



SOLUCIÓN AL PROBLEMA BIOQUÍMICO

¿CUÁNTO ATP SE PRODUCE EN UNA MITOCONDRIA?

SOLUCIÓN DEL PROBLEMA

- Cada valor se debe multiplicar por los 2 mL totales de la muestra para tener el consumo total de O₂

$$\frac{pmol\ O_2}{mL \times s} \times 2mL = \frac{pmol\ O_2}{s}$$

- Convertir el oxígeno diatómico a oxígeno monoatómico

$$1pmol\ O_2 = 2pmol\ O$$

- Restar el consumo de oxígeno total celular del consumo de oxígeno después de agregar oligomicina para obtener el consumo de O₂ asociado a la síntesis de ATP (FOx).

$$FOx = \text{Respiración celular} - \text{Oligomicina}$$

- Cuando se obtenga el valor de FOx, se debe multiplicar por la relación P/O (siendo su valor de 1.68 en *T. cruzi*)

$$\frac{pmol\ O}{s} \times 1.68 = \frac{pmol\ ATP}{s}$$

- El resultado anterior tendrá los valores de pmol ATP/s; donde posteriormente se debe dividir entre las células presentes en el oxígrafo, obteniendo así pmol ATP/s^x célula.

$$\frac{pmol\ ATP}{s} \div \text{células} = \frac{pmol\ ATP}{s \times \text{célula}}$$

- Como paso final, pasar los pmol a mol y multiplicar por el número de Avogadro para tener las moléculas de ATP sintetizadas por una célula cada segundo.

$$\frac{\text{Moléculas de ATP}}{s \times \text{célula}} = \left(\frac{pmol\ ATP}{s \times \text{célula}} \right) \left(\frac{1 \times 10^{-12} \text{ mol ATP}}{1pmol\ ATP} \right) \left(\frac{6.02 \times 10^{23} \text{ Moléculas de ATP}}{1mol\ ATP} \right)$$

- La siguiente fórmula resume los cálculos explicados anteriormente:

$$\frac{\text{Moléculas de ATP}}{\text{s x célula}} = \frac{\left(\frac{\text{pmol O}_2}{\text{s x mL}} T. cruzi - \frac{\text{pmol O}_2}{\text{s x mL}} \text{ oligo} \right) 4.047 \times 10^{12}}{\# \text{células en el oxígrafo}}$$

Teniendo en cuenta lo anterior, al poner los valores presentados en la tabla 1 dentro de la fórmula se puede obtener:

$$\frac{\text{moléculas de ATP}}{\text{s x célula}} = \frac{(116.82 - 45.56) \times 4.047 \times 10^{12}}{74 \times 10^6} = 3.89 \times 10^6$$

Lo que quiere decir que, en promedio, un parásito kinetoplástido (organismos que contienen el DNA mitocondrial compactado dentro de una sola mitocondria) puede sintetizar 3.89×10^6 moléculas de ATP cada segundo.

Es importante tener en cuenta que el valor calculado de la velocidad de producción de ATP es obtenido a partir de un experimento; sin embargo, las réplicas son necesarias para que los valores tengan una mayor robustez. Al repetir el experimento utilizando tres cultivos independientes de *T. cruzi* se obtuvo una velocidad de producción de ATP de $2.9 \times 10^6 \pm 1 \times 10^6$ moléculas de ATP $\text{célula}^{-1} \text{s}^{-1}$.

DISCUSIÓN

Una vez estimada la velocidad de producción de ATP por *T. cruzi* nos preguntamos ¿cómo es esta velocidad en comparación con una mitocondria humana? Esta pregunta es muy compleja porque depende del tipo de célula, del número de mitocondrias por célula, de la razón P/O, del volumen mitocondrial, etc. A pesar de la complejidad de esta pregunta, podemos hacer algunas aproximaciones con los datos reportados en la literatura (Tabla 1).

Parámetro	Valor
Producción de ATP por el cuerpo humano (10)	9×10^{20} moléculas de ATP / s
Células en el cuerpo humano (11)	36×10^{12} células
Eritrocitos en sangre (12)	5×10^6 eritrocitos / μL
Volumen de sangre en el cuerpo (12)	0.069 L / Kg
Número de mitocondrias en la célula (13)	1000-2500 mitocondrias / célula
Volumen mitocondrial en tripanosomátidos (14)	$4.5 \mu\text{m}^3$ (4.5 fL)
Volumen mitocondrial en músculo esquelético humano (15)	$0.2 \mu\text{m}^3$ (0.2 fL)

Se ha estimado que el cuerpo humano en reposo produce alrededor de 9×10^{20} moléculas de ATP cada segundo (10). También se ha estimado que el cuerpo de un hombre adulto de 70kg contiene alrededor de 36×10^{12} células (11) de las cuales hay que restar el número de eritrocitos, ya que no tienen mitocondria. En promedio, la sangre de un hombre adulto contiene 5×10^9 eritrocitos/mL (12) y alrededor de 4.8 L de sangre total (hombre de 70Kg) (12). Con esta información tenemos que:

$$5 \times 10^9 \frac{\text{eritrocitos}}{\text{mL}} \times \left(\frac{1 \times 10^3 \text{mL}}{1 \text{L}} \right) \times 4.8 \text{ L} = 24 \times 10^{12} \text{ eritrocitos}$$

Por lo tanto, el cuerpo humano contiene aproximadamente 12×10^{12} células que tienen un rango de 1000 a 2500 mitocondrias (13). Para efecto de realizar los cálculos, consideraremos 1000 mitocondrias, por lo que, en total, el cuerpo humano contiene entre 12×10^{15} mitocondrias. Con esta información y la cantidad de ATP/s tenemos una velocidad de producción de 0.75×10^5 moléculas de ATP s⁻¹mitocondria⁻¹.

Con estos datos pareciera que la única mitocondria de *T. cruzi* es al menos un orden de magnitud más eficiente para producir ATP en comparación con la mitocondria humana. Sin embargo, hay un factor más a tomar en cuenta: el volumen mitocondrial estimado para algunos tripanosomátidos es en promedio de $4.5\mu\text{m}^3$ (4.5fL) (14), mientras que se ha estimado que el volumen mitocondrial en músculo esquelético es en promedio de $0.2\mu\text{m}^3$ (0.2fL) (15). Por lo tanto, al considerar el volumen mitocondrial tenemos una velocidad de producción de ATP para *T. cruzi* de 6.4×10^5 ATP s⁻¹fL⁻¹ y en células humanas de 3.8×10^5 ATP s⁻¹fL⁻¹; por lo que podemos concluir que ambas mitocondrias poseen una velocidad de producción de ATP muy similar. Los cálculos descritos en el texto se resumen en la siguiente ecuación que considera la producción de ATP en células humanas:

$$v = \frac{\left(9 \times 10^{20} \frac{\text{ATP}}{\text{cuerpo} \times \text{s}}\right)}{\left[36 \times 10^{12} \frac{\text{célula}}{\text{cuerpo}} - \left(5 \times 10^9 \frac{\text{eritrocitos}}{\text{mL}} \times \frac{1 \times 10^3 \text{mL}}{\text{L}} \times \frac{0.069 \text{L}}{\text{Kg}} \times \frac{70 \text{Kg}}{\text{cuerpo}}\right)\right] \times 1000 \frac{\text{mitocondria}}{\text{célula}} \times 0.2 \frac{\text{fL}}{\text{mitocondria}}} = 3.8 \times 10^5 \frac{\text{ATP}}{\text{fL} \times \text{s}}$$

CONCLUSIÓN

Este artículo presenta datos sobre la respiración celular con el propósito de mostrar cómo es un estudio de respirometría utilizando un oxígrafo de alta resolución (Oroboros Instrument ®); además de poder hacer que el alumnado sea consciente de la velocidad y eficiencia con la que trabaja una célula, en este caso, sintetizando moléculas de ATP para mantener en correcto funcionamiento a un organismo. El parásito *T. cruzi* posee una mitocondria por célula y lo utilizamos como modelo para estudiar la respiración en mitocondrias intactas; los resultados obtenidos muestran que la velocidad de producción de ATP por el parásito puede compararse con la velocidad de las mitocondrias humanas.



AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue realizado en el Departamento de Bioquímica del Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez con el apoyo de CONAHCyT del Fondo de Ciencia de Frontera, Paradigmas y Controversias con el proyecto número 320870 y con el Proyecto de Ciencia Básica número 282663

REFERENCIAS

1. Nelson DL, Cox MM, Hoskins AA. Lehninger Principles of Biochemistry. Part II. Bioenergetics and Metabolism. In: 8th ed. New York: Macmillan Learning; 2021.
2. Martínez Montes F, Pardo Vázquez JP, Riveros Rosas H. Bioquímica de Laguna y Piña. 8th ed. María Teresa Hernández Martínez, editor. Ciudad de México: Manual Moderno; 2018.
3. Rodwell VW, Bender DA, Botham KM, Kennelly PJ, Weil PA. Harper Bioquímica ilustrada. 30th ed. México: Mc Graw Hill Education; 2016.
4. Gnaiger E. Mitochondrial Pathways and Respiratory Control. An Introduction to OXPHOS Analysis [Internet]. 2020 [cited 2024 Feb 27]. Available from: https://wiki.oroboros.at/images/e/ec/BEC_2020.2_doi10.26124bec2020-0002.pdf

5. Nicholls DG. Mitochondrial proton leaks and uncoupling proteins. Vol. 1862, *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics*. Elsevier B.V.; 2021.
6. Hinkle PC. P/O ratios of mitochondrial oxidative phosphorylation. Vol. 1706, *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics*. 2005. p. 1–11.
7. Nicholls DG, Ferguson SJ. *Bioenergetics*. 4th ed. Elsevier; 2013.
8. Rodríguez-Enríquez S, Hernández-Esquivel L, Marín-Hernández A, El Hafidi M, Gallardo-Pérez JC, Hernández-Reséndiz I, et al. Mitochondrial free fatty acid β -oxidation supports oxidative phosphorylation and proliferation in cancer cells. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 2015 Jun 22;65:209–21.
9. Affranchino JL, De MNS, Stoppani AOM. Respiratory control in mitochondria from *Trypanosoma cruzi*. Vol. 16, *Molecular and Biochemical Parasitology*. 1985.
10. Zimmerman JJ, Arnim AVSA Von, McLaughlin J. Cellular Respiration. In: Fuhrman BP, Zimmerman JJ, Carcillo JA, Clark RSB, Relvas M, Rotta AT, et al., editors. *Pediatric Critical Care: Expert Consult Premium Edition*. Fourth. Philadelphia, PA: Elsevier; 2011. p. 1058–72.
11. Hatton IA, Galbraith ED, Merleau NSC, Miettinen TP, Smith BM, Shander JA. The human cell count and size distribution. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2023 Sep 26;120(39).
12. Goldman L, Andrew I. Schafer, editors. *Appendix Reference Intervals and Laboratory Values*. In: *Goldman-Cecil Medicine*. 26th ed. 2020. p. e7.
13. Pizzorno J. Mitochondria-Fundamental to Life and Health. *Integrative Medicine* •. 2014;13(2).
14. Jakob M, Hoffmann A, Amodeo S, Peitsch C, Zuber B, Ochsenreiter T. Mitochondrial growth during the cell cycle of *Trypanosoma brucei* bloodstream forms. *Sci Rep*. 2016 Nov 22;6.
15. Vincent AE, White K, Davey T, Philips J, Ogden RT, Lawess C, et al. Quantitative 3D Mapping of the Human Skeletal Muscle Mitochondrial Network. *Cell Rep*. 2019 Jan 22;26(4):996-1009.e4.