación de la concentración del calcio citosólico.

Se requiere de la producción continua de ATP para mantener la vitalidad celular. La energía requerida para la síntesis de ATP proviene de la oxidación de sustratos nutritivos a través de las vías aerobias y/o anaerobias. Normalmente el 80 a 90% del ATP se genera en la mitocondria a partir de la fosforilación oxidativa. Así, cuando el aporte de oxígeno se interrumpe (anoxia o isquemia completa) o se reduce drásticamente (hipoxia o isquemia incompleta), la célula emplea sus reservas de fosfatos de alta energía, como el fosfato de creatina, e incrementa la glucólisis anaerobia para la producción de ATP. A pesar de que algunas células como las neuronas poseen alta capacidad para generar ATP mediante la glucólisis, el consumo acelerado de energía por el transporte activo de iones lleva a su depleción completa a los pocos minutos del inicio de la isquemia parcial o completa y pronto las reacciones de degradación bioquímica inician el proceso de muerte celular.

Con la depleción del ATP aumenta el calcio intracelular. Y al faltar energía para transportarlo fuera de la célula, se eleva su concentración, pudiendo i

gualar a los niveles del medio extracelular.

El aumento del calcio libre dentro de la célula tiene muchos efectos entre los que se menciona: activa a las proteasas que activan a las enzimas que median el transporte intracelular, activa a las proteínas intracelulares, a la enzima fosfolipasa A₂, (produce una rápida liberación de AG, especialmente del ácido araquidónico de la membrana plasmática hacia el citosol). La concentración de araquidonato en los 5 primeros minutos de isquemia-anoxia se eleva hasta 5 veces por encima de lo normal, éste ácido es el sustrato para el sistema de la ciclooxigenasa. El tromboxano producido estimula directamente la entrada del calcio a la célula. El incremento del ión también acelera las reacciones de la lipolipasa, lo que ocasiona la destrucción acelerada de la membrana celular. Esta aceleración, aunada al defecto en la síntesis de AG de membrana, debido al déficit energético en forma de ATP, produce la acumulación de AG y favorece la destrucción de la membrana e incrementa aún más la entrada del calcio. Este ión moviliza los depósitos endógenos de noradrenalina, que junto a la liberación de neurotransmisores, también mediada por el calcio, ocasionan la elevación anormal de la permeabilidad iónica de la membrana celular. Fig: 39.

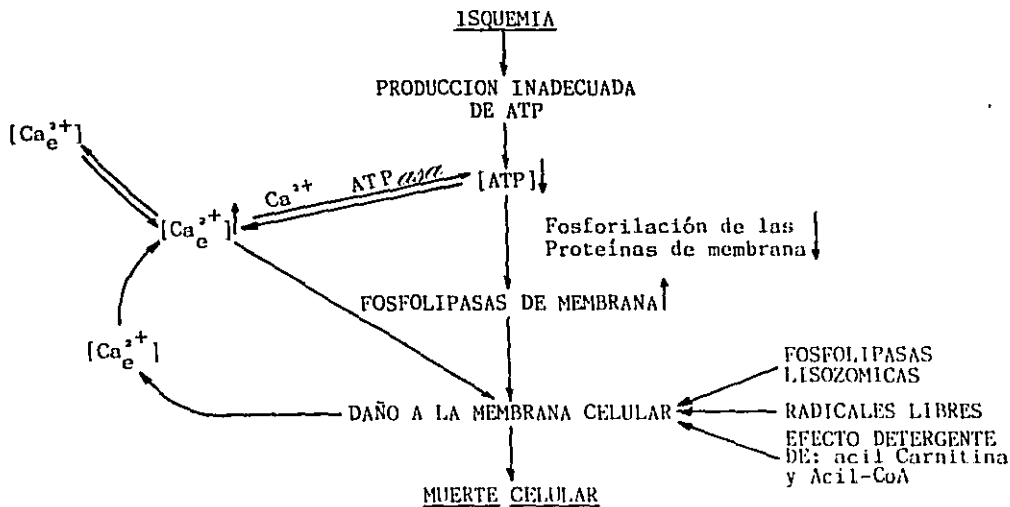


Fig: 39. RELACION ENTRE LA DEPLECCION DE ATP, INGRESO DE Ca^{2+} Y DAÑO DE MEMBRANAS
Explicación en el texto. (de: Am J Cardiol Vol. 52, Supp Jul 20 1983)

La reperfusión del tejido isquémico con oxígeno y sustratos oxidables puede reactivar la fosforilación oxidativa en la mitocondria, permitiendo la recuperación de los niveles de ATP, lo que puede significar viabilidad celular. Pero si ésto ocurre muy tardiamente en el período isquémico la mitocondria se lesiona hasta un grado tal en que es incapaz de resintetizar ATP en forma paralela a los requerimientos celulares. Bajo éstas condiciones la conversión acelerada de glucosa a lactato constituye un ciclo poco eficiente que exacerba el problema al crear un medio intracelular patológicamente ácido, debido a la acumulación del ácido láctico. El grado de la acidemia depende de los niveles preisquémicos de glucosa.[45,87,90]

Por lo tanto, la mitocondria se comporta como amortiguador normal del calcio por lo menos hasta que el ATP alcance niveles suficientes para el funcionamiento adecuado de las bombas que excluyen el calcio de la célula.[14,65,66, 67,72,87,90]

MECANISMOS DE DAÑO MITOCONDRIAL DURANTE LA ISQUEMIA.

Existen dos formas fundamentales de consumo de oxígeno mitocondrial. La fosforilación (paso 3) respiratoria que se realiza ante la presencia de ADP + Pi. Y la respiración de reposo (paso 4) que es la obtenida previa a la adición de ADP o posterior a que la fosforilación del ADP a ATP se haya completado. Durante la isquemia disminuye considerablemente la respiración del estadio 3 y se debe a la declinación en la actividad de la cadena de transporte electrónico y no a la inactivación directa de las enzimas responsables de la síntesis de ATP y del transporte electrónico. La respiración del paso 4 en las mitocondrias cerebrales se afecta recién una hora después de la isquemia, a diferencia de otros tejidos como el hígado y el riñón, en los que la isquemia induce una elevación en la tasa de la respiración de reposo (desacople) debido al incremento no específico de la permeabilidad iónica de la membrana interna de la mitocondria.Fig: 40

Durante los estadios iniciales de la reperfusión isquémica, la acumulación del calcio en la mitocondria puede ser tan importante como la síntesis de ATP, para establecer un medio intracelular adecuado para la sobrevivencia. Si la reperfusión posterior a la isquemia completa es mayor de 5 minutos (cuando el ATP ya está completamente depletado), la respiración dependiente de la captura del calcio por la mitocondria constituye el único mecanismo disponible, al inicio, para disminuir la concentración del calcio en el citosol.

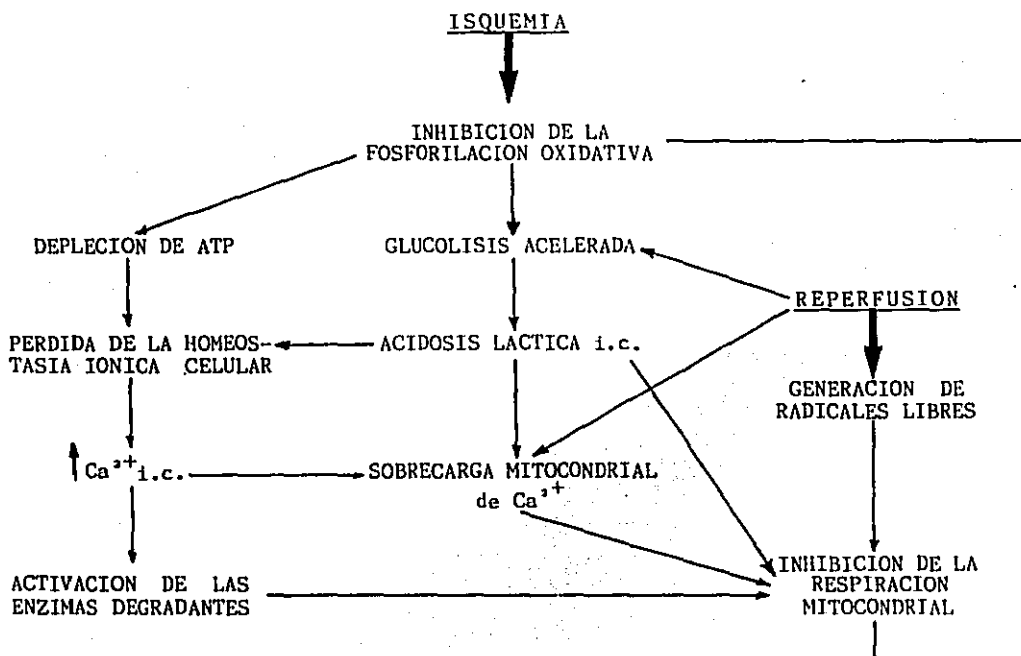


Fig: 40. DAÑO MITOCONDRIAL DURANTE LA ISQUEMIA Y LA REPERFUSION
(de: Annals Emerg Med Vol.14, Nº 8 Aug 1985)

La tasa y capacidad de acumulación del calcio en la neurona disminuyen considerablemente después de 15 a 30 minutos de isquemia, sin embargo, la capacidad máxima para el secuestro del calcio no disminuye tan rápido como lo hace la fosforilación oxidativa y parece incluso exceder, lo requerido para amortiguar el calcio citosólico después de 30 minutos de isquemia. Fig: 44

Se sospecha que los siguientes factores primarios están involucrados en la lesión de la mitocondria durante la isquemia y reperfusión: la acidosis láctica intracelular, la actividad de las enzimas degradantes activadas por el calcio, la sobrecarga mitocondrial de calcio y la peroxidación lipídica de la membrana inducida por los radicales libres.

El medio ácido inhibe la respiración mitocondrial y favorece la acumulación del calcio. El pH de 6.4 disminuye la respiración al 50% y el pH de 6.0 causa la inhibición de la capacidad máxima de secuestro de calcio. Fig: 41

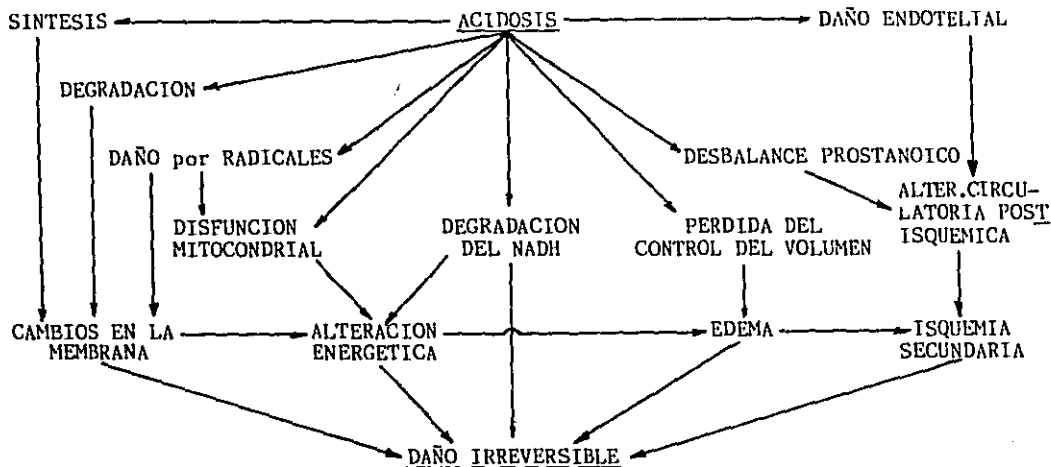


Fig: 41. CONSECUENCIAS DE LA ACIDOSIS SEVERA SOBRE LOS MECANISMOS CELULARES
(de: Annals Emerg Med Vol.14, Nº 8 Aug 1985)

Una enzima degradante activada por el calcio es la fosfolipasa A, que genera AGL y lisofosfolípidos, su actividad produce daño mitocondrial extenso, incluyendo a la captura del calcio y a la fosforilación oxidativa. También incrementa la respiración del estado 4 al aumentar la permeabilidad de la membrana mitocondrial.

El acúmulo anormal del calcio en la mitocondria reenergizada durante la reperfusión puede causar daño mitocondrial post-isquémico por lisis osmótica y rotura irreversible de la membrana celular.[44,87,88,91,93]

RADICALES LIBRES Y LESION ISQUEMICA.

La hipótesis de Demopoulos-Flamm considera que los radicales libres son producidos durante la isquemia incompleta debido a la falta de un aceptor de electrones (oxígeno) a nivel de la enzima citocromo oxidasa en la cadena electrónica. Este hecho confirma la disminución en la concentración tisular de ácido ascórbico (eliminador natural de radicales libres) y de las uniones polienóicas de los AG de los fosfolípidos. Existe evidencia de que la isquemia altera la producción de radicales libres. La transformación de la xantina deshidrogenasa a su forma oxidasa por el Ca es otra fuente importante de producción de radicales libres en la isquemia. Fig: 41,46[73,79,80,85,87]

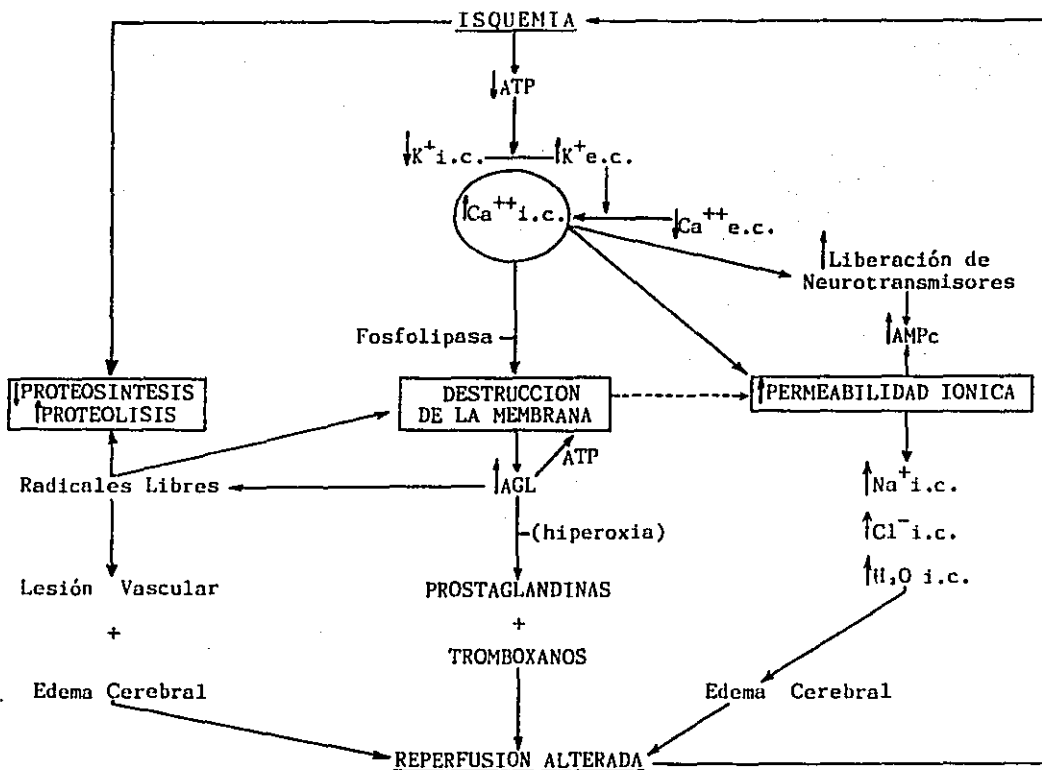


Fig:41a. VIAS PATO-METABOLICAS DEL CALCIO Y DE LOS RADICALES LIBRES EN LA ISQUEMIA
(de: Critical Care State of the Art Vol. 6 1985)

HIERRO Y LESION TISULAR.

La peroxidación lipídica es una reacción en cadena en la que un radical libre ataca las uniones dobles de los AG insaturados de los fosfolípidos de la membrana celular. El paso inicial de ésta reacción es la tasa limitante. Aunque existe controversia acerca de la naturaleza de la reacción se sabe que el hierro en estado libre es necesario para catalizar la reacción.

El hierro se encuentra disponible para catalizar la formación de radicales libres durante la isquemia y/o reperusión. El producto de su combinación con el ADP: el ión perferil también se encuentra involucrado en la peroxidación lipídica.

El hierro es ubicuo en los tejidos animales. El corazón contiene 96 ± 35 $\mu\text{M/gm}$ de tejido y el cerebro 63 ± 24 $\mu\text{M/gr}$. Normalmente, la mayoría se encuentra fuertemente unido a enzimas o almacenado en forma de hierro férrico en la ferritina. El hierro libre es tóxico para los tejidos.

El hierro puede ser liberado de los sitios normales de su almacenamiento en la célula durante la isquemia. El espectro de resonancia del spin electrónico del tejido ventricular izquierdo demuestra al hierro en un "sitio inusual de unión" 15 minutos después del inicio de la isquemia. Y, es seguido por la producción del aldehído malónico, subproducto de la peroxidación lipídica, a los 45 minutos de la isquemia. También existe evidencia de la elevación de la concentración de quelatos de hierro de bajo peso molecular.

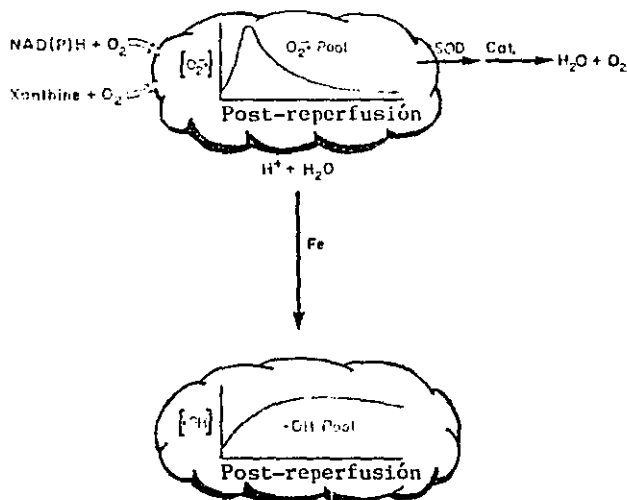


Fig: 42. PAPEL DEL HIERRO EN LA PATOGENIA DE LA LESION TISULAR POST-REANIMACION
(de: Annals Emerg Med Vol. 14 N° 8 pp:103-109 Aug 1985)

La ferritina es una fuente probable del hierro y es liberado de ella por reducción del hierro férrico, almacenado dentro de la molécula. Esto puede ocurrir por la acción reductora del superóxido, que es generado por el metabolismo de la hipoxantina (a partir de la catálisis del ATP) por la xantina oxidasa (activada por el calcio). También los equivalentes reductores tales como: el NADH y el NADPH que se acumulan durante la isquemia pueden interactuar con la ferritina vía del flavin mononucleótido (FMN) para liberar al ión ferroso.

Tales reacciones podrían incrementar la lesión de la isquemia incompleta, conjuntamente con la hiperglicemia preisquémica, ya que el metabolismo anaerobio de la glucosa genera NADH. Estos mecanismos explican el porqué del beneficio producido por el empleo, durante la reperfusión tisular, de la SOD, enzima que anula al superóxido, la deferoxamina, la cual es quelante del hierro y el allopurinol, que inhibe a la enzima xantina oxidasa.[80,81,82]

ACIDOS GRASOS LIBRES E ISQUEMIA.

En un medio pobre en ATP el ingreso del calcio activa a las fosfolipasas que destruyen los fosfolípidos de la membrana celular produciendo la liberación de AGL. En el cerebro se ha demostrado que su acumulación se correlaciona directamente con la duración de la isquemia completa. La lesión cerebral progresiva o la que se desarrolla durante el período de reperfusión también se han relacionado con el incremento en la síntesis de prostaglandinas a partir del ácido araquidónico. La acumulación de éste ácido estimula las vías de la lipo y ciclooxigenasa produciendo: tromboxanos, leucotrienos y endoperóxidos. Los tromboxanos pueden ser responsables de coagulación intravascular con oclusión y vasoespasmo. Los endoperóxidos incrementan la producción de radicales libres. Demopoulos ha sugerido que son la causa principal del daño isquémico. Wei y cols., han demostrado que en los vasos cerebrales producen parálisis vascular.

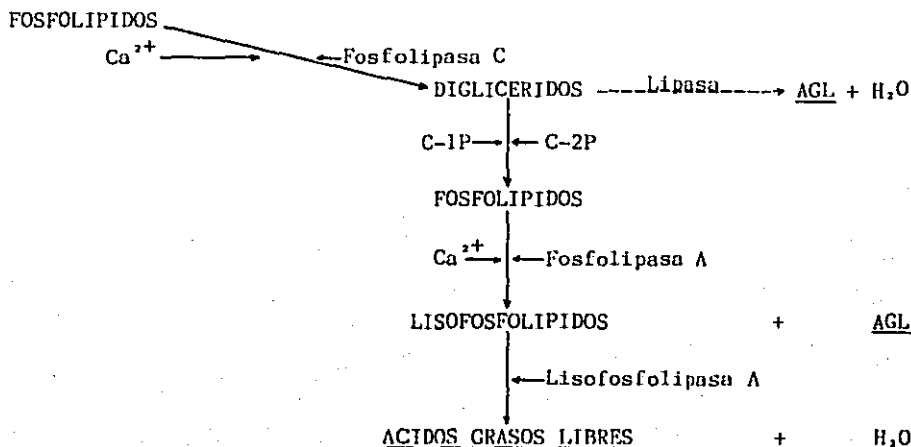


Fig: 43. METABOLISMO DE LOS FOSFOLIPIDOS NEURONALES DURANTE LA ISQUEMIA
(de: Pathol Biol 30: 269-277,1982)

Probablemente, la disminución del ATP y la entrada del calcio actúan juntos para iniciar y mantener la liberación de AGL a partir de los fosfolípidos. Fig: 43. Así, la depleción del ATP evita la síntesis de inosin fosfoglicéridos (I-P-G) y la reaclación de los lisofosfolípidos, mientras que la entrada del calcio acelera la destrucción de los fosfolípidos.

Un factor que contribuye a la rápida acumulación de AGL es la acción tisular de las lipasas diglicéridas y de las lisofosfolipasas. Debe de hacerse énfasis en el incremento de la lipólisis durante la isquemia, y en otras condiciones adversas, ya que es un evento inicial y se dá previo a la insuficiencia energética. Los niveles elevados de AGL, incluyendo al ácido araquidónico, persisten por algún tiempo después del inicio de la circulación.[85,87,89,97]

ALTERACION DE LOS NUCLEOTIDOS DURANTE LA ISQUEMIA.

El AMPc controla muchos procesos celulares y su inhibición condiciona la pérdida del control de muchos sistemas que contribuyen a la homeostasia celular. La formación de AMPc requiere de ATP, cuando éste disminuye, también sus niveles lo hacen.

El déficit celular de los niveles de AMPc pueden deberse a alteraciones en la adenil ciclasa de la membrana plasmática, por incremento de actividad de la fosfodiesterasa o bien a cambios consecuentes a la anoxia celular. También, puede deberse al déficit químico/funcional de los substratos del ATP dentro de la célula.

Los enlaces de fosfato de alta energía que se encuentran en la molécula de ADP pueden recuperarse por la reacción catalizada por la adenil cinasa: en la que una molécula de ATP y otra de AMP se producen a partir de dos ADP. El ATP resultante se emplea, y el fosfato remanente del AMP es eliminado irreversiblemente por la enzima 5-nucleotidasa, produciendo la adenosina y un fosfato inorgánico. La adenosina que sale de la célula es un potente vasodilatador. Esta vía metabólica es la responsable de la depleción del contenido celular de nucleótidos de adenina. La adenosina producida es rápidamente deaminada a inosina y separada de su ribosa. Posteriormente continúa su degradación hasta hipoxantina y xantina. Fig: 20.[24,39,87]

EVENTOS DURANTE LA FASE REVERSIBLE DE LA LESION ISQUEMICA.

En los primeros 10 a 15 segundos posteriores a la isquemia completa, la presión parcial del oxígeno tisular desciende, la respiración mitocondrial se inhibe y las células emplean la glucólisis anaerobia como fuente principal

para la producción de fosfatos de alta energía. Como consecuencia los niveles de glucógeno descienden y el lactato se acumula en el tejido isquémico.

La actividad celular cesa rápidamente. En las células contráctiles a los 10 a 15 segundos del inicio de isquemia severa cesa la actividad contráctil. Debido a la rápida producción de lactato, la tasa de la glucólisis se limita por la inhibición que sufren varias enzimas glucolíticas por acción de sus productos terminales. Parcialmente, el incremento de la relación lactato/piruvato disminuye la conversión de piruvato a lactato, ya que la proporción NADH/NAD se incrementa y la glucólisis se inhibe a nivel de la gliceraldehído-3-P deshidrogenasa. Además, la actividad de la fosfofructocinasa se ve inhibida por la acidosis y por la elevada concentración de lactato.

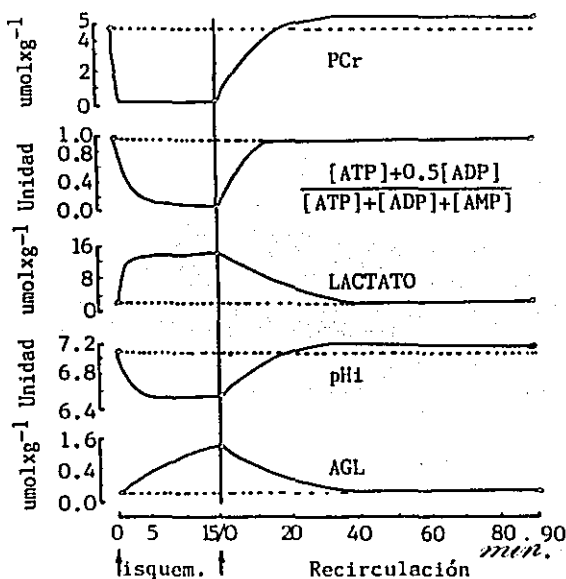


Fig: 44. CAMBIO EN LA CONCENTRACION DE METABOLITOS DURANTE Y DESPUES DE ISQUEMIA COMPLETA TRANSITORIA (de: J. Neurosurg Vol. 60:883-908, May 1984)

Las consecuencias de la isquemia severa resultan de la reducción del aporte de oxígeno y sustratos y de la falta de remoción de los productos terminales del metabolismo. La isquemia global difiere de la parcial, en éste último aspecto, ya que los catabolitos aún son eliminados. Por ello la tasa de glucólisis anaerobia es más rápida en la hipoxia con flujo continuo que en la isquemia severa. [85,86,87,92]

EVENTOS ASOCIADOS CON EL INICIO DE LA LESION IRREVERSIBLE.

Con el inicio de la la lesión irreversible aparecen las siguientes alteraciones:

1. El ATP se encuentra casi completamente depletado.
2. La mitocondria se edematiza conteniendo una matriz densa y amorfa. Esta última se encuentra formada principalmente por lípidos y talvéz contenga proteínas. Su origen y significado funcional no se conocen al momento.
3. Existe daño severo en el sarcolema de las células que tienen ésta estructura.[39,93]Fig: 45.

MUERTE DE LA CELULA ISQUEMICA.

La segunda Ley de la Termodinámica establece que cada reacción química debe de acompañarse de incremento en la entropía (disminución del orden y/o en los enlaces energéticos de un sistema químico). Los organismos altamente sistematizados resisten las implicaciones de ésta Ley empleando fuentes de energía externa para satisfacer las demandas entrópicas para mantener su homeostasis. Al consumirse substratos se captura parte de la energía derivada de las reacciones de degradación oxidativa, en enlaces de fosfatos de alta energía. El proceso depende de la perfusión continua de la célula con substratos y oxígeno.

Cuando se detiene, la perfusión los procesos bioquímicos no se inhiben, y continúan las reacciones, pero debido a que los substratos externos no son disponibles la célula emplea sus propios componentes intracelulares como substratos. Cuando sobreviene el metabolismo anaerobio, la depleción de ATP compromete la homeostasia celular; ésto condiciona que ciertas reacciones químicas escapen del rígido control celular. Eventualmente la cascada de reacciones catalíticas alcanzan un punto patológico irreversible, entonces la célula muere.

A los 5 minutos del cese de la perfusión, las reservas de ATP cerebral se han depletado, y en las células del miocardio se han reducido a un 40%. Los órganos con reservas significativas de glucosa o glucógeno mantienen niveles residuales de ATP por el metabolismo anaerobio. Desafortunadamente el cerebro no tiene ésta opción ya que carece de dichas reservas. Más aún, el metabolismo anaerobio, rápidamente, lleva a la acumulación de ácido láctico y de equivalentes reducidos, como el NADH y el NADPH, y por la disminución marcada del pH se establece un medio muy reductor. En forma rápida caen los gradientes iónicos de las membranas celulares como para el calcio (10.000/1), Na (140/5) y K (4/130).

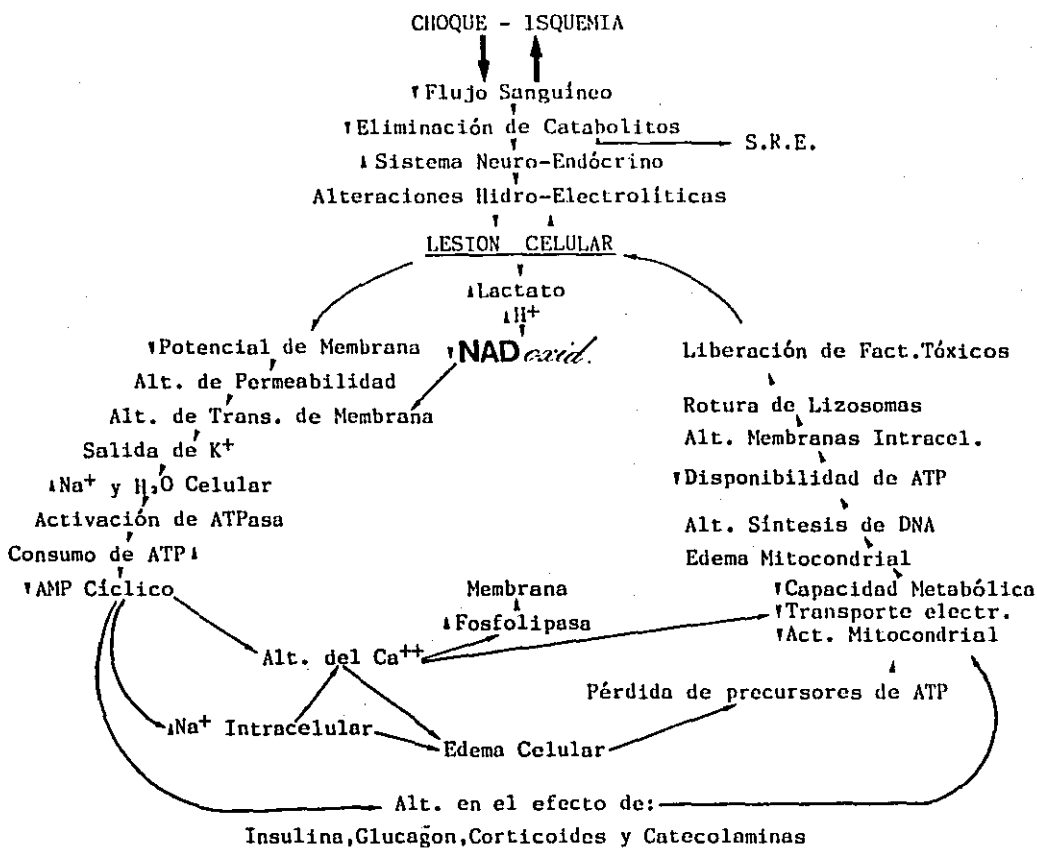


Fig:45 ESQUEMA DE LOS EVENTOS PROGRESIVOS CELULARES DURANTE EL CHOQUE O LA ISQUEMIA

(de: Am Physiol Society, I.H. Chaudry, pp 117-134, 1983)

La concentración del K en el intersticio celular cerebral alcanza a 50 mMol a los 5 minutos de isquemia-anoxia completa y la concentración del Ca intracelular se acerca a un equilibrio con el del líquido extracelular.

El ingreso masivo del calcio activa las fosfolipasas y convierte la xantina deshidrogenasa a su forma oxidasa. En las neuronas se observan principalmente dos tipos de alteraciones: cambios isquémicos y el estado esponjoso. La primera se refiere a las neuronas que presentan su citoplasma de coloración oscura, contraída y núcleo picnótico, y lo segundo se refiere al edema perineuronal y perivascular de los elementos gliales.

La lesión isquémica cerebral se exacerba con la perfusión cerebral con flujos menores al 15% de lo normal y/o hiperglicemia pre-isquémica. Y se debe a la presencia del metabolismo anaerobio de la glucosa con producción incrementada de lactato a nivel cerebral.[39,85,87,94,95,97]

RESUMEN DE LAS ALTERACIONES EN LA ISQUEMIA-ANOXIA CELULAR. Fig: 46

"Hipótesis de Basford y cols., modificada por Peter Safar y otros autores".

El calcio libre intracelular (i.c.) en condiciones normales, se encuentra estrictamente regulado a una concentración de 100 mMoles. El control se logra por varios mecanismos, que ya han sido descritos en el capítulo previo. La liberación del calcio unido a partir de sus depósitos en el retículo endoplásmico puede efectuarse por el 1,4,5 trifosfato de inositol (IP₃) y/o por el ácido araquidónico (AA). La liberación del calcio unido, de la mitocondria, se produce cuando los depósitos en el retículo endoplásmico se han depletado. En diferentes células, la respuesta inicial a un estímulo, por ejemplo: la interacción de un receptor con su molécula estimuladora, una acción hormonal, la unión de un péptido quimiotáctico a los leucocitos, la unión de un neurotransmisor pre o postsináptico, es el aumento del calcio libre intracelular debido a su liberación del retículo endoplásmico, al influjo de calcio del medio extracelular o a ambos.

A diferentes niveles de concentración del calcio, durante la anoxia, ocurren cambios en la actividad de muchas enzimas intracelulares, incluyendo a las fosfolipasas necrotizantes, las protein-cinasas, la polimerización de la g-actina a f-actina y de la tubulina a microtúbulos. Por ello gran parte de los procesos de control intracelular se encargan de mantener al calcio en niveles adecuados. En todas las células, incluyendo a las neuronas durante la anoxia los niveles de ATP disminuyen rápidamente hasta casi agotarse. Esto origina el incremento del calcio libre intracelular, pese a la falta de aumento del nivel de IP₃. La concentración elevada del calcio activa la fosfolipasa A₂ (p-lasa A₂) que degrada a los fosfolípidos de la membrana hasta AGL, especialmente ácido araquidónico. Este último aumenta la actividad de la ciclooxigenasa, enzima que produce prostaglandinas (Pg), incluyendo tromboxanos (Tx A₂) y la vía de la lipooxigenasa que produce leucotrienos. Además, durante la anoxia, la hidrólisis del ATP hasta AMP permite la acumulación de hipoxantina (HX). El incremento de calcio acelera la conversión de la enzima xantina deshidrogenasa (XD) a la forma oxidasa (XO) que en la neurona favorece la producción de radicales libres del oxígeno al momento de la reintroducción del oxígeno.

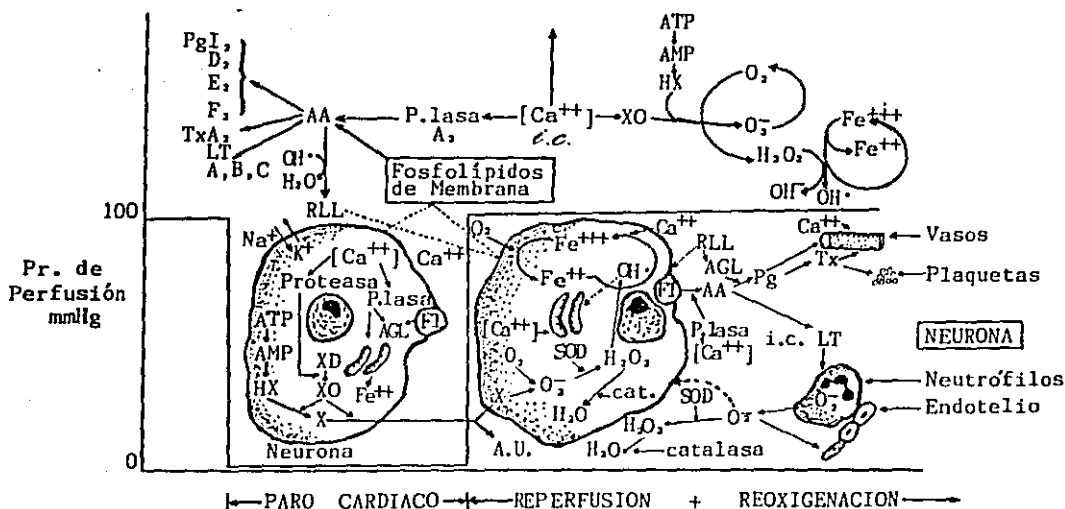


Fig:46.- Lesión por reoxigenación en órganos extracerebrales (demostrado) y en el cerebro (sospechado) posterior a paro cardíaco. (de: Circ. 74, sup IV, Dic 1986)

Durante la reoxigenación los niveles de 3 radicales libres: $O_2\cdot$, $OH\cdot$ y los lipoperóxidos libres (RLL) se elevan en forma importante, ellos destruyen las las membranas y el colágeno y empeoran la insuficiencia microcirculatoria que puede ya estar establecida. El $O_2\cdot$ se forma a partir de 2 fuentes: el sistema XO y, la activación de los macrófagos a nivel microvascular por la producción incrementada de LT en las neuronas o, a la disminución del flujo sanguíneo e incremento de la marginación y diapédesis de los neutrófilos a nivel microvascular. La elevación en la producción del $O_2\cdot$ lleva al incremento en la producción de H_2O_2 , como resultado de la acción de la SOD. El H_2O_2 , es eliminado por las catalasas intracelulares. También el $O_2\cdot$ incrementa la producción del $OH\cdot$ debido a la reacción de Fenton ($Fe^{++} \rightleftharpoons Fe^{+++}$) con el Fe liberado de la mitocondria. Cada uno de ellos pueden ocasionar la peroxidación lipídica y la producción de RLL, que debilitan la membrana celular pudiendo ocasionar la muerte de la célula. Además, la reoxigenación restaura el ATP mediante la fosforilación oxidativa, lo que puede causar la captura masiva del Ca por la mitocondria con la consiguiente autodestrucción. Así, el aumento del Ca i.c. por la anoxia y la reoxigenación dispara las reacciones que producen los radicales libres, y puede ser la causa de la necrosis celular durante la reoxigenación.[97]

RESPUESTA METABOLICA A LA LESION POR SEPSIS

INTRODUCCION.

Cuthberson definió la respuesta aguda al trauma como la "fase de reflujo", que se caracteriza por la "depresión de la vitalidad celular" y puede considerarse como sinónimo del término: estado de choque, el que es aplicado más frecuentemente. La recuperación de la fase de reflujo se consigue entre 24 a 48 horas si el tratamiento es adecuado. Esta fase puede considerarse como la respuesta "aguda" al trauma, ya que la siguiente etapa, la "fase de flujo" requiere de semanas para su completa restauración. A éste período se lo considera como la etapa del "resurgimiento de la vitalidad", que se describe como una fase hipermetabólica con pérdida excesiva de nitrógeno y consecuentemente de peso.

Otros autores, como Siegel, han dividido la progresión de la sepsis en las siguientes fases:

* Estadio A: es la respuesta normal al estrés, se observa en los pacientes sin sepsis o en los estadios iniciales de ella.

* Estadio B: es una respuesta "anormal" al estrés. Se observa en pacientes con sepsis severa y descompensada, y en enfermos con lesión previa del hígado en fase inicial del coma hepático.

* Estadio C: semejante a la anterior pero con compromiso respiratorio mayor que se manifiesta por acidosis respiratoria.

* Estadio D: representa la insuficiencia miocárdica primaria o secundaria como respuesta al estrés inducida por la sepsis.

La sepsis es un término clínico empleado para definir la respuesta metabólica del organismo en su conjunto a la invasión por microorganismos o sus productos, y como tal describe las manifestaciones clínicas de la respuesta del huésped a la invasión por microorganismos. Históricamente, en los inicios del estudio de la sepsis el enfoque clínico principal fueron los efectos locales y sistémicos de la infección y la terapéutica era solo sintomática. Con el advenimiento del monitoreo fisiológico invasivo se dió énfasis a los cambios hemodinámicos. Y, pronto, las modernas Unidades de Cuidados Intensivos describieron el Síndrome de Falla Orgánica Múltiple, también llamada Falla Orgánica Secuencial, y el objetivo de la investigación sobre la sepsis se desvió, siendo actualmente la célula con sus organelos, su interrelación con las demás células y la perfusión sanguínea tisular el foco de la investigación. Al momento se maneja el concepto de célula como causante y efector de la respuesta evocada por la sepsis.

Se han identificado muchos activadores metabólicos, entre los que se mencionan a: microorganismos y/o sus productos, tejido necrótico, tejido lesionado, hematomas, reacciones antígeno-anticuerpo, y las alteraciones severas de la perfusión tisular. Se han identificado sistemas mediadores que parecen interactuar entre el factor activador y la respuesta orgánica final. Estos sistemas incluyen: el Sistema Nervioso Central, los macrófagos, con sus productos microendócrinos y el sistema hormonal macroendócrino. Aunque la respuesta orgánica, frecuentemente, es la misma sea cual fuese el activador, en los párrafos siguientes se describe la respuesta ante la invasión por microorganismos.[24,25, 98,99,100]

ALTERACIONES METABOLICAS DURANTE EL AYUNO.

Talvez la mejor forma de describir las características metabólicas de la sepsis sea contrastando sus cambios con los que ocurren en el ayuno sin patología agregada. Durante el ayuno el gasto energético de reposo disminuye. El combustible inicial es la glucosa en los órganos que la consumen. El cociente respiratorio (CR) es alto, lo que refleja la preferencia de la oxidación de la glucosa. Los depósitos de glucógeno se depletan rápidamente. Ya que la grasa no se puede emplear para la producción de glucosa, la fuente primaria de carbones para la producción del azúcar son los depósitos de aminoácidos del músculo esquelético y de las vísceras. La adaptación posterior ocurre varios días después mediante una serie de mecanismos cuyo propósito es ahorrar los depósitos tisulares de proteínas. La glucosa se oxida en menor tasa y se recicla como lactato. La lipólisis se acelera y permite la disponibilidad de triglicéridos y ácidos grasos como fuente energética. Se incrementa la producción de cuerpos cetónicos en el hígado y, el glicerol (un azúcar) se hace disponible para la gluconeogénesis; el efecto neto es la reducción en la tasa de ureogénesis, con menor excreción de nitrógeno por la orina, lo que refleja el "ahorro" de proteínas por la producción de glucosa endógena. El desarrollo de las consecuencias de la inadecuada nutrición ocurre con tasa relativamente lenta. En el proceso, se proporcionan todos los substratos requeridos a las células de la economía.[25,99,100,115]

Existe una activación mínima de los mediadores, y el metabolismo sistémico responde muy bien a los substratos exógenos, así, la administración de glucosa puede reducir la tasa de gluconeogénesis, lipólisis y proteólisis. Fig: 47. [25,101]

TABLA: 2
RESPUESTA METABOLICA AL AYUNO Y LA SEPSIS

	AYUNO	TRAUMA/SEPSIS
Coefficiente Respiratorio de Reposo	Bajo(0.7)	ALTO(0.85)
Activación por mediadores	-	+++
Responsividad reguladora	++++	+
Energéticos primarios	Lípidos	Mezcla
Proteólisis	+	+++
Oxidación de AAdeCR	+	+++
Síntesis de Proteínas Hepáticas	+	+++
Ureogénesis	+	+++
Pérdida de Nitrógeno urinario	+	+++
Gluconeogénesis	+	+++
Producción de Cuerpos Cetónicos	++++	+
Veloc. de desarrollo de desnutrición	+	+++

(de: Persp Sepsis & Septic Shock J. Sibbald 1ª Ed. 1986)

TABLA: 3
EMPLEO PREFERENCIAL DE SUBSTRATOS

ORGANO	SUBSTRATOS ENERGETICOS					
	Lactato	Glucosa	AGLs	C. Cetónicos	AAdeCR	AAde CnoR
Corazón	**		**	**		
Músc. Esquelético		*	**	**	**	
Cerebro		***		*		
Hígado		*	**			**
Tejido séptico o lesionado		***				

* Preferencia modesta; ** Moderada; *** Alta, glucólisis anaerobia hasta lactato

(de: Persp Sepsis & Septic Shock, J. Sibbald 1ª Ed. 1986)

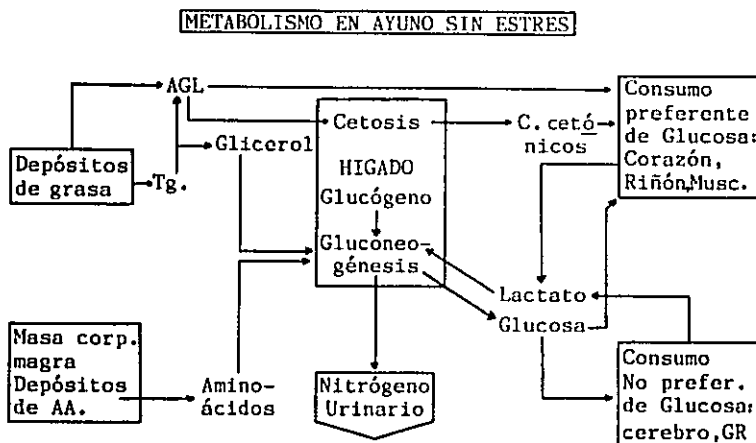


Fig: 47. La fuente energética principal es la Gl, pero existe desviación progresiva hacia el consumo de grasa. La Glucosa recicla con lactato y alanina produciendo una acción ahorradora de proteínas.

(de: Persp Sepsis & Septic Shock, J. Sibbald 1ª Ed 1986)

CONSIDERACIONES METABOLICAS DE LA SEPSIS.

Algunas observaciones respecto al perfil metabólico de los pacientes con sepsis fueron realizadas por Beisel:

1. Posterior al inicio del proceso infeccioso, la respuesta metabólica se inicia rápidamente y continúa involucrando una serie de eventos interrelacionados. Esta respuesta se correlaciona, en tiempo y en magnitud, al estadio clínico y a la severidad de la lesión. La respuesta metabólica se inicia horas después de la invasión por el microorganismo infectante y mucho antes de que aparezca cualquier signo o síntoma clínico de la enfermedad.

2. La respuesta metabólica está influida por la severidad y duración de la enfermedad, los efectos de la terapéutica y por factores pre-existentes en el estado genético, inmunológico y nutritivo del huésped. La respuesta metabólica típica durante la sepsis puede ser modificada o abolida si la infección se desarrolla en un paciente mal nutrido, en complicaciones severas por trauma, infecciones muy severas o en hepatopatías.

3. La respuesta metabólica puede exhibir patrones bifásicos de cambios

secuenciales (por ejemplo el metabolismo de los lípidos). La interpretación de éstos cambios puede ser errónea si se estudian datos obtenidos en un solo momento del período de duración de la infección.

4. Los cambios metabólicos se pueden iniciar por efecto directo de los microorganismos o de sus productos tóxicos sobre las células corporales. Otras respuestas ocurren secundariamente a consecuencia de la inflamación o de las alteraciones nutricionales, neuronales, cardiovasculares o inmunológicas que condiciona el proceso infeccioso.

5. La concentración de los substratos metabólicos es influida por múltiples variables, incluyendo la magnitud de las reservas energéticas y la velocidad de ingreso y egreso de los substratos a éstas reservas.[25,99]

Existen dos teorías en relación a los cambios metabólicos producidos por la sepsis. La teoría "Hormonal" menciona que el estímulo séptico induce ciertas respuestas hormonales que causan las alteraciones metabólicas observadas; y la teoría del "Déficit-energético" postula que el defecto metabólico en la periferie (por ejemplo: músculo esquelético) es inducida por el proceso séptico que produce y perpetúa el daño en el metabolismo de los substratos.

Clowes y Beisel sugirieron que las alteraciones metabólicas iniciales en la sepsis son inducidas por la producción de interleucina-1 elaborada por los macrófagos, o su fragmento activo el "factor inductor de la proteólisis" que activa la proteólisis muscular inflamatoria, que es independiente del mecanismo proteolítico normal regulado hormonalmente y que se inicia por la actividad del eje neuroendócrino.[24,25,84, 105,116,125]

Recientemente se ha involucrado otro factor: la caquectina, proteína hormonal producida por los macrófagos en respuesta a la sepsis. Ella es introducida en los adipocitos tisulares donde disminuye los niveles de RNA mensajero, suprime la actividad de la lipoprotein-lipasa, induce la liberación o síntesis de interleucinas. Es el mediador más próximo de los efectos de los lipopolisacáridos, los cuales inician eventos que llevan al choque y a la lesión tisular, se ha reportado que dispara la producción de leucotrienos y del factor activador plaquetario, altera las propiedades hemostáticas del endotelio vascular por efecto citotóxico directo sobre éstas células. Clínicamente su aplicación produce: piloerección diarrea, decaimiento del estado general, acidosis metabólica, choque, hemoconcentración, hiperglicemia inicial transitoria seguida de hipoglicemia e hiperkalemia. A nivel histológico se observan cambios importantes entre ellos: neumonitis intersticial, necrosis aguda de los túbulos renales, lesiones isquémico-hemorrágicas en el tracto gastrointestinal, en las glándulas

adrenales y en el páncreas. La caquectina se produce como una prohormona biológicamente inactiva, el propéptido humano contiene 76 aminoácidos. Los glucocorticoides antagonizan fuertemente sus efectos. Su importancia en el desarrollo de la sépsis es patente debido a que sus efectos simulan muchos de los síntomas, signos y alteraciones celulares de la sepsis.[111,112]

ALTERACIONES EN EL METABOLISMO MITOCONDRIAL.

El comportamiento del metabolismo mitocondrial es básico para la respuesta celular energética adecuada ante la lesión por la sepsis. Está bien reconocido que el transporte electrónico mitocondrial, con sus reacciones acopladas aportan un 95% de los requerimientos energéticos corporales en condiciones normales. Sin embargo, para poder realizar ésta función la mitocondria emplea el 90% del oxígeno celular disponible, por ello cualquier déficit de oxígeno tendrá efectos deletéreos sobre la producción de energía en la célula.

Los estudios mitocondriales han demostrado que el succinato se continúa metabolizando por un tiempo prolongado posterior a la muerte del animal en estudio y con decremento muy paulatino en ésta actividad. Sin embargo, en contraste al succinato el empleo del alfa-cetoglutarato se deprime rápidamente después de la muerte celular. Esto sugiere que el sistema del alfa-cetoglutarato es más sensible a los insultos que el succinato.[24,44,88]

A partir del ciclo de Krebs el succinato entra directamente hacia el sistema de transporte electrónico, mientras que el alfacetoglutarato ingresa a la cascada electrónica a través de un mecanismo más complejo que involucra al NAD y la CoA. Y es por ello que el sistema del succinato presenta menor depresión ante insultos.Fig: 48. Aparentemente, el sistema de transporte electrónico es muy estable y permanece intacto por períodos de tiempo prolongados posterior a lesiones moderadas.

En el choque, la diferencia en la magnitud de los cambios en los diferentes substratos se relaciona con la diferente estabilidad de los sistemas enzimáticos que se encargan del metabolismo de dichos substratos. Ya que la vía del succinato se encuentra en unión con la membrana interna de la mitocondria, dicha posición podría explicar su estabilidad funcional. Para el metabolismo del alfa-cetoglutarato se requiere de un complejo enzimático que se localiza en la matriz mitocondrial y, que es más probable que pierda su organización bajo alteraciones funcionales o estructurales durante la isquemia o el estado de choque.

su presencia el calcio se mantiene en un estado esferoidal amorfo no destructivo, de ésta manera el magnesio protege a la mitocondria de la sobrecarga de calcio. Su déficit ocasiona alteración en la fosforilación oxidativa y también permite una mayor liberación de catecolaminas por las glándulas adrenales. La elevación del magnesio sérico en el choque puede estar relacionado con su déficit a nivel celular. La pérdida de la capacidad mitocondrial para mantener al magnesio es signo de alteración en la estructura de la membrana mitocondrial producida por edema y otras alteraciones. Fig:49.[127,128,129,132]

Es posible que el incremento de los AGL mitocondriales absorbidos o endógenos sean responsables de la inhibición de la función mitocondrial durante el choque.

Las investigaciones han demostrado la presencia de una importante y progresiva alteración en el contenido iónico de la mitocondria, y depende de la severidad del estado de choque. Existe un gran incremento en el contenido de sodio y calcio, con decremento del potasio y desequilibrio en el magnesio.

La presencia o no de cambios estructurales en las mitocondrias de ciertos órganos o tejidos, se encuentra determinado por las características de la redistribución del gasto cardíaco y del flujo sanguíneo, en vez de las características propias del tejido en cuestión.

Ya que el NAD^+ se requiere en la descarboxilación oxidativa del piruvato a acetil-CoA, y el NADH para la reducción del piruvato a lactato, durante el estado de choque, la disminución en la relación NAD^+/NADH citoplasmático reduce la conversión del piruvato a acetil-CoA. Así, la producción de lactato se incrementa, con aumento en la relación lactato/piruvato y la acidosis llega progresivamente a ser más severa.

Como resultado de la menor disponibilidad del oxígeno en los tejidos durante el estado de choque, se incrementa la demanda del metabolismo anaerobio lo que disminuye los niveles de ATP. El metabolismo anaerobio no es un mecanismo eficiente para la producción de ATP, ya que solo produce 2 moles de ATP por mol de glucosa oxidada, a diferencia del sistema aerobio que produce 36 moles de ATP. La disminución de los niveles tisulares de ATP se relaciona con el incremento en la actividad de la ATPasa Na-K. Es probable también, que durante el choque se pierdan del interior de la célula, las bases purínicas para la restauración del ATP.

Se ha planteado la hipótesis de que el desacople de la respiración con la fosforilación oxidativa sea parte del síndrome de choque irreversible. Atkinson introdujo el término de carga energética:

$$\text{CARGA ENERGETICA} = \frac{[\text{ATP} + 1/2\text{AMP}]}{[\text{ATP} + \text{ADP} + \text{AMP}]}$$

Al término se lo considera como un indicador sensible de los procesos metabólicos. Sus límites normales son de: 0.85 a 0.9. La carga energética comienza a disminuir cuando la presión parcial del oxígeno se encuentra reducida por debajo de 50 mmHg.[24,91]

INSUFICIENCIA METABOLICA CELULAR DE LA SEPSIS.

A continuación, en la parte inicial de ésta revisión se describirán por separado las alteraciones de los tres substratos metabólicos más importantes (hidratos de Carbono, lípidos y proteínas), y luego su interrelación en el Síndrome de Falla Orgánica Múltiple.

El estímulo séptico induce en forma progresiva y secuencial incapacidad para el empleo de glucosa, lípidos y finalmente proteínas como fuente energética. Este defecto se expresa inicialmente en la periferie (músculo esquelético). Ciertas hormonas participan en el proceso: catecolaminas, insulina, glucagon y corticosteroides (llamadas hormonas del estrés). Si el déficit periférico es severo y prolongado, ocasiona alteraciones en el metabolismo de órganos centrales (hígado, riñones, corazón, pulmones y tracto gastrointestinal) y si no revierten en forma rápida pueden precipitar la falla multiorgánica o inclusive la muerte del huésped.[113,116,125,130]

ALTERACIONES EN EL METABOLISMO DE LA GLUCOSA.

Desde hace 30 años, aproximadamente, se ha documentado el metabolismo anormal de la glucosa en respuesta a la sepsis, lo que llevó al empleo de la frase: "diabetes de la lesión" que describe el estado metabólico alterado. Esta terminología es errónea ya que implica la falta o ausencia relativa de la insulina. Aunque de hecho puede existir una disminución relativa de insulina proporcional a la concentración de glucosa, en algunos pacientes, especialmente en la fase de reflujo (de choque según otros autores) generalmente existe una cantidad apropiada (o inclusive un exceso) de secreción de insulina. Consecuentemente, el término de: "resistencia a la insulina" se ha empleado para describir dicha alteración. Esta resistencia es un bloqueo en el metabolismo de la glucosa a nivel post-receptor, que se relaciona con la disminución en la actividad de la piruvato deshidrogenasa, enzima reguladora crítica que permite que el piruvato sea descarboxilado para su posterior oxidación.[100,109,110]

El metabolismo anormal de la glucosa, en el músculo esquelético, es el defecto inicial y se manifiesta como intolerancia a la glucosa con grados variables de resistencia a la insulina, en contraste al estrés sin sepsis en la que no existe resistencia a la insulina. La hiperglucemia y la intolerancia a la glucosa se observa en el 40% de los pacientes y es signo de mal pronóstico. La hipoglucemia se observa en pacientes con déficit proteico importante o con lesión hepática severa. La intolerancia a la glucosa y la hiperglucemia se deben al catabolismo de la proteína muscular con incremento en la gluconeogénesis hepática, la cual es estimulada por el proceso séptico, y no se inhibe con la administración de glucosa exógena. El glucagon y las catecolaminas participan del estímulo. La oxidación alterada de la glucosa a nivel muscular se debe al bloqueo en la entrada del piruvato hacia el ciclo de Krebs, por ello, se acumula y equilibra su concentración con el del lactato. La concentración de éste último se eleva progresivamente con la evolución de la sépsis. Esta es la causa de la acidemia láctica, que se presenta en el paciente séptico, y se acompaña de una relación normal lactato/piruvato (contrario a los estados de déficit de perfusión, como el choque hipovolémico o el cardiogénico, en los que la relación lactato/piruvato se encuentra incrementada). Así, aunque el aporte de glucosa al músculo se incrementa, se emplea en forma inadecuada y es grandemente reciclada en el ciclo de Cori en forma de lactato, y en el ciclo de la Glucosa-Alanina en forma de alanina. Estos dos substratos sirven como metabolitos gluconeogénicos, la alanina correlaciona su nivel sérico con la tasa de gluconeogénesis.

Los niveles de insulina se incrementan durante la sepsis, pero no en la extensión del aumento del glucagon, por ello la relación glucagon/insulina se encuentra reducida. Esta proporción es la señal primaria que regula el metabolismo hepático, en lugar de la concentración aislada de cada uno de ellos. El incremento de ésta relación se asocia con una respuesta anabólica, y lo contrario con una respuesta catabólica. La alteración inicial del metabolismo de la glucosa se asocia con la aceleración del catabolismo proteico y de la gluconeogénesis. Fig: 50.

En presencia de la enzima deshidrogenasa láctica, la concentración elevada de lactato influye sobre la disponibilidad del ión hidrógeno, ésto produce acidosis mitocondrial e intracelular que tiende a saturar al aceptor del hidrógeno el NAD^+ con alteración de la relación NAD^+/NADH .

Otra consecuencia del incremento de la gluconeogénesis es la formación de un ciclo inútil en la que el piruvato forma Fructosa-6-P y luego retorna

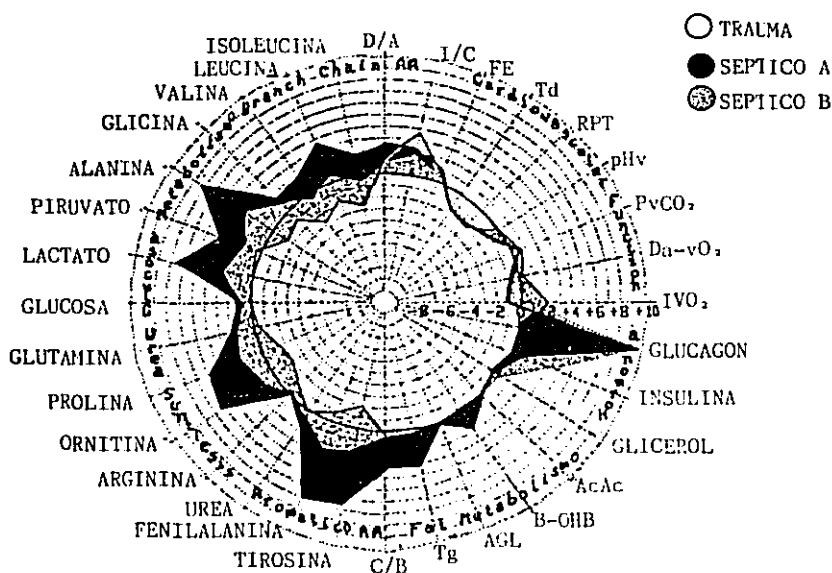


Fig: 50. DIAGRAMA FISIOLÓGICO Y METABÓLICO DE PACIENTES SEPTICOS EN ESTADIO A Y B Y DE NO-SEPTICOS CON TRAUMA MAYOR. El círculo perfecto a nivel de 0 en el momento de compensación fisiológica. El valor medio de los pacientes sépticos A se muestra en negro, de los B punteado, y de los con trauma - en blanco. (de: Pat Shock, Anox & Isch A. Cowley 1ª Ed. 1982)

a piruvato por medio de la glucólisis sin sufrir oxidación completa, éste proceso consume ATP y produce calor, lo que se relaciona con la disminución de la energía y con el aumento de la temperatura corporal, que son característicos en la sepsis.

Por otro lado, el glucagon aumenta la gluconeogénesis a partir de la alanina, al estimular la conversión del piruvato y del oxalacetato a fosfoenolpiruvato, segundo paso clave en el ciclo de Cori.

En el paciente séptico el efecto supresor de la infusión de glucosa sobre su producción, virtualmente se encuentra ausente. Los estudios sobre su oxidación no han demostrado claramente su oxidación deficiente, aunque es probable que se pueda emplear como fuente calórica con un límite de 7 mgr/kgr/min para su catabolismo. Aún con la adición de insulina no debe de esperarse beneficio sobre el metabolismo de la glucosa, ya que su oxidación por encima de dicha

cifra no está estimulada por la hormona. La insulina exógena, sin embargo, puede estimular la síntesis de proteína, en forma independiente de su acción sobre la glucosa. [102,103,105,106,113,116,122]

ALTERACIONES EN EL METABOLISMO DE LOS LIPIDOS.

Después del defecto catabólico de los hidratos de Carbono continúa el metabolismo anormal de las grasas. Las catecolaminas y el glucagon, que se liberan en gran proporción durante el estrés, estimulan la lipólisis en los tejidos grasos, lo que libera AGLs que son transportados al hígado para la síntesis de cuerpos cetónicos, y a otros órganos (por ejemplo el músculo esquelético) para ser empleados como fuente energética. En contraste a los niveles de AA durante la sepsis el de los triglicéridos y AGLs no presentan patrones estereotipados. La concentración de los lípidos plasmáticos puede tener patrones bifásicos durante el curso de una infección simple y puede variar con el estadio de la enfermedad, con el microorganismo causal y tal vez con la severidad y duración de la enfermedad. Los niveles séricos de AGLs son el resultado de la interacción entre la acción lipotrófica causada por los niveles alterados de insulina y la movilización de las grasas estimulada por las catecolaminas y el glucagon. Durante la sepsis la liberación de los AGLs es variable y sus valores pueden estar disminuidos, normales o incrementados.

En la sepsis, el empleo de los AGL de cadena larga por el músculo se encuentra alterada y puede estar relacionado con el déficit intracelular de carnitina.

Los AGLs alteran el estado redox de la mitocondria debido a:

1. inhiben el transportador malato-aspartato, lo que disminuye el potencial redox de la mitocondria.
2. la acumulación de ésteres de acilo-CoA modifica el estado redox.

La inhibición del transportador malato-aspartato (que permite la oxidación del NADH a NAD^+ al transferir equivalentes reductores del citosol hacia la mitocondria donde se oxidan Fig: 10), produce un incremento en la relación NADH/NAD que altera la acción de las enzimas que dependen de NAD, especialmente la glutamato deshidrogenasa, y que son necesarias para el consumo de leucina, isoleucina, valina y triptófano, ésto condiciona una alteración general en el metabolismo de los AA especialmente a nivel hepático.

Frente a la reducción del potencial redox, la escasez de aceptores de hidrógeno es la causa de la inadecuada oxidación del B-OHB a AcAc, y de la elevación en la proporción B-OHB/AcAc, situación que se observa en la sepsis.

Los ésteres de acilo-CoA de AGL de cadena larga inhiben la entrada del piruvato al ciclo de Krebs ya que reducen la actividad de la deshidrogenasa pirúvica (PDH), al mismo tiempo que estimulan la actividad de la piruvato carboxilasa, paso inicial del ciclo de Cori, y una vez estimulada la conversión del piruvato a glucosa depende de su concentración, la cual se encuentra elevada en la sepsis.

Los acil-CoA de AGL de cadena larga inhiben la actividad de la adenín-nucleótido translocasa mitocondrial, que es la enzima que regula la conversión del acetil-CoA a AcAc, y por ello se evita su transformación a citrato.

Otro ciclo inútil es la desviación del acetil-CoA de su oxidación en el ciclo de Krebs o de la cetogénesis hacia la condensación con malonil-CoA para formar AGLs; éste ciclo consume ATP e incrementa la lipogénesis hepática con desviación neta del acetil-CoA hacia la resíntesis de AGLs y triglicéridos en lugar de su oxidación. Esta alteración causa la degeneración grasa que se observa en el hígado de los pacientes con sepsis severa.

El proceso séptico también altera la cetogénesis. Aunque las células periféricas pueden oxidar los cuerpos cetónicos durante la infección los cambios en el metabolismo hepático de las grasas inhiben su producción. A pesar de que la producción de cuerpos cetónicos es importante durante la sepsis es cuantitativamente menor que en los estados de estrés sin sepsis y, en las fases preterminales su producción es mínima, que puede deberse a la lipogénesis hepática incrementada por la insulina y la alanina. El empleo de AcAc como fuente energética continúa hasta el final de la sepsis sin embargo las alteraciones en el estado redox causan una mayor producción de B-OHB. La sepsis también, induce hipertrigliceridemia debido al incremento en la producción de Tg por el hígado y/o a la alteración de su aclaramiento debido a la disminución de la actividad de la lipoprotein-lipasa. Si la sepsis progresa, disminuye la capacidad del músculo para emplear a los AGL de cadena larga para la producción de energía.[24,25,29,108,114,115,120,126]

PROTEOLISIS MUSCULAR Y AUTOCANIBALISMO SEPTICO.

El incremento en los niveles plasmáticos de AA y sus patrones de concentración anormales son dos fenómenos diferentes. El primero de ellos se debe al incremento de la proteólisis muscular que ocurre en forma secundaria a la sepsis y es el hallazgo más importante del proceso séptico. El segundo mecanismo el autocanibalismo o el empleo selectivo de algunos AA provenientes de la proteólisis como fuente energética se debe a insuficiencia metabólica del músculo

NIVEL DE ESTRES	ESTADO CLINICO	N URINA-RIO(g/d)	LACTATO SE-RICO(μ M/L)	GLUCEMIA* (mM/L)	RESIST. A INSULINA	IVO, ml/m ²	GLUCAGON (pg/ml)	GLUCAGON/INSULINA
0	Ayuno	5	10 \pm 5	5.5 \pm 2	-	90 \pm 10	20	2 \pm 0.5
1	Cir.Electiva	5-10	1200 \pm 200	9.5 \pm 1.4	-	130 \pm 6	50 \pm 9	2.5 \pm 0.8
2	Politrauma	10-15	1200 \pm 200	9.5 \pm 1.4	\pm	140 \pm 6	120 \pm 40	3.0 \pm 0.7
3	Sepsis	15	3000 \pm 500	16 \pm 1.6	+	160 \pm 10	500 \pm 50	8.0 \pm 1.5

* Con relación Lactato/Piruvato de 15:1 a 20:1

En la ausencia de Diabetes Mellitus, Pancreatitis y terapéutica con esteroides

TABLA: 4. DIFERENCIAS METABOLICAS SEGUN EL GRADO DE ESTRES
(de: Persp Sepsis & Septic Shock J.Sibbald 1986)

esquelético, en el que se desarrolla la mayor parte de la proteólisis.[25,25,99]

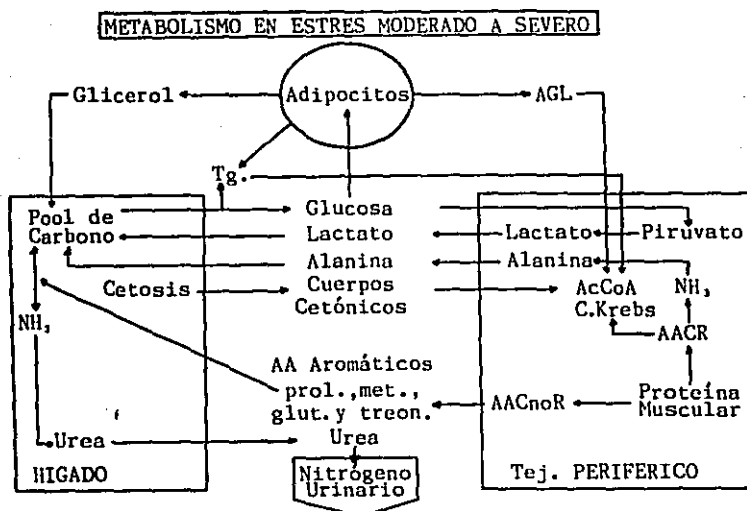


Fig: 51. Se describe la movilización simultánea de H de C, grasas y AA. En los tejidos periféricos ocurre "autocanibalismo" y la excreción urinaria de nitrógeno se incrementa. (de: Persp Sepsis & Septic Shock J. Sibbald 1ª Ed. 1986)

En condiciones sin sepsis, cuando no se administran energéticos exógenos (como en el ayuno), el músculo esquelético tiene otras fuentes nutricionales alternas que inhiben la proteólisis, la principal de éstas es la formación de cuerpos cetónicos a partir de acetil-CoA. Las cetonas se elevan durante el ayuno sin sepsis o cuando existe una verdadera deficiencia de insulina. Sin embargo, en la sepsis las formación de cuerpos cetónicos no se incrementa y el músculo esquelético depende de los AGLs y de los cetoácidos de los aminoácidos de cadena ramificada (AA de CR) para la oxidación. Estos últimos se obtienen a partir de la proteólisis muscular que libera todos los AA de la secuencia de la actina, miosina y otras proteínas estructurales. El grupo amino de los AA es transaminado en el músculo a piruvato que deriva del glucógeno muscular o de otros precursores para formar alanina o glicina; de igual manera el glutamato es transaminado a glutamina y son liberados a la circulación para ser transportados hacia el hígado, intestino y riñones. Los otros AA que son liberados de la proteína, no pueden ser metabolizados por el músculo esquelético y son liberados hacia el plasma sin cambios, en cantidad que refleja el proceso

proteolítico.[100,102,104]

En el trauma sin sepsis también ocurre proteólisis muscular y la depuración de los AA plasmáticos se incrementa a consecuencia de la gran cantidad de AA liberados hacia el hígado y tejidos periféricos. Sin embargo, comparando la respuesta post-trauma con el estadio séptico A existe disminución selectiva en la tasa de depuración de los AA neutros y aromáticos, mientras que para los AA de CR se encuentra sin cambios o solo con muy discreto incremento. Esto sugiere un aumento en la dependencia muscular y probablemente del hígado de AA de CR.

Durante la proteólisis máxima la destrucción tisular descontrolada excede las necesidades musculares de AA de CR, y por ello se libera gran cantidad de AA, en especial en los pacientes sépticos que no sobreviven. Este fenómeno ha sido designado como "autocanibalismo séptico".

La magnitud del catabolismo proteico es importante durante el proceso séptico, y puede alcanzar hasta 200 grs de proteína en 24 hrs. En la sepsis menos severa o en las fases iniciales -característico del estadio A- el suministro de calorías en forma de lípidos y AA puede ayudar al control del catabolismo proteico. Pero más tardíamente, pese a la administración de AGL o de glucosa mediante Nutrición Parenteral no se puede controlar la proteólisis.

El principal aspecto metabólico del séptico es el empleo de AA que se manifiesta por el incremento del nitrógeno urinario. Sin embargo, ya en el estadio B existe alteración marcada en el empleo hepático de AA que se refleja en la disminución de la depuración plasmática de AA y también en la menor tasa de síntesis de urea, lo que se manifiesta por la menor eliminación de nitrógeno urinario, esto ocurre al mismo tiempo de la elevación en los niveles plasmáticos de AA. Los cambios sugieren que en las fases terminales de la sepsis existe insuficiencia para la formación de urea debido a la alteración marcada hepática que se refleja por la deficiente oxidación de AA.[25,99,100,106,107]

SÍNDROME DE FALLA MULTIORGANICA.

Con el deterioro progresivo de la sepsis se desarrollan alteraciones metabólicas que sugieren la presencia de una anomalía importante en la regulación interorgánica de sustratos y en las fuentes del metabolismo energético.

El ciclo de sustratos metabólicos entre el músculo-hígado-tejido adiposo se altera en la sepsis. El estrés activa los mecanismos normales neuroendócrinos para inducir la liberación incrementada de glucagon, corticosteroides y catecolaminas, también potencia la respuesta proteolítica inflamatoria. El neto incremento en el catabolismo muscular y de otros tejidos, libera grandes cantidades

de AA proporcional a la composición de las proteínas musculares y constituye la principal respuesta al estrés por trauma o sepsis y éste flujo incrementado de AA hacia la circulación es empleado por el hígado para la síntesis de proteínas de fase aguda, proceso también estimulado por la interleucina. Fig:52 De inicio el músculo puede emplear varios sustratos para la oxidación energética, pero con el progreso de la sepsis se hace incapáz de metabolizar la glucosa debido al bloqueo post-receptor, y en éstas condiciones se incrementa el empleo de AA de CR, los cuales ingresan al ciclo de Krebs para su oxidación. Fig:16 El nitrógeno del amonio proveniente de ello es transaminado al piruvato formando glicina o alanina, en el hígado la transaminación es invertida. La alanina se transamina con el alfa-cetoglutarato para formar piruvato y glutamato.[24,25] En el trauma sin sepsis o en el estadio A, en el hepatocito el piruvato producido se emplea para formar acetil-CoA, ya que en éste estadio aumenta la actividad de la PDH y se incrementa el consumo de oxígeno, lo que aumenta la producción de energía que es de valor para la detoxificación hepática y para la síntesis de proteínas de fase aguda. Además, el incremento del glucagon, estimula la piruvato carboxilasa, enzima requerida para el paso inicial de la gluconeogénesis. Este aumento consume energía y facilita la reconversión del piruvato a Gl-6-P, parte de la vía gluconeogénica.[102,104]

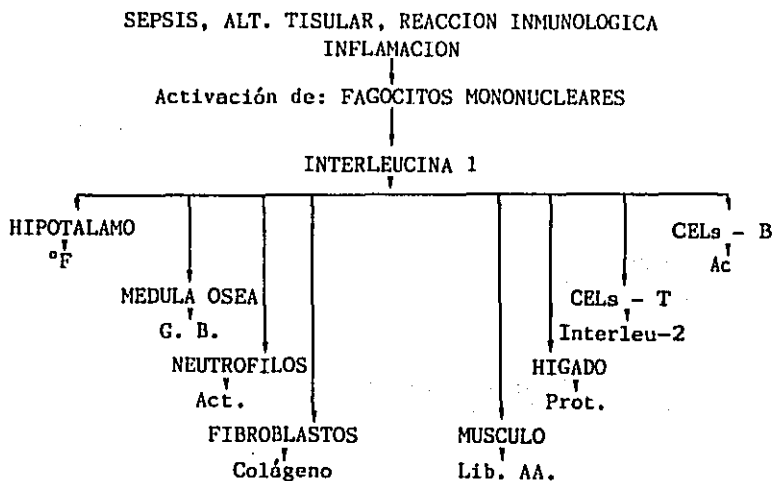


Fig: 52. EFECTOS DE LA INTERLEUCINA 1 (pirógeno endógeno, mediador leucocítico endógeno, fator activador linfocítico, factor celular mononuclear)
(de: Clin Anaesthesiology Vol. 3 Nº 4 Oct 1985)

MEDIADOR	MUSCULO	HIGADO	TEJ. ADIPOSO	LIPOLISIS	GLUCOGE- NOLISIS	GLUCONEO- GENESIS	PROTEOLISIS
CORTISOL	Aumenta el efecto proteolítico de otros mediadores	Promueve la gluconeogé- nesis	Aumenta la li- lipólisis me- diada por las catecolaminas	+		+++	+++
CATECOLAMI- NAS	Glucogenólisis y proteólisis	Glucogenólisis	Lipólisis	++++	++++	++	+
GLUCAGON	Moviliza AA y activa la degra- dación proteica	Activa la glu- cogenólisis y enz. gluconeog.		+++	++	+++	+
H. de CRECM.			Lipotrófica	++		+	+++
LEUCOCITOS	Termogénesis por alt.del control hipotalámico Proteólisis	captura de AA síntesis de reactantes de fase aguda					
PROSTAGLAN- DINAS	Proteólisis Media efectos de la insulina sobre el músculo	Activa enzimas metabólicamen- te desactiva-- das	Media efectos antilipolíti- cos	++	++	++	+++

TABLA: 5. EFECTOS METABOLICOS DE DIVERSOS MEDIADORES
(de: Persp Sep & Septic Shock J. Sibbald 1986)

Como resultado de la hidrólisis de la Gl-6-P existe aumento en la formación de glucosa en el hígado y los riñones, ambos órganos tienen mecanismos similares gluconeogénicos, esto condiciona la hiperglucemia que puede exacerbarse debido a la disminución de la oxidación de la glucosa a nivel periférico. En la sepsis la actividad de la PDH muscular disminuye y se incrementa la relación piruvato/lactato que se traduce en acidemia láctica. En el hígado y el corazón el ácido láctico constituye un sustrato gluconeogénico durante las fases de incremento de la actividad de la PDH.[102,103,104]

TABLA: 5

CRITERIOS INICIALES Y TARDIOS DE LA FALLA MULTIORGANICA

	INICIALES	TARDIO(Insf. Hepática)
Estado de Conciencia	Coma ligero	Coma profundo
S.I.R.P.A.	Presente	Avanzado
Plasma:		
* Bilirrubina	3-4 mgr%	mayor de 8 mgr%
* Creatinina	2-3 mgr%	mayor de 3 mgr%
* BUN/Creat.	Normal	Según nutrición
* Lactato	1.5 mM/L	2.0 mM/L
* B-OHB/AcAc	Normal	incrementado
* Fenilalanina	80 uM/L	80 uM/L
* Tg(ayuno 12 hrs)	250 mgr%	250 mgr%
Masa Muscular	Depleción	Depleción severa
Ind. Consumo de O ₂	160 ml/min·m ²	130 ml/min·m ²
VCO ₂	1685 ml/Kg	1875 ml/Kg
Balance Nitrogenado (con nutrición)	Equilibrio o +	mayor de 5 gm/día

(de: Persp Sepsis & Septic Shock J. Sibbald 1ª Ed. 1986)

Si el proceso séptico progresa en severidad existe evidencia que sugiere que la actividad de la PDH hepática disminuye. Además, una parte substancial de acetil-CoA generado a partir de la glucosa y de otras fuentes, es desviado hacia la formación de lípidos, lo que implica movimiento del citrato de localización intramitocondrial, hacia el citosol donde ocurre la formación de la malonil-CoA. Este sustrato es el primer precursor obligado en la síntesis de AG y aparentemente, es el inductor en la formación de Tg que ocurre en la sepsis. Se sugiere también que la elevación de la malonil-CoA hepática ocurre en fases tardías y causa la supresión de la formación de cuerpos cetónicos. Al pasar de la fase A a la B existe un incremento mínimo en los bajos niveles de cuerpos cetónicos; lo que priva de una fuente energética de fácil empleo

para el músculo esquelético y los hace depender más de los AA de CR y de los AGLs, ya que el empleo de la Gl se encuentra alterado por la resistencia a la insulina. Finalmente, en el estadio B existe una reducción severa en el consumo de oxígeno pudiendo alcanzar valores muy bajos, inclusive menor a lo consumido en reposo, pese a las demandas metabólicas incrementadas. Durante éste período existe una alteración para la completa oxidación de AA ureogénicos, que ordinariamente entran al ciclo de Krebs vía del glutamato, ésto refleja la depresión en la actividad de la deshidrogenasa glutámica, aunque no ha sido demostrado completamente. El resultado es el incremento en la concentración de AA ureogénicos y de la prolina. En las fases tardías del proceso existe alteración en la síntesis de urea que refleja la magnitud de la lesión hepática. La alteración en el metabolismo de los lípidos y de los AA puede ocurrir inclusive antes de que otras funciones hepáticas se alteren como la producción de bilirrubina, la detoxificación de drogas, y también antes de que se eleven las enzimas hepáticas en el plasma.

En el caso específico de los AA aromáticos -tirosina y fenilalanina- es importante la alteración hepática de su metabolismo oxidativo. La depuración de la tirosina, metabolizada casi totalmente por el hígado, indica la magnitud de la lesión hepática. Al progresar la sepsis se puede desarrollar el síndrome de Falla Multiorgánica, en ésta existe disparidad entre la elevación de la depuración de la leucina, que se metaboliza primariamente en la periferie, y la caída en la depuración de la tirosina. El resultado es el incremento en la relación de la depuración leucina/tirosina, que refleja el grado de insuficiencia hepática y periférica, a medida que progresa la Falla Multiorgánica hacia un curso fatal. Fig: 53.[24,25,100]

Debido a la alteración del metabolismo de los AA aromáticos se produce la octopamina, substancia que disminuye el tono vascular, y disminuye la relación V_a/Q_t al incrementar los cortocircuitos pulmonares. Así, en la insuficiencia hepática de la sepsis se altera el metabolismo de los AA y paralelamente se trastorna el tono vascular. Esto se refleja en el estado fisiológico y la progresión del proceso patológico del S.I.R.P.A. Se ha postulado que el incremento de la octopamina representa una desviación de la vía normal de síntesis de dopamina y por consiguiente de las catecolaminas a partir de la tirosina hacia la producción de un falso neurotransmisor como es la octopamina. Esta amina tiene solo 0.01 de la capacidad de estimular la contracción de la norepinefrina y por ello se constituye en un vasodilatador competitivo, y es la causa de la reducción del tono vascular, lesión fisiológica fundamental para el desa-

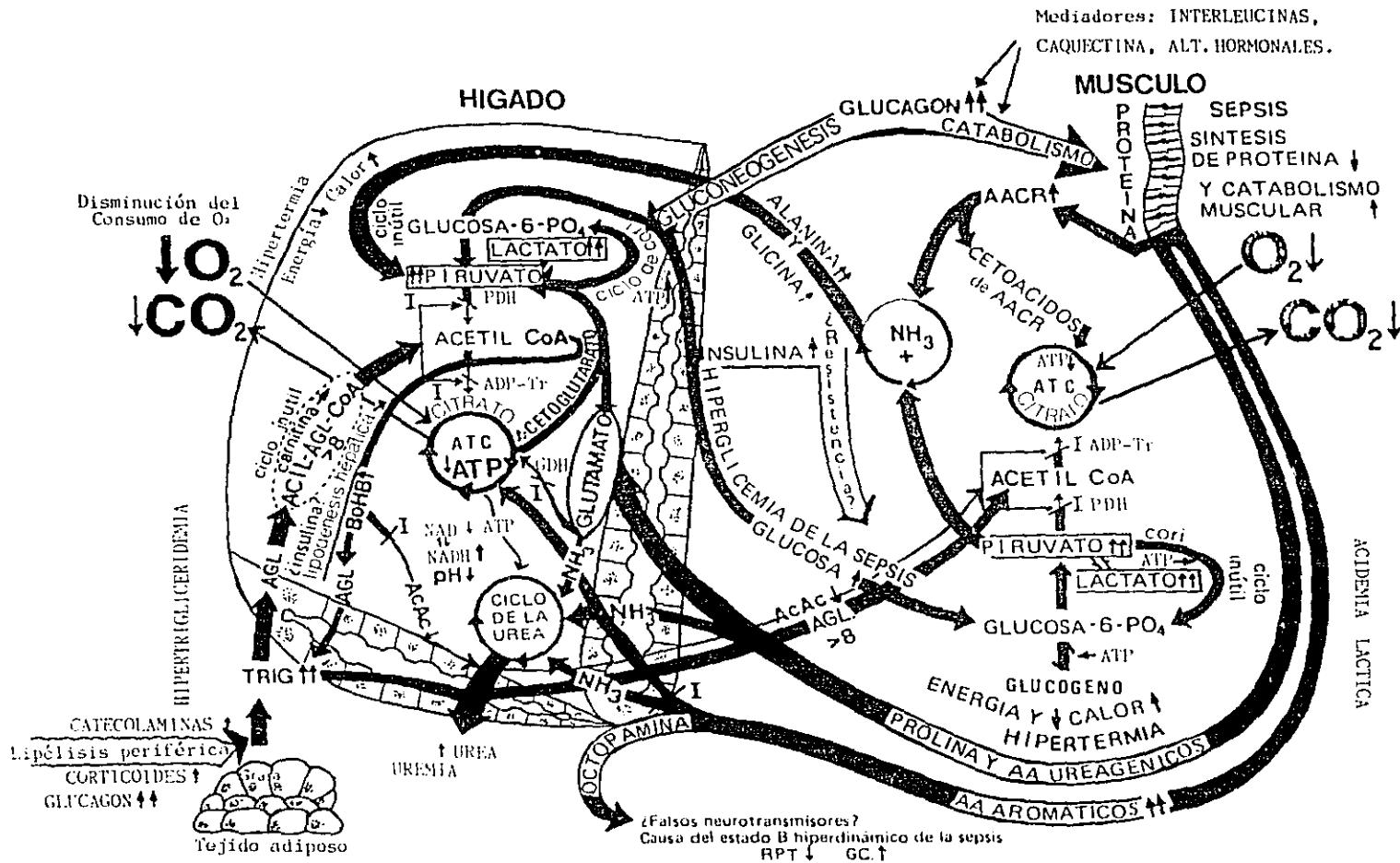


Fig:53. ESQUEMA DE LAS ALTERACIONES METABOLICO-HORMONALES EN EL ESTADO B DE LA LESION POR SEPSIS (de: Critical Care State of the Art Vol: 7, pp:63-96,1986)

rrollo del estado hiperdinámico de la sepsis.

Un componente importante de la Falla Multiorgánica es la relación entre la función hepática anormal y el desarrollo del S.I.R.P.A. Además, existe evidencia de la frecuente depresión miocárdica durante la progresión del estadio A a B, y refleja alteraciones metabólicas similares en el empleo de sustratos a nivel miocárdico.[133,134,135]

Finalmente, con el desarrollo de la falla funcional de diferentes órganos en la sepsis -Fig: 54- se altera el metabolismo de los lípidos al desviarse la acetil-CoA hacia la formación, incrementada, de Tg vía malonil-CoA, alcanzando valores extremadamente elevados durante la progresión hacia el estadio B. En las etapas iniciales del proceso séptico, los lípidos son fuente energética primaria, y los pacientes con estadio A tienen un coeficiente respiratorio alto que tiende a disminuir con la progresión de la sepsis, sin embargo, como se mencionó previamente, en las fases tardías se altera también la oxidación de los ácidos grasos de cadena larga, éste se relaciona con el hecho de que los pacientes sépticos presentan una pérdida excesiva de carnitina; posterior a sepsis prolongada constituye el factor limitante para la transferencia mitocondrial y para el empleo de ésteres de acil-CoA por la beta-oxidación. Con éste déficit existe una alteración marcada entre la oxidación de los ácidos grasos y la síntesis de Tg, lo que condiciona la hipertrigliceridemia y sugiere la existencia de otro ciclo poco útil en el metabolismo graso durante el estadio B.[24,25,100,104,105,117]

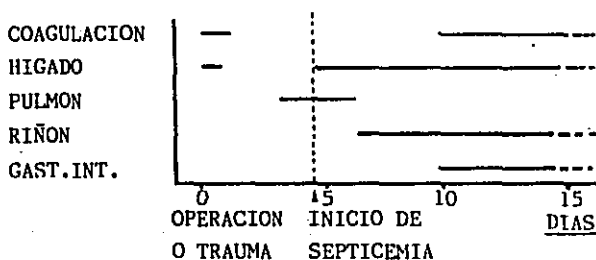


Fig: 54. SECUENCIA COMUN DE APARICION DE FALLAS ORGANICAS
(de: Surg Clin of NA Vol. 63 N° 2 April 1983)

PRIORIDAD EN LA SINTESIS DE PROTEINAS HEPATICAS.

La incapacidad para oxidar diversos metabolitos energéticos durante la progresión de la sepsis, es paralela a la alteración en la síntesis hepática de las proteínas de fase aguda. Durante el trauma sin sepsis, la síntesis de ellas aumenta; esto es parte de la respuesta inflamatoria mediada por la interleucina I y otros agentes.[136,137]. En el trauma, se ha demostrado, la disminución rápida en la síntesis de la Proteína C reactiva, la cual tiene importante papel en la opsonización -conjuntamente la fibroanectina- no séptica y en la activación del complemento para el control de la infección bacteriana.[138]

Existe también incremento en la formación de: fibrinógeno, alfa-1-antitripsina, alfa-2-macroglobulina y ceruloplasmina, importantes en la coagulación, inactivación de proteasas y como eliminador de radicales libres respectivamente. Solamente el nivel plasmático de albúmina, que presenta la menor constante de tiempo para su síntesis, en relación a las otras proteínas de fase aguda, parece alterarse en el trauma simple o en la lesión estéril.

Sin embargo, en el paciente séptico existe evidencia de la prioridad en la síntesis de proteínas de fase aguda y es progresiva a medida que la sepsis evoluciona hacia la Falla Multiorgánica. En todas las formas de sepsis, la síntesis de proteína C reactiva está favorecida, manteniendo un nivel elevado, aún cuando otros procesos de síntesis, como la formación de algunas proteínas de fase aguda y de urea se vean alteradas. El incremento en la producción de la proteína C reactiva es paralelo al incremento de la alfa-1-antitripsina del fibrinógeno, pero se altera la síntesis de ceruloplasmina, transferrina, albúmina y alfa-2-macroglobulina, consecuentemente sus niveles plasmáticos descienden considerablemente. Cuanto más AA son liberados por el músculo, más son oxidados, debido a la limitación que impone el proceso séptico para la oxidación de otros substratos; y en forma paralela existe alteración progresiva en la síntesis de las proteínas de fase aguda. El cambio en la prioridad de la síntesis involucra a gran variedad de proteínas estructurales y funcionales, pudiendo ser la causa de la insuficiencia general en la síntesis de proteínas observada en las fases tardías de la sepsis.

Las consecuencias celulares de éstas alteraciones para la defensa ante la invasión bacteriana son importantes; la producción de fibroanectina, en los pacientes sépticos, se encuentra alterada, y por lo tanto también la producción controlada de superóxido por los polimorfonucleares. La quimiotaxis está disminuida, al igual que la reactividad linfocítica y, en los pacientes severa-

mente sépticos existe hiporeactividad cutánea ante antígenos, que puede llegar inclusive a la anergia total. Hacia el final de la sepsis progresiva, se altera la síntesis de albúmina y la cicatrización de heridas como reflejo del defecto en la síntesis de colágena. Así, clínicamente la Falla multiorgánica refleja la pérdida del control de la proteólisis tisular, de la reactividad inmunológica y de la alteración en el metabolismo energético oxidativo. También existe alteración en la síntesis de algunas proteínas básicas para la detoxificación de sustancias que: alteran la permeabilidad de la membrana celular, previenen la lesión producida por los radicales libres, intervienen en el estímulo para la activación del complemento y participan de los procesos de reparación de las lesiones, lo que es necesario para el control bacteriano y para la curación de las lesiones ocasionadas por el trauma y/o la sepsis.[24,25,100]

CONCLUSIONES

1. El metabolismo intermediario de los tres componentes básicos de la economía: Carbohidratos, Proteínas y Lípidos, es complejo; sus vías de síntesis y degradación tienen pasos comunes que se relacionan entre sí. Todas las reacciones tienen como objetivo formar moléculas estructurales, funcionales o de reserva energética.

2. La mitocondria, organelo intracelular especializado, realiza funciones básicas para la célula: producción de energía y almacenamiento del calcio. Los mecanismos moleculares para lograr dichas funciones recién empiezan a esclarecerse.

3. El alcohol etílico en el organismo humano produce alteraciones profundas en el metabolismo celular, que posteriormente ocasionan múltiples lesiones macroscópicas en diversos órganos y sistemas. La cetoacidosis alcohólica es una patología aguda, que amerita manejo en Unidades de Cuidado Intensivo.

4. La Diabetes Mellitus es la alteración endócrina más común, y sus complicaciones son frecuentes cuando la atención médica es inadecuada. La cetoacidosis diabética causa trastornos en el metabolismo de los Carbohidratos, Lípidos y Proteínas. El éxito de su terapéutica se basa en la comprensión y el conocimiento de las alteraciones que condiciona.

5. La acidosis láctica, patología cuya alteración básica es la sobreproducción de ácido láctico y/o su degradación insuficiente, es una entidad que se presenta con relativa frecuencia. Se requiere del conocimiento de los mecanismos implicados en su producción para la aplicación correcta de las medidas terapéuticas.

6. El calcio, catión divalente, realiza en la célula diversas funciones necesarias para la adecuada actividad de la maquinaria metabólica. Sin la acción de éste elemento no sería posible la vida celular. Sorprendentemente, es un factor importante para el inicio de los procesos de degradación celular

que, inclusive pueden llegar hasta la muerte de la célula.

7. Los radicales libres, productos intermedios de la reducción incompleta del oxígeno son muy activos y, cuando su producción es exagerada superan la capacidad neutralizadora de la célula ocasionando algunas de las lesiones post-isquémicas.

8. La isquemia-anoxia celular es un trastorno producido por el inadecuado aporte de oxígeno a la célula, ésto produce el déficit energético que transtorna toda la actividad metabólica de la célula.

9. El ayuno produce cambios metabólicos rápidos mediados por hormonas ante la falta de aporte de nutrientes exógenos, en ésta situación la célula emplea sus propias reservas. Los cambios preservan la actividad celular con consumo mínimo de sus metabolitos energéticos almacenados.

10. La respuesta metabólica a la lesión como en la sepsis, es una respuesta metabólico-hormonal compleja que manifiestan todas las células del organismo ante un insulto. La reacción celular al inicio es adecuada para la sobrevivencia de la célula, pero si la agresión es muy severa, puede ser causa de la progresión de la lesión que puede ocasionar inclusive la muerte celular.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Berridge Michael. THE MOLECULAR BASIS OF COMMUNICATION WITHIN THE CELL. Scientific American. Vol. 253, N° 4 pp: 124-135 Oct. 1985
2. Lefkowitz R., Ceron M. ADRENERGIC RECEPTORS: MOLECULAR MECHANISM OF CLINICALLY RELEVANT REGULATION, Clinical Research, pp: 395-406, May 5 1985
3. Lefkowitz R. & et al. ADRENERGIC RECEPTORS: MOLECULAR PROPERTIES AND THERAPEUTIC IMPLICATIONS. Symposia Medica Hoechst, Oct 21 1984
4. Bockaert Joël. RECEPTORPATIAS. Scientific American. Vol. 62, N° 7 pp: 960-970. 1987
5. Colucci Wilson. NEW POSITIVE INOTROPIC AGENTS IN THE TREATMENT OF CONGESTIVE HEART FAILURE. N Engl J Med. Vol. 314, N° 5 pp: 290-299. Jan 30 1986
6. Ahlquist Raymond ADRENERGIC RECEPTORS AND OTHERS. Anest & Analg. Vol. 58 N° 6 pp: 510-515 Nov-Dec 1979
7. Goldberg L., Rajfer S. DOPAMINE RECEPTORS: APLICACIONES IN CLINICAL CARDIOLOGY, VOL. 72, pp: 245-248, 1985
8. Flückger E. Vigouret J. CENTRAL DOPAMINE RECEPTORS. Postgraduate Medical J. Vol. 57 supp N° 1 pp: 55-61. 1981
9. Clark B. DOPAMINE RECEPTORS AND THE CARDIOVASCULAR SYSTEM. Postgraduate Medical J, Vol. 57. supp. pp: 45-54. 1981
10. de Combrugge Benoit y cols. CICLIC AMP RECEPTOR PROTEIN: ROLE IN TRANSCRIPTION ACTIVATION. Science. Vol. 224. pp: 831-837 25 May 1984
11. Exton John. ROLE OF CALCIUM AND PHOSPHOINOSITIDES IN THE ACTIONS OF CERTAIN HORMONES AND NEUROTRANSMITTERS. J Clin Invest. Vol.75 pp: 1753-1757 Jun 1985
12. Cohen Philip. THE ROL OF PROTEIN PHOSPHORYLATION IN NEURAL AND HORMONAL CONTROL OF CELLULAR ACTIVITY. Nature, Vol. 296, N° 5858 pp: 613-620 Ap 15 1982
13. Berridge Michael. INOSITOL TRIPHOSPHATE, A NOVEL SECOND MESSENGER IN CELLULAR SIGNAL TRANSDUCTION. Nature, Vol. 312, N° 5992 pp: 315-321 Nov 22, 1984
14. Rasmussen Howard. THE CALCIUM MESSENGER SYSTEM. Part I. N Engl J Med, Vol. 314. N° 17 pp:1094-1101 Ap 24, 1986
15. Felig Philip, Baxter Jhon, et al. ENDOCRINOLOGY AND METABOLISM. 1ª Ed. Ed. McGraw-Hill Book Company 1981
16. Taegtmeier Heinrich. CARBOHYDRATE INTERCONVERSIONS AND ENERGY PRODUCTION. Circulation, Vol. 72, Supp IV pp: 1-8 Nov 1985
17. Brobeck J. BASES FISTOLOGICAS DE LA PRACTICA MEDICA. 10 Ed. 1982. Ed. Panamericana
18. David Martin, Mayes Peter. BIOQUIMICA DE HARPER, 10ª Ed. Ed. Manual Moderno 1986
19. McGilvery. BIGQUIMICA, APLICACIONES CLINICAS. 3ª Ed. Ed. Interamericana 1986
20. Bowman y Rand. FARMACOLOGIA: BASES BIOQUIMICAS Y PATOLOGICAS. 2ª Ed. 1984 Ed. Interamericana
21. Schmid George. QUIMICA BIOLOGICA: LAS BASES QUIMICAS DE LA VIDA. 1ª Ed 1986 Ed. Interamericana
22. Guyton Arthur. TRATADO DE FISIOLOGIA MEDICA. 6ª Ed. 1983 Ed. Interamericana
23. Hinkle Peter y McCarty Richard. COMO FABRICAN ATP LAS CELULAS. Scientific American, N° 20 pp: 58-75 May 1978

24. Cowley Adams & Trump Benjamin. PATHOPHYSIOLOGY OF SHOCK, ANOXIA AND ISCHEMIA. 1^o Ed. 1982 Ed. Williams & Wilkins
25. Chernow Bart & Shoemaker William. CRITICAL CARE STATE OF THE ART. Vol. 7 1986 Ed. Society of Critical Care Medicine
26. Katz. DIABETES Vol. 32, pp: 675-679 1983
27. Fain John. INSULIN SECRETION AND ACTION. Metabolism, Vol. 33 N^o 7 pp: 672-678. July 1984
28. Kolterman Orville & cols. INSULIN RESISTANCE IN NON-INSULIN-DEPENDENT, TYPE II DIABETES MELLITUS. Clin End and Met Vol. 11 N^o 2 pp: 363-387 Jul 1982
29. Bieber L. & Fiol C. FATTY ACID AND KETONE METABOLISM. Circulation, Vol 72 supp IV, pp: 9-12 Nov 1985
30. Cahill George. KETOSIS. International Society of Nephrology, pp: 416-425 1981
31. Garber A, Menzel P & cols. HEPATIC KETOGENESIS AND GLUCONEOGENESIS IN HUMANS. J Clin Invest, Vol. 54 pp: 981-989 Oct 1974
32. Weissman Charles. NUTRITIONAL SUPPORT. Critical Care Clinics, Vol. 3. N^o 1 Jan 1987
33. Adamkin David, Gelke Kim & cols. FAT EMULSIONS AND HYPERTRIGLYCERIDEMIA. J. Parent Ent Nutrition, Vol. 8. N^o 5, pp:563-567. Sep/Oct 1984
34. Johnston Ivan. ADVANCES IN CLINICAL NUTRITION. 2nd International Symposium held in Bermuda, 16-20th May 1982. International Medical Publishers
35. Bower Robert, Kern Kenneth & cols. USE OF A BRANCHED AA ENRICHED SOLUTION IN PATIENTS UNDER METABOLIC STRESS. Am J Surgery, Vol. 149, pp:266-270 Feb 1985
36. Tannen Richard. HOMEOSTASIA DEL AMONIACO Y DE ACIDOS Y BASES. Medical Clin NA. Vol. 67. N^o 4, pp: 781-798; Jul 1983
37. Batshaw M. L. HYPERAMMONEMIA. Curr Probl Ped, Vol. 14, pp: 1-69 1984
38. Barbul Adrian. ARGININE: BIOCHEMISTRY, PHYSIOLOGY, AND THERAPEUTIC IMPLICATIONS. J Parent Ent Nutrition, Vol. 10 N^o 2 pp: 227-236 March/April 1986
39. Reimer Keith & cols. PATHOBIOLOGY OF ACUTE MYOCARDIAL ISCHEMIA: METABOLIC, FUNCTIONAL AND ULTRASTRUCTURAL STUDIES, Am J Cardiology, Vol.52 Jul 20 1983
40. Pasque Michael, Andrew Wechsler. METABOLIC INTERVENTION TO AFFECT MYOCARDIAL RECOVERY FOLLOWING ISCHEMIA. Ann Surgery, Vol. 200, N^o 1 pp:1-12 Jul 1984
41. Kreisberg Robert. LACTATE HOMEOSTASIS AND LACTIC ACIDOSIS. Ann Intern Medicine Part I Vol. 92 N^o 2 pp: 227-236 Feb 1980
42. Pedro Frommer. ACIDOSIS LACTICA. Medical Clin NA. Vol.67, N^o 4, pp:815-830 Jul 1983
43. Schuster Hans-Peter. PROGNOSTIC VALUE OF BLOOD LACTATE IN CRITICALLY ILL PATIENTES. Resuscitation, Vol. 11. pp: 141-146 1984
44. Chaudry Irshad. CELLULAR MECHANISM IN SHOCK AND ISCHEMIA AND THEIR CORRECTION. Am J Physiology, Vol. 245 pp: 117-134. 1983
45. Myers Ronald & cols. BRAIN METABOLIC AND PATHOLOGIC CONSEQUENCES OF ASPHYXIA: ROLE PLAYED BY SERUM GLUCOSE CONCENTRATION. Ohio E.U.A. 1984
46. Cryan Lynn and Ledingham Iain. THE SIGNIFICANCE OF BLOOD LACTATE IN INTENSIVE CARE. Intensive & Crit Care Digest, Vol. 5 N^o 1 pp: 15-17 Jun 1985
47. Shoemaker William. TEXTBOOK OF CRITICAL CARE. 2^o Ed. 1987. Ed. Saunders
48. Felts Philip, CETOACIDOSIS DIABETICA. Clinicas Médicas de NA, Vol. 65. N^o 1 En 1981
49. Baruh Selim & cols. DIABETIC KETOACIDOSIS AND COMA. Medical Clin NA, Vol. 65, N^o 1 pp: 117-132 Jan 1981

50. Flier Jeffrey and Moore Mary. THE METABOLIC DERANGEMENTS AND TREATMENT DIABETIC KETOACIDOSIS. *N Engl J Med*, Vol. 309, Nº 3 pp: 159-169, Jul 21, 1983
51. Kreisberg Robert. DIABETIC KETOACIDOSIS: NEW CONCEPTS AND TRENDS IN PATHOGENESIS AND TREATMENT. *Ann Int Med* Vol. 88, Nº 5 pp: 681-695 May 1978
52. Kandel Gabor, Aberman Arnold. SELECTED DEVELOPMENTS IN THE UNDERSTANDING KETOACIDOSIS. *Can Med Assoc J*, Vol. 128, pp: 392-397; Feb 15, 1983
53. Schade David and Eaton Philip. PREVENTION OF DIABETIC KETOACIDOSIS. *JAMA*, Vol. 242, Nº 22 pp: 2455-2458, Nov 30 1979
54. Matz Robert. UNCONTROLLED DIABETES: ACIDOTIC AND HYPEROSMOLAR. *Cardiovascular Reviews & Reports* Vol. 3, Nº 11, pp: 1715-1725. Nov 1982
55. Geokas Michael. ETHANOL, THE LIVER, AND THE GASTROINTESTINAL TRACT. *Ann Int Medicine* Vol. 95, Nº 2 pp: 198-210 Aug 1981
56. Lieber Charles. METABOLISMO Y EFECTOS METABOLICOS DEL ALCOHOL. *Clin Médicas de NA*. Vol. 68, Nº 1 En 1984
57. Bruce David. ALCOHOLISM AND ANESTHESIA. *Anesth Analg*, Vol. 62. pp: 84-95 1983
58. Hibbard Williams. HIPOGLUCEMIA Y CETOACIDOSIS ALCOHOLICAS. *Clin Médicas de NA* Vol. 68, Nº 1 Enero 1984
59. Adams S. Mathews J. & cols. ALCOHOLIC KETOACIDOSIS. *Ann Emerg Med*, Vol. 16, Nº 1 pp: 90-97 Jan 1987
60. Palmer Jerry. ALCOHOLIC KETOACIDOSIS: CLINICAL AND LABORATORY PRESENTATION, PATHOPHYSIOLOGY AND TREATMENT. *Clin End & Metab*. Vol. 12, Nº 2 pp: 381-389. Jul 1983
61. Halperin M. Josse M & cols. METABOLIC ACIDOSIS IN THE ALCOHOLIC: A PATHOPHYSIOLOGIC APPROACH. *Metabolism*, Vol. 32, Nº 3, pp: 308-315, March 1983
62. Thompson C., Johnston D. & cols. ALCOHOLIC KETOACIDOSIS: AN UNDERDIAGNOSED CONDITION? *Br Medical J*. Vol. 292, pp: 463-465 Feb 15, 1986
63. Devenyi Paul. ALCOHOLIC HIPOGLYCEMIA AND ALCOHOLIC KETOACIDOSIS: SEQUENTIAL EVENTS OF THE SAME PROCESS? *C M A*, Vol. 127, pp: 513, Sep 15, 1982
64. Trejo-Gutierrez Jorge y cols. CETOACIDOSIS ALCOHOLICA. *Rev Invest Clínica* Vol. 35, pp: 301-303, Oct-Dic 1983
65. Cerra Frank & Shoemaker William. CRITICAL CARE STATE OF THE ART. Vol 8 1987 Ed. Society of Critical Care Medicine
66. Carafoli Ernesto and Penniston John. THE CALCIUM SIGNAL. *Scientific American* Vol. 253, Nº 5. pp: 50-58 Nov 1985
67. Braunwald Eugene. MECHANISM OF ACTION OF CALCIUM-CHANNEL-BLOCKING AGENTS. *N Engl J Med*, Vol. 327, Nº 6. pp: 1618-1627, Dec 23, 1982
68. Hughes William and Ruedy John. SHOULD CALCIUM BE USED IN CARDIAC ARREST? *Am J Medicine*, Vol. 81, pp: 285-296; Aug 1986
69. White Blaine, Winegar Carl & et al. POSSIBLE ROLE OF CALCIUM BLOCKERS IN CEREBRAL RESUSCITATION. *Crit Care Med*, Vol. 11, Nº 3; pp: 202-207, Mar 1983
70. Katz Arnold, Huger David & et al. CELLULAR ACTIONS AND PHARMACOLOGY OF THE CALCIUM CHANNEL BLOCKING DRUGS. *Am J Med*, Vol. 79, supp 4A Oct 11, 1985
71. Katz Arnold. BASIC CELLULAR MECHANISM OF ACTION OF THE CALCIUM-CHANNEL BLOCKERS. *Am J Cardiol*, Vol. 55, pp: 2B-9B; Jan 25, 1985
72. Van Reempts Jos and Borgers Marcel. ISCHEMIC BRAIN INJURY AND CELL CALCIUM: MORPHOLOGIC AND THERAPEUTIC ASPECTS. *Ann Emerg Med*, Vol. 14, pp: 736-743; Aug 1985
73. McCord Joe. OXIGEN-DERIVED FREE RADICALS IN POSTISCHEMIC TISSUE INJURY. *N Engl J Med*, Vol. 312, Nº 3. pp: 159-163; Jan 17, 1985

74. McCord Joe. THE SUPEROXIDE FREE RADICAL: ITS BIOCHEMISTRY AND PATHOPHYSIOLOGY. *Surgery*, Vol. 94. N° 3; pp: 412-414. Sep 1983
75. Bulkeley Gregory. THE ROLE OF OXIGEN FREE RADICALS IN HUMAN DISEASE PROCESSES. *Surgery*, Vol. 94. N° 3; pp: 407-411. Sep 1983
76. Parks Dale, Bulkeley Gregory, et al. ROLE OF OXIGEN-DERIVED FREE RADICALS DIGESTIVE TRACT DISEASE. *Surgery*, Vol. 94. N° 3; pp: 415-421. Sep 1983
77. Parks Dale, Bulkeley Gregory et al. ROLE OF OXIGEN FREE RADICALS IN SHOCK, ISCHEMIA, AND ORGAN PRESERVATION. *Surgery*, Vol.94 N° 3 pp: 428-431 Sep 1983
78. Brigham Kenneth. ROLE OF FREE RADICALS IN LUNG INJURY. *Chest*, Vol. 89. N° 6. pp: 859-863. Jun 1986
79. Nayler Winefred, Elz Jennifer. REPERFUSION INJURY: LABORATORY ARTIFACT OR CLINICAL DILEMMA?. *Circulation*, Vol. 74. N° 2, pp: 215-221. Aug 1986
80. Babbs Charles. ROLE OF IRON IONS IN THE GENESIS OF REPERFUSION INJURY FOLLOWING SUCCESSFUL CARDIOPULMONARY RESUSCITATION: PRELIMINARY DATA AND A BIOCHEMICAL HYPOTHESIS. *Ann Emerg J*, Vol. 14. N° 8. pp: 777-783. Aug 1985
81. White Blaine, Krause Gary, et al. POSTISCHEMIC TISSUE INJURY BY IRON-MEDIATED FREE RADICAL LIPID PEROXIDATION. *Ann Emerg Med*, Vol.14 N° 8. Aug 1985
82. Gillon Ward C. INFLUENCE OF IRON ON INFECTION. *Am J Surgery*, Vol. 15. N° 1. pp: 291-295. Feb 1986
83. Krause Gary, Kumar Kusum, et al. ISCHEMIA, RESUSCITATION, AND REPERFUSION: MECHANISMS OF TISSUE INJURY AND PROSPECTS FOR PROTECTION. *Recent Advances in CPR*, Vol. 111. N° 4; pp: 768-778. Ap 1986
84. Werns Steven, Shea Michael, et al. FREE RADICALS AND MYOCARDIAL INJURY: PHARMACOLOGIC IMPLICATIONS. *Circulation*, Vol. 74. N° 1. pp: 1-5. Jul 1986
85. Shapiro Harvey. Brain: Protection: Fact or Fancy. *Critical Care State of the Art*, Vol. 6 1985
86. Rehncrona Stig. BRAIN ACIDOSIS. *Ann Emerg Medicine*, Vol. 14. N° 8; pp: 770-776. Aug 1985
87. Siesjö Bo. CEREBRAL CIRCULATION AND METABOLISM. *J Neurosurg*, Vol. 60. pp: 883-907. May 1984
88. Chaudry Irshad, Clemens Mark, et al. ALTERATIONS IN CELL FUNCTION WITH ISCHEMIA AND SHOCK AND THEIR CORRECTION. *Arch Surg*, Vol. 116. Oct 1981
89. Kirsch Jeffrey, Dean Michael, et al. CURRENT CONCEPTS IN BRAIN RESUSCITATION *Arch Intern Med*, Vol. 146. pp: 1413- 1419. Jul 1986
90. Stempien April, Katz Arnols, et al. CALCIUM AND CARDIAC ARREST. *Ann Intern Med*, Vol. 105. N° 4. pp: 603-606 Oct 1986
91. Fiskum Gary. MITOCHONDRIAL DAMAGE DURING CEREBRAL ISCHEMIA. *Ann Emerg Med* Vol. 14. N° 8. pp: 810-815. Aug 1985
92. Mendelow A., Teasdale G. PATHOPHYSIOLOGY OF HEAD INJURIES. *Br J Surgery* Vol. 70. pp: 641-650. 1983
93. Astrup Jens. ENERGY-REQUIRING CELL FUNCTIONS IN THE ISCHEMIC BRAIN. *J Neurosurgery*, Vol. 56. pp: 482-497. Ap 1982
94. Siesjö Bo. ADMINISTRATION OF BASE VIA THE CSF ROUTE: A CLINICALLY USEFUL TREATMENT OF CEREBRAL ACIDOSIS? *Int & Crit Car Dig*, Vol. 3 N° 1. May 1984
95. Luce John. MEDICAL MANAGEMENT OF HEAD INJURY. *Chest*, Vol. 89. N° 6. pp: 864-872. Jun 1986
96. Braunwald Eugene, Kloner Robert. MYOCARDIAL REPERFUSION: A DOUBLE-EDGED SWORD? *J Clin Invest*, Vol. 76. pp: 1713-1719. Nov 1985

97. Safar Peter. CEREBRAL RESUSCITATION AFTER CARDIAC ARREST: A REVIEW. *Circulation*, Vol. 74. supp IV, pp: 138-152. Dec 1986
98. Siegel Jhon. CARDIORRESPIRATORY MANIFESTATIONS OF METABOLIC FAILURE IN SEPSIS AND THE MULTIPLE ORGAN FAILURE SYNDROME. *Surg Clin NA*, Vol. 63. N° 2, pp: 379-400. April 1983
99. Shoemaker William. CRITICAL CARE. *The Surgical Clinics of North America* Vol. 65. N° 4, Aug 1985
100. Sibbald William, Sprung Charles. PERSPECTIVES ON SEPSIS AND SEPTIC SHOCK Ed. Society of Critical Care Medicine 1986
101. Cerra Frank. THE SYSTEMIC SEPTIC RESPONSE: MULTIPLE SYSTEMS ORGAN FAILURE. *Crit Care Clin*, Vol. 1, N° 3. pp: 591-608. Nov 1985
102. Siegel John, Cerra Frank, et al. PHYSIOLOGICAL AND METABOLIC CORRELATIONS IN HUMAN SEPSIS. *Surgery*, Vol. 86. N° 2. pp: 163-193; 1979
103. Wilson Robert. SCIENCE AND SHOCK. *Ann Emerg Medicine*, Vol. 14. pp: 714-723; Aug 1985
104. Carrico James, Meakins Jonathan, et al. MULTIPLE-ORGAN-FAILURE SYNDROME. *Arch Surgery*, Vol. 121. pp: 196-208; Feb 1986
105. Siegel John. RELATIONS BETWEEN CIRCULATORY AND METABOLIC CHANGES IN SEPSIS *Ann Rev Med*, Vol. 32; pp: 175-194. 1981
106. Mizock Barry. SEPTIC SHOCK A METABOLIC PERSPECTIVE. *Arch Intern Med*, Vol. 144. pp: 579-585. March 1984
107. Mizock Barry. BRANCHED-CHAIN AMINO ACIDS IN SEPSIS AND HEPATIC FAILURE. *Arch Intern Med*, Vol. 145. pp: 1284-1288; Jul 1985
108. Shaw James, Robert Wolfe. ENERGY AND SUBSTRATE KINETICS AND OXIDATION DURING KETONE INFUSION IN SEPTIC DOGS: Role of Changes in Insulin and Glucagon. *Shock Cir*, Vol. 14. pp: 63-79. 1984
109. Black Preston, Brooks David, et al. MECHANISM OF INSULIN RESISTANCE FOLLOWING INJURY. *Ann Surg*, Vol. 196. N° 4, pp: 420-435. Oct 1982
110. Binder Christian, Lauritzen Torsten, et al. INSULIN PHARMACOKINETICS, *Diabetes Care*, Vol. 7. N° 2, pp: 188-199. March-April 1984
111. CACHECTIN. *Scientific American*, pp: 66-67. Nov 1985
112. Beutler Bruce, Cerami Anthony. CACHECTIN: MORE THAN A TUMOR NECROSIS FACTOR *N Engl J*, Vol. 316. N° 7, pp: 379-383; Feb 12, 1987
113. Eliasson Keith. STRESS AND CATECHOLAMINES. *Acta Med Scand*, Vol. 215. pp: 197-204; 1984
114. Gilder Helena. PARENTERAL NOURISHMENT OF PATIENTS UNDERGOING SURGICAL OR TRAUMATIC STRESS. *J Parent Ent Nutrition*, Vol. 10. N° 1; pp:88-98 Feb 1986
115. Benotti Peter. NUTRITION SUPPORT OF THE CLITICALLY ILL 9^o Clinical Congress Jan 21 1985, Miami Beach, Florida USA.
116. Woolf Paul. ENDOCRINOLOGY OF SHOCK. *Ann Emerg Med*, Vol. 15. pp: 1401-1405 N° 12. Dec 1986
117. Cerra Frank, Blackburn George. THE EFFECT OF STRESS LEVEL, AA FORMULA, AND NITROGEN DOSE ON NITROGEN RETENTION IN TRAUMATIC AND SEPTIC STRESS
118. Elwyn David. NUTRITIONAL REQUIREMENTS OF ADULT SURGICAL PATIENTS. *Crit Care Med*, Vol. 8. N° 1, pp: 9-22; Jan 1980
119. Hill G, Church J. ENERGY AND PROTEIN REQUIREMENTS OF GENERAL SURGICAL PATIENTS REQUIRING INTRAVENOUS NUTRITION. *Br J Surgery*, Vol. 71. pp:1-9 Jan 1984

120. Nordenström Jörgen, Persson Eddie. ENERGY SUPPLY DURING TOTAL PARENTERAL NUTRITION - HOW MUCH AND WHAT SOURCE?. *Acta Anaesthesiol Scand*, Vol. 29. pp: 95-99. 1985
121. Meyer Anthony. CRITICAL CARE MANAGEMENT OF THE TRAUMA PATIENT. *Crit Care Clin*, Vol. 2. Nº 4, Oct 1986
122. Luce John. PATHOGENESIS AND MANAGEMENT OF SEPTIC SHOCK. *Chest*, Vol. 91. Nº 6, pp: 883-888; Jun 1987
123. Kalter Eric. INFLAMMATORY MEDIATORS AND ACUTE INFECTIONS. *Resuscitation*, Vol. 11. pp: 133-140. 1984
124. Walser Mackenzie. RATIONALE AND INDICATIONS FOR THE USE OF ALFA-KETO ANALOGUES. *J Parent Enter Nut*, Vol. 8. Nº 1, pp: 37-41; Jan/Feb 1984
125. Bernton Edward. NALOXONE AND TRH IN THE TREATMENT OF SHOCK AND TRAUMA: WHAT FUTURE ROLES?. *Ann Emerg Med*, Vol. 14. Nº 8, pp: 729-735; Aug 1985
126. Morath Gottschlich Michele, Alexander Wesley. FAT KINETICS AND RECOMMENDED DIETARY INTAKE IN BURNS. *J Parent Ent Nut*, Vol. 11. Nº 1, pp:80-84 Feb 1987
127. Nesbakken Ragnar, Reinlie Sissel. MAGNESIUM AND PHOSPHORUS: THE ELECTROLYTES OF ENERGY METABOLISM. *Acta Anaesthesiol Scand*, Vol. 29. pp: 60-64; 1985
128. Reyes Aries, Alcocer Luis. Ca AND Mg IN THE HEART AND THE PATHOGENESIS OF CARDIAC ARRHYTHMIAS INDUCED BY Mg DEFICIENCY. Submitted to "Atheroma" Jun 1987
129. Iseri Lloyd, French James. MAGNESIUM: NATURE'S PHYSIOLOGIC CALCIUM BLOCKER *Am Heart J*, Vol. 108. Nº 1, pp: 188-193. Jul 1984
130. Axelrod Julius, Reisine Terry. STRESS HORMONES THEIR INTERACTIONS AND REGULATIONS. *Science*, Vol. 224. Nº 4648, May 4 1984
131. Clarcke G. M. MULTIPLE SYSTEM ORGAN FAILURE. *Clin Anaesthesiol*, Vol. 3. Nº 4, pp: 1027-1054. Oct 4 1985
132. Symposium Proceedings o a K/Mg Depletion: IS YOUR PATIENT A RISK OF SUDDEN DEATH. *Am J Med*, Vol. 82. supp: 3A March 20, 1987
133. Hees Michael, Hastillo Andrea, et al. SPECTRUM OR CARDIOVASCULAR FUNCTION DURING GRAM-NEGATIVE SEPSIS. *Progress in Cardiol Dis*, Vol.23 Nº 4 Feb 1981
134. Archer Linda. MYOCARDIAL DYSFUNCTION IN ENDOTOXIN - AND E. COLI-INDUCED SHOCK: Pathophysiological Mechanisms. *Circ Shock*, Vol.15.pp: 261-280 1985
135. McDonough Kathleen, Lang Charles, et al. THE EFFECT OF HYPERDYNAMIC SEPSIS ON MYOCARDIAL PERFORMANCE. *Circ Shock*, Vol. 15. pp: 247-259. 1985