



Universidad
Zaragoza



Trabajo de Fin de Grado
Grado en Biotecnología

**ESTADO ACTUAL DEL CONOCIMIENTO
SOBRE EL PAPEL FUNCIONAL DE LOS
SUPERCOMPLEJOS MITOCONDRIALES.
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

Current state of knowledge on the functional role of mitochondrial supercomplexes. A bibliographical review

Autora:

Fangaly Sene Clavero

Director:

Patricio Fernández Silva

Facultad de Ciencias

2024

Índice

1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN.....	2
2.1. Las mitocondrias	2
2.2. La respiración celular.....	2
2.2.1. El sistema OXPHOS	2
3. METODOLOGÍA	3
4. COMPLEJOS RESPIRATORIOS	4
4.1. Complejo I, NADH deshidrogenasa o NADH ubiñonona oxidoreductasa.....	4
4.2. Complejo II, succinato coenzima Q reductasa o succinato deshidrogenasa	4
4.3. Complejo III o citocromo bc ₁	5
4.4. Complejo IV o citocromo c oxidasa (COX).....	5
4.5. Complejo V	6
5. COMPONENTES MÓVILES DE LA CADENA RESPIRATORIA	7
5.1. Coenzima Q (CoQ o ubiñonona).....	7
5.2. Citocromo c	7
6. SUPERCOMPLEJOS	8
6.1. Experimentos para determinar las estructuras de Los SCs en mamíferos.....	9
6.2. Tipos de supercomplejos (SCs)	10
6.2.1. Supercomplejos formados por el complejo I, III y el IV: Respirasoma	10
6.2.2. Supercomplejos formados por el complejo I y el III: I+III ₂	11
6.2.3. Supercomplejos formados por el complejo III y el IV: III ₂ +IV ₁₋₂	12
6.3. Factores de ensamblaje	13
6.3.1. HIGD1A y HIGD2A	13
6.3.2. SCAF1.....	14
6.3.3. Composición lipídica de la membrana	15
7. FUNCIONES DE LOS SCs.....	16
7.1. Mantener la integridad de los complejos libres	16
7.2. Regular la producción de ROS	17
7.3. Mejorar la eficiencia del transporte de electrones	17
8. DISCUSIÓN	21
9. CONCLUSIONES.....	22
10. BIBLIOGRAFÍA.....	23
11. ANEXO.....	26

1. RESUMEN

El estudio de la organización del sistema OXPHOS ha sido un tema de controversia desde sus primeras descripciones. Inicialmente, se consideró el modelo sólido en el que se pensaba que los complejos de la cadena respiratoria funcionaban como una unidad estructural. Posteriormente, se postuló el modelo fluido que sugería que las estructuras de transferencia de electrones podían difundir libremente y se encontraban separadas de manera aleatoria. Más recientemente se ha propuesto el modelo de plasticidad con el que se reveló la existencia de supercomplejos mitocondriales (SCs) en diferentes organismos y tejidos, coexistiendo con los complejos libres. En los inicios, se cuestionó la existencia de los SCs como entidades fisiológicas, que podrían ser artefactos derivados del procedimiento empleado para su detección (empleo de detergentes como la digitonina). Sin embargo, se reveló la presencia de varios tipos de asociaciones entre complejos mitocondriales también con otros detergentes e incluso con procedimientos que no los empleaban. La confirmación de dichas estructuras, se ha llevado a cabo con el uso de técnicas como la electroforesis azul-nativa (BN-PAGE) y la criomicroscopía electrónica (cryo-EM).

El respirasoma ($I_1III_2IV_1$) se considera la unidad funcional más grande, al incluir todos los elementos necesarios para la transferencia de electrones desde el NADH hasta el oxígeno.

Este Trabajo de Fin de Grado proporciona una visión detallada de los avances en el estudio de los SCs, destacando su importancia biológica y su influencia en el funcionamiento energético de las células. Como parte central se discuten las evidencias que sustentan o cuestionan las funciones principales propuestas: mantener la estabilidad de los complejos individuales, regular la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y optimizar el transporte de electrones. Aunque son bastantes los experimentos realizados para avalarlas, se han publicado artículos que las ponen en duda, lo cual resalta la necesidad de continuar la investigación en este campo.

ABSTRACT

The study of the organisation of the OXPHOS system has been a matter of controversy since its first descriptions. Initially, the solid model was considered in which the respiratory chain complexes were thought to function as a structural unit. Subsequently, the fluid model was postulated, suggesting that the electron transfer structures could diffuse freely and were randomly separated. More recently, the plasticity model has been proposed, revealing the existence of mitochondrial supercomplexes (SCs) in different organisms and tissues, coexisting with free complexes.

In the beginning, the existence of SCs as physiological entities was questioned, which could be artefacts derived from the procedure used for their detection (use of detergents such as digitonin). However, the presence of several types of associations between mitochondrial complexes was revealed also with other detergents and even with procedures that did not employ them.

The confirmation of these structures has been carried out with the use of techniques such as blue-native electrophoresis (BN-PAGE) and cryogenic electron microscopy (cryo-EM). The respirasome ($I_1III_2IV_1$) is considered the largest functional unit, as it includes all the elements necessary for electron transfer from NADH to oxygen.

This Final Degree Project provides a detailed overview of the advances in the study of SCs, highlighting their biological importance and their influence on the energetic functioning of cells. As a central part, it discusses the evidence supporting or questioning the main proposed functions: maintaining the stability of individual complexes, regulating the production of reactive oxygen species (ROS) and optimising electron transport. Although many experiments have been carried out to support them, articles have been published that cast doubt on them, which underlines the need for further research in this field.

2. INTRODUCCIÓN

2.1. Las mitocondrias

Las mitocondrias son orgánulos celulares localizados en el citoplasma de las células eucariotas, que están limitados por un sistema de doble membrana fosfolipídica, una interna y otra externa (1). La primera de ellas está formada por un elevado número de pliegues, las llamadas crestas mitocondriales, cuyo papel es aumentar la superficie (2). Ambas membranas tienen diferentes funciones: la interna participa más activamente en la fosforilación oxidativa (OXPHOS) ya que contiene un elevado número de proteínas que participan en ella, además de muchas otras como las que permiten el transporte de metabolitos entre el citosol y estos orgánulos. Sin embargo, esta membrana resulta impermeable a la mayoría de los iones y pequeñas moléculas. Ocurre todo lo contrario con la membrana externa, que es muy permeable al contener unas proteínas (porinas) que forman canales de libre difusión de moléculas de menos de 6000 dalton (Da). Estas propiedades permiten la formación de los diferentes espacios mitocondriales: el espacio intermembrana con una composición similar a la del citosol y la matriz mitocondrial (2).

La teoría universalmente aceptada respecto al origen de estos orgánulos membranosos, a pesar de que al inicio no contó con suficiente apoyo, es la presentada por Lynn Margulis en 1967 (3). Esta teoría propone, gracias a numerosas investigaciones de los genes y las proteínas mitocondriales y de cloroplastos, que ambos orgánulos provienen de la endosimbiosis bacteriana de una α -proteobacteria en una derivada de *Archaea* que actuaría como célula huésped. En este proceso, además de la formación de las mitocondrias y su incorporación a las células, se logró la adquisición de nuevas funciones y, asimismo, se produjo una pérdida de la mayor parte del material genético de las α -proteobacterias que en parte pasaría al núcleo de la célula huésped (4). De este modo, quedó en las mitocondrias un genoma circular (el mtDNA) de unas 16 kilobases (kb) que contiene 37 genes, de los cuales 13 codifican mRNAs correspondientes a subunidades de los complejos mitocondriales de los que posteriormente hablaremos, 22 codifican tRNAs y 2 genes codifican 2 rRNAs (5).

2.2. La respiración celular

El papel fundamental de las mitocondrias es generar energía en forma de adenosín trifosfato (ATP) a través de la respiración celular (1), que es un proceso aeróbico. Gracias a la producción de esta energía, la célula será capaz de llevar a cabo el resto de sus funciones biológicas (2).

La respiración celular se divide en 3 fases principales. La primera de ellas es la glucólisis, que tiene lugar en el citoplasma y consiste en la transformación de una molécula de glucosa en dos moléculas de piruvato (6). Existe un paso intermedio, en el que el piruvato formado se oxida y pasa a acetilcoenzima A (Acetil-CoA). La segunda fase es el ciclo de Krebs o ciclo del ácido tricarboxílico (TCA), en el que se introduce dicha molécula, obteniendo como productos finales: NADH, FADH₂, ATP y CO₂. Finalmente, se da el tercer y último paso de este proceso, la fosforilación oxidativa (OXPHOS), en ella las coenzimas resultantes de la anterior fase (junto con las obtenidas en la β -oxidación y otros procesos catabólicos), donarán electrones a la cadena mitocondrial de transporte de electrones (mtETC), que a su vez generarán un gradiente de protones que será usado para la síntesis de ATP por el complejo V o ATP sintasa.

2.2.1. El sistema OXPHOS

El sistema OXPHOS está formado por 5 complejos enzimáticos, constituyendo los 4 primeros la mtETC: la nicotinamida adenina dinucleótido ubiqüinona reductasa (NADH deshidrogenasa) conocido como Complejo I (CI); succinato ubiqüinona oxidoreductasa o también llamado Complejo II (CII); ubiqüinona citocromo c oxidoreductasa o Complejo III (CIII), citocromo c oxidasa o Complejo IV (CIV) y, por último, la H⁺-ATP sintasa, también conocida como Complejo

V (CV). Estos complejos se encuentran en la membrana mitocondrial interna, concretamente en las crestas mitocondriales (7). Además, el sistema contiene 2 portadores móviles de electrones: la ubiquinona (CoQ) y el citocromo c (Cyt c).

En 1961, Mitchell propuso el modelo quimiosmótico explicando cómo se generaba la energía química necesaria para la síntesis de ATP. Este modelo propone que existe una fuerza que impulsa la síntesis de ATP pero que es difusa, al no existir una interacción física directa entre la cadena de transporte electrónico y el complejo V (8). El gradiente de protones generado por la actividad de los 4 complejos de la mtETC supone esa conexión ya que su disipación a través del CV es lo que impulsa la síntesis de ATP.

La comprensión de la organización estructural de la cadena de transporte electrónico ha sufrido cambios a lo largo de los aproximadamente 70 años desde su primera descripción (9). Los modelos “clásicos” propuestos fueron el *modelo sólido* y el *modelo fluido*. El modelo sólido, fue el que surgió primero y afirmaba que los “componentes respiratorios estaban más o menos rígidamente unidos en un marco que asegura su accesibilidad mutua y una consecuente alta actividad catalítica” (Keilin y Hartree, 1947) (10). Estos complejos sólidos contenían ubiquinona (CoQ) y citocromo c para transferir los electrones entre las vías fijadas y no los intercambian con el exterior (ver anexo, *figura 1A*).

Al inicio, este modelo se tomó como cierto y en 1963, Chance et al. incluyeron un nuevo concepto, el oxisoma, y se definió como “una unidad funcional para la transferencia de electrones y la fosforilación oxidativa” (11). Por otro lado, el modelo fluido o “random collision model”, supone que los componentes que transfieren electrones se encuentran separados y distribuidos al azar, independientemente y que tienen la capacidad de difundir de manera libre en la membrana interna (Hackenbrock et al., 1986) (11). Este modelo se propuso en los años 70 (Kroger y Klingenberg, 1973) y gozó de aceptación general hasta principios del actual siglo (ver anexo, *figura 1B*). Con los avances en la investigación en los últimos 20 años se comprobó que el modelo fluido, no explicaba algunas observaciones. Tras experimentaciones usando electroforesis en gel de poliacrilamida nativa azul (BN-PAGE), se pudieron observar ensamblajes multienzimáticos, los ahora conocidos como supercomplejos (Schägger y Pfeiffer, 2000) (12). Posteriormente, en 2008, Rebeca Acín-Pérez et. al, propusieron un nuevo modelo, llamado *de plasticidad* (ver anexo, *figura 1C*), que incorpora las observaciones más recientes y que admite la existencia tanto de complejos individuales como de distintos tipos de supercomplejos (SCs) (13).

Actualmente, el modelo de plasticidad está recibiendo cada vez más reconocimiento y es aceptado de forma amplia. No obstante, persisten ciertos puntos que deben esclarecerse, como es el caso de los roles precisos que desarrollan los supercomplejos, tema que exploraremos en esta memoria.

3. METODOLOGÍA

Para lograr los objetivos establecidos, se ha efectuado una exhaustiva búsqueda de publicaciones científicas relacionadas con el tema. Estas publicaciones han sido recopiladas a partir de las bases de datos de Pubmed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>) y Google Scholar (<https://scholar.google.es/schhp?hl=es>). Debido a que la mayoría de los artículos disponibles están en inglés, todas las búsquedas se han realizado en este idioma y el periodo de tiempo empleado se ha extendido desde octubre de 2023 hasta junio de 2024. Las palabras clave introducidas para recopilación de datos han sido: “Mitochondrial supercomplexes”, “OXPHOS system”, “Mitochondria functions”, “Complex I/II/III/IV/V structure AND functions”, “Mitochondrial supercomplex assembly factors”, “Cardiolipin AND mitochondrial supercomplexes”. Se han identificado y seleccionado artículos según sus características de relevancia y calidad. Al tratarse de una memoria que recopila la historia de los SCs desde sus inicios hasta la actualidad, no se ha filtrado por fecha de publicación.

4. COMPLEJOS RESPIRATORIOS

4.1. Complejo I, NADH deshidrogenasa o NADH ubiquinona oxidoreductasa

Es el componente de la cadena respiratoria de mayor tamaño, alcanzando hasta 1 MDa en mamíferos (14). Su función principal es oxidar el NADH en la matriz mitocondrial cediendo los electrones al coenzima Q (CoQ), con el objetivo de regenerar NAD⁺ para sustentar el ciclo de Krebs y la oxidación de los ácidos grasos y, a la vez, impulsa la traslocación de protones a través de la membrana interna para generar el gradiente que permitirá la síntesis de ATP (15).

Está compuesto por un total de 45 subunidades, codificadas por 44 genes ya que una, la proteína transportadora de acilo (NDUFAB1), se encuentra por duplicado. De ellas, 7 están codificadas en el DNA mitocondrial (mtDNA) (*ND1, ND2, ND3, ND4, ND5, ND6* y *ND4L*), mientras que las otras 37 están codificadas por el DNA nuclear (nDNA, genes *NDUF*) (16).

Se compone de 14 subunidades core, divididas en dos grupos: las 7 subunidades codificadas por el mtDNA (*ND1-6* y *ND4L*), que son altamente hidrofóbicas y están involucradas en la translocación de protones, y las 7 subunidades codificadas por el nDNA (*NDUFV1, NDUFV2, NDUFS1, NDUFS2, NDUFS3, NDUFS7* y *NDUFS8*), que se localizan en el brazo hidrofílico y contienen centros redox *FMN* y 8 clusters *FeS* para la transferencia de electrones (14, 17). Además, hay 31 subunidades supernumerarias codificadas por el nDNA que ayudan a ensamblar y dar estabilidad al complejo, y unos 20 factores de ensamblaje que participan en la biogénesis del complejo (16).

Fueron Berrisford y Sazanov los que resolvieron la estructura del dominio hidrofílico de la bacteria *Thermus thermophilus*. A continuación, Brandt et al. resolvieron la estructura completa de este complejo en hongos (*Y. lipolytica*). Finalmente, en 2016, Hirst y Sazanov lograron describir la estructura completa del complejo I en mamíferos mediante la combinación de cristalografía de rayos X, cryo-EM y técnicas de preparación de muestras avanzadas. (15).

Gracias a todos estos ensayos se ha determinado que el complejo I presenta una forma de “L” (o “bota”) (16), con dos dominios: un brazo hidrofílico que sobresale en la matriz mitocondrial y otro brazo hidrofóbico incrustado en la membrana mitocondrial interna (5). El brazo “periférico”, orientado hacia la matriz, se encarga de la transferencia de electrones desde NADH hasta CoQ, mientras que el “de membrana” es responsable de la translocación de protones. En esta estructura se diferencian 3 módulos funcionales: el *módulo N* o flavoproteico con actividad deshidrogenasa y, por ende, responsable de la oxidación de NADH a NAD⁺, localizado en el brazo periférico y compuesto por las subunidades *NDUFV1, NDUFV2, NDUFS1-2-3-7-8* , el *módulo Q*, ubicado en el mismo brazo y que contiene el sitio de reducción del CoQ, y por último el *módulo P*, situado en el brazo de membrana y cuya función es la de translocar protones, es por ello que posee las subunidades codificadas en el DNA mitocondrial (16) (ver anexo, figura 2).

Respecto al ensamblaje de este complejo, a principios de siglo, varios estudios de Antonicka et al. y Ugalde et al. propusieron un modelo semisecuencial en el que el brazo periférico y el de membrana se ensamblaban de manera independiente, y finalmente se unían formando este complejo. Actualmente, se admite una ruta semisecuencial de 7 etapas (ver anexo, figura 3). El proceso comienza con la unión de las unidades core *NDUFS1* y *2* , seguida de la adición de *NDUFS7* *8* y *9*, formando un complejo periférico que junto con *ND1*, se anclan a la membrana (4) y luego se unen el resto de componentes que se ensamblan finalmente en el complejo completo, todo ello mediado por los factores de ensamblaje como *Ndufaf1-3*. (19)

4.2. Complejo II, succinato coenzima Q reductasa o succinato deshidrogenasa

Se trata del complejo más pequeño de la cadena respiratoria (123 kDa) (16). Su localización, le brinda un rol fundamental en el metabolismos celular, ya que interviene tanto en el ciclo de Krebs como en el sistema OXPHOS (14), oxidando el succinato a fumarato y transfiriendo los electrones

a CoQ (5), logrando la reducción de ubiquinona (CoQ) a ubiquinol (sustrato del complejo III) (14). Es el único complejo de la cadena que no participa directamente en la translocación de protones.

Está compuesto por 4 subunidades, todas ellas codificadas por el genoma nuclear (5). Las dos unidades hidrofílicas; *SDHA*, *SDHB*, sobresalen hacia la matriz y contienen los grupos redox dinucleótido de flavina adenina (*FAD*) y 3 clusters de *FeS*, respectivamente (5) (ver anexo, figura 4). Estos se unen a las otras dos subunidades hidrófobas; *SDHC*, *SDHD*, que contienen grupo hemo (16), importante para el ensamblaje y estabilidad en la membrana del complejo (14) y que están unidas a la membrana interna mitocondrial. El ensamblaje de las 4, en la especie porcina, se lleva a cabo gracias a la acción de 4 factores de ensamblaje (SDHAF 1-4) (14).

4.3. Complejo III o citocromo bc₁

Es considerado un elemento central de la cadena respiratoria y se encuentra integrado en la membrana interna mitocondrial. En él se produce la transferencia de electrones, procedentes de CoQ hasta el citocromo c (5), asimismo lleva a cabo el bombeo de 4 protones desde la matriz hasta el espacio intermembrana (ciclo Q) (20). Está formado por 11 subunidades: 8 supernumerarias y 2 core o catalíticas (*CYCI* y *UQCRCFS1* o *ISP*), todas ellas codificadas en el genoma nuclear, y una, *citocromo b* (MT-CYB), codificada en el mtDNA (14). El complejo III ha sido cristalizado en distintos organismos como levaduras (Hunte et al., 2000), pollo (Zhang et al., 1998) y bovino, en este último se comenzó aislando una parte del complejo en 1997 por Deisenhofer usando cristalográfia con rayos X, y de este modo se revelaron 5 subunidades de manera completa, y parcialmente otras 2 subunidades. Se confirmó la estructura de dímero simétrico (ver anexo, figura 5), con forma de "maza" que se había predicho en estudios anteriores. Posteriormente, con los estudios de Iwata et al., 1998, se describió el complejo como un dímero de 11 subunidades monoméricas (15).

Las 3 subunidades catalíticas por monómero (ver anexo, figura 5), están muy conservadas tanto en bacterias como en eucariotas: el *citocromo b* (MT-CYB), el *citocromo c1* (CYC1) y la *proteína FeS de Rieske* (ISP o Rip1). La primera de ellas, la única codificada por el DNA mitocondrial, contiene 2 grupos hemo (*b_L* y *b_H*) que forman parte de la cadena de bajo potencial redox. La segunda de ellas contiene el grupo hemo *c1*, que, junto con la última, dan lugar a la cadena de alto potencial redox (14). Cabe destacar que, las especies de mamíferos contienen 8 subunidades supernumerarias (UQCRC1-2, UQCRH, UQCRB, UQCRQ, subunidad 9, UQCR10-11) (20). Estas subunidades que carecen de actividad redox, son necesarias para la estabilidad estructural y la coordinación de la actividad enzimática.

El ensamblaje de este complejo se ha estudiado en levaduras y parece ser un proceso similar en humanos. Comienza con la síntesis, inserción en membrana y hemiacetilación del *citocromo b*, mediados por Cbp3, Cbp4 y Cbp6 (UQCRC1-3 en humanos) y a continuación se produce la unión del resto de subunidades y su posterior dimerización (pre-CIII₂). A este complejo temprano se le unirá la última subunidad catalítica (UQCRCFS1) y la subunidad más pequeña (UQCR11) (5).

4.4. Complejo IV o citocromo c oxidasa (COX)

El complejo IV es el último de la cadena respiratoria mitocondrial, es representado como un cilindro con sombrero y su función es transferir los electrones desde el citocromo c reducido hasta el oxígeno molecular, reduciéndolo para dar lugar a una molécula de agua (16). Además, bombea un protón al espacio intermembrana por cada molécula de citocromo c, lo que acaba generando un total de 4 protones por ciclo (14). Este complejo se compone 3 subunidades core, codificadas por el genoma mitocondrial (MT-CO1-3) y en el caso de los mamíferos, 11 subunidades supernumerarias, codificadas todas ellas en el nDNA (14). (ver anexo, figura 6)

A partir de los años 90 se estudió la estructura bovina de este complejo por cristalografía (Tsukihara et al. 1995, Yoshikawa et al. 1998). Se llegó a la conclusión de que en eucariotas adoptaba una estructura dimérica constituida por 14 subunidades mientras que en levaduras eran solo 11 subunidades (16).

De las tres subunidades codificadas por el mtDNA, son catalíticas: *MT-CO1*-2. Pese a no tener una función catalítica, *MT-CO3*, es necesaria para mantener la actividad (5). *MT-CO1* tiene dos grupos hemo *a* y *a₃* y el centro de cobre (*Cu_B*), donde se produce la reducción de oxígeno a agua. Sin embargo, *MT-CO2* contiene el centro de cobre *Cu_A*, que actúa como aceptor de electrones del citocromo c (14). El resto de subunidades están codificadas por el nDNA. Tienen relevancia en el ensamblaje, la estabilidad, la dimerización y modulación de la actividad catalítica, y por último ejercen de protección ante el daño oxidativo (16).

Gracias al estudio del ensamblaje, se ha visto que este complejo se forma a medida que se unen diferentes módulos compuestos por distintas subunidades, todo ello mediado por una enorme cantidad de factores de ensamblaje (aproximadamente 50), destacamos PET100, PET117y MR-1S que actúan en las fases intermedias y HIGD2A que funciona incorporando el módulo MT-CO3 en las últimas fases del ensamblaje (14).

4.5. Complejo V

El complejo V utiliza el gradiente de protones generado por los complejos I, III y IV para formar ATP fosforilando ADP: es una ATP sintasa. Sin embargo, puede actuar bidireccionalmente, hidrolizando ATP y, por ende, generando fuerza protón motriz, siendo una ATPasa. En él podemos diferenciar 17 subunidades, de las cuales 8 son core (*α*, *β*, *γ*, *ε*, *a*, *b*, *c* y *OSCP*) y todas menos la *a*, se codifican en el genoma nuclear. El resto de subunidades son supernumerarias (*δ*, *F6*, *d*, *ATP8*, *DAPIT*, *6.8PL*, *f*, *e* y *g*) y todas son codificadas en el DNA nuclear, excepto *ATP8* (14) (*ver anexo, figura 7*).

Está formado por dos componentes principales: por un lado, el dominio F0 con el anillo *c*, insertado en la membrana y con movimiento de rotación, cuya función es la translocación de protones (14). Por otro lado, el dominio F1, soluble y compuesto por tres subunidades *α* y tres subunidades *β*, dando lugar a un ensamblaje globular. Este último dominio, resulta ser la parte catalítica, responsable de la fosforilación del ADP (5). Ambos dominios están unidos por un tallo central, formado por las subunidades *γ*, *δ* y *ε*, y por el tallo periférico, constituido por dos *subdominios*; *uno soluble que conecta con F1 y otro incrustado en la membrana y ligado al anillo c*. El primer subdominio está formado por las subunidades *b*, *OSCP*, *F6* y *d*, mientras que el segundo de ellos contiene las subunidades *f*, *e*, *g*, *a*, *ATP8*, *DAPIT* y *6.8PL* (14). El anillo *c* permite el movimiento de rotación y este se transmite gracias al tallo central, tras la translocación de protones, al dominio F1 que sintetiza ATP. El tallo periférico, en cambio, protege de la rotación fútil de las subunidades *α* y *β* de F1 (14).

El ensamblaje en humanos se ha descubierto y consiste en la asociación de las 3 subunidades *α* y 3 subunidades *β*, a las que posteriormente se unirán el resto de subunidades. El anillo *c*, formado por 8 unidades se ensambla en la membrana mitocondrial interna y cuando se produce la unión del ambos precursores, el tallo periférico se añade. Todo ello ocurre gracias a la acción de factores de ensamblaje, tales como ATPAF1 que se liga y estabiliza a la subunidad *β* y ATPAF2 que actúa de igual modo, pero en la subunidad *α* (5).

5. COMPONENTES MÓVILES DE LA CADENA RESPIRATORIA

5.1. Coenzima Q (CoQ o ubiquinona)

Su fórmula molecular es C₉H₁₀O₄ (2,3-dimetoxi-5-metil-6-poliprenil-1,4-benzoquinona). La encontramos en 3 estados redox: completamente oxidado (ubiquinona), como semiquinona reducida con un solo electrón (ubisemiquinona) y totalmente reducido con 2 electrones (ubiquinol) (*ver anexo, figura 8*) (21).

Además, debido a su alta hidrofobicidad, la ubiquinona natural presenta 3 estados fisiológicos; formando micelas, disuelto en la bicapa lipídica y unido a proteínas. Se ha podido comprobar que la mayor parte del CoQ se encuentra disuelto en la bicapa, mientras que del 10% al 32% (en función de la especie) se encuentra unido a proteínas (Lass and Sohal, 1999). Esta unidad tiene un papel importante ya que conecta el complejo I (y otras deshidrogenasas dependientes de FAD) al complejo III; el complejo II también tiene sitio de unión a la coenzima Q. Estos hechos han dado lugar a teorías que afirman la existencia de dos pool de coenzima Q, mientras que otros niegan la compartimentalización de CoQ (22).

La biosíntesis implica varias etapas: síntesis de la cabeza, síntesis del isopreno y polimerización de la cola, unión de cabeza y cola y finalmente, modificaciones del grupo de la cabeza. Di Bernardo et al. demostraron que los niveles menores de energía coinciden cuando la cabeza polar se encuentra en estrecho contacto con la cola hidrofóbica (conformación plegada) (21).

El modelo “random collision” de Hackenbrock et al., afirmaba que todos los componentes de la cadena respiratoria mitocondrial se encontraban dispuestos de manera aleatoria en la membrana y experimentaban una difusión lateral independiente. Los componentes más pequeños (citocromo c y coenzima Q) se mueven de manera más rápida que los complejos, garantizando la transferencia de electrones por colisión. Estos científicos, propusieron que la velocidad de este proceso estaba condicionada por la velocidad de difusión del CoQ (21).

5.2. Citocromo c

Se trata de una proteína soluble en agua, de unos 13 kDa, que está codificado en el genoma nuclear y contiene un grupo hemo que funciona como intermediario para trasladar los electrones desde el complejo III al IV (23).

Respecto a la biosíntesis de esta proteína, en primer lugar, se forma un apocitocromo, producido por modificación translacional y co-translacional en el citosol. Posteriormente, este se transloca al espacio intermembrana, donde se une covalentemente al grupo hemo. A continuación, se compacta, dando lugar al holocitocromo c (21).

Experimentos dirigidos por Kalanxhi y Wallace en 2007, revelaron que existía una interacción hidrofóbica que se extendía hacia el exterior de la bicapa, entre el citocromo c y las cadenas acilo de los fosfolípidos. Esto supuso un cambio, en cuanto a la creencia general de que el citocromo c se unía a los fosfolípidos de la membrana mitocondrial interna mediante una atracción electrostática. Tras aplicar digitonina a las mitocondrias se observó que un 10% de esta proteína permanecía unida a la membrana. De esta manera, se propuso que el citocromo c se puede encontrar repartido en el espacio intermembrana de la mitocondria de dos modos: o bien, como un pool soluble, débilmente unido y sensible a los cambios electrostáticos, o bien, como un pool fuertemente unido a la membrana y, por ende, en contacto con los complejos de la cadena respiratoria mitocondrial. La cardiolipina es un factor que aumenta la concentración de citocromo c próximo a los complejos, de modo que resulta más fácil la unión de citocromo c con el complejo IV (21). Cabe destacar el papel del citocromo c ante estímulos apoptóticos, ya que, frente a ellos, resulta liberado en el citosol activando caspasas y desencadenando la muerte celular. Para el desarrollo de esta función es imprescindible la presencia de Lys 72 (*ver anexo, figura 9*), puesto que favorece la estabilidad de la unión del citocromo con el factor de apoptosis (APAF1) (23).

6. SUPERCOMPLEJOS

La cuestión de la estructura del sistema OXPHOS ha sido un tema de controversia desde sus primeras descripciones hasta nuestros días. Aunque algunos científicos, a finales de los 40 (Keilin y Hartree, 1947), propusieron la existencia de un ensamblaje estable (*modelo sólido*) y este modelo gozó de cierta aceptación hasta finales de los años 60, el dominante desde los años 70 hasta principios de los 2000 ha sido el *modelo fluido* o “*random collision model*”. Este modelo propone la difusión libre de los complejos de la cadena respiratoria y la transferencia de electrones debida a las colisiones aleatorias entre los transportadores y complejos (Kroger y Klingenberg, 1973; Hackenbrock et al, 1986) (24). En 1982 Ferguson-Miller y colaboradores propusieron el modelo de los *agregados dinámicos* para explicar la transferencia de electrones, se planteaba la existencia de un equilibrio entre la difusión libre de los citocromos y sus formas asociadas a la cadena respiratoria. Los agregados reversibles permitirían regular la dirección y eficiencia de la transferencia de electrones. Sin embargo, este modelo y el modelo sólido fueron descartados en favor del modelo fluido (25).

El modelo “*de plasticidad*”, introducido por Enríquez et al. en el año 2008, a partir de los trabajos de Schägger et al. en los 2000 y de resultados propios y sugiere que los complejos de la cadena respiratoria mitocondrial se asocian y desasocian dinámicamente. Estudios con técnicas como Blue Native-PAGE, ensayos de actividad en gel y Western Blot (WB) demostraron la formación de SCs entre complejos I, III y IV. La capacidad funcional del respirasoma para transferir electrones desde NADH a O₂ confirmó la presencia de estos SCs, estableciendo el modelo de plasticidad como una estructura conservada en diferentes niveles evolutivos (25).

El uso de microscopía electrónica (EM) a bajas resoluciones en trabajos de Schafer, Althoff y Dudkina, entre otros, ha permitido conocer la estructura 3D del respirasoma (26). La irrupción de nuevas tecnologías como la cryo-EM ha fomentado los estudios. Estas investigaciones junto con varias estructuras resueltas por Sazanov y Kuhlbrandt reabrió discusiones sobre cómo se transfieren los electrones en la cadena de transporte electrónico. (14)

La BN-PAGE es una técnica útil para la separación de complejos multiproteicos en su conformación nativa, que logra una resolución mayor que la alcanzada con otras técnicas como la ultracentrifugación en gradientes de densidad de sacarosa. Su utilización resulta útil para determinar el tamaño, la composición y la abundancia relativa de los diferentes complejos proteicos (27). Por otro lado, la digitonina es un detergente no iónico y suave (no rompe las interacciones entre subunidades de los complejos y de los supercomplejos) cuya función principal es disolver lípidos y, es utilizado para preparar muestras de proteínas para su uso con gel Blue Native PAGE. Tras el uso de este detergente, se añade Azul de Coomasie que confiere carga negativa a los complejos y de este modo pueden migrar por el gel de gradiente de poliacrilamida. Con este procedimiento, se mantienen las interacciones fisiológicas que posteriormente podrán ser analizadas con diferentes técnicas tales como ensayos de actividad en gel (IGA), respirometría o espectrofotometría (28).

Gracias a este avance, se pudieron discernir diferentes tipos de asociaciones, pero hubo una que se designó de manera concreta como respirasoma (I₁III₂IV₁), aunque algunos autores usan ese concepto asociado a diferentes estructuras. Fue considerada la unidad mínima para realizar la respiración completa de NADH a O₂. El primer intento de comprobación de que realmente eran funcionales, se llevó a cabo al aislar cromatográficamente un respirasoma de una bacteria Gram negativa; *P. denitrificans*. Este SC tenía una relación estequiométrica 1:4:4 y era rico en CoQ, pero carecía de citocromo c552, es por ello que la actividad real del complejo se vio fuertemente reducida frente a la esperada (29).

El grupo de Enríquez estudió la composición y la actividad de un respirasoma aislado de mitocondrias de ratón y se detectó la presencia tanto de CoQ9 (la forma predominante en esa

especie) como de citocromo c en el mismo, pudiendo demostrar que dicho SC poseía una actividad NADH oxidasa. Por el contrario, revelaron que una mezcla de bandas pertenecientes a complejos individuales I, III y IV eran inactivas. Finalmente, se llegó a la conclusión de que estos SCs eran verdaderas entidades fisiológicas y que tenían un papel relevante en la respiración (13). El uso de detergentes ha sido un tema de debate, puesto que había investigadores que afirmaban que los SCs eran los resultados artefactuales de la solubilización de las membranas mitocondriales. A día de hoy, siguen existiendo dudas acerca del empleo de detergentes, sin embargo, la mayor parte de la comunidad científica reconoce la existencia de los SCs. El uso de la técnica BN-PAGE ha ayudado a discernir en las mitocondrias pertenecientes a tejidos de mamíferos, una estequiometría variable en la composición de los diferentes SCs. En las estimaciones realizadas se observa que el CI es el que se encuentra en mayor proporción en estas superestructuras (entre un 80 y cerca del 100%), seguido del CIII (40-50%), en cambio, el CIV aparece solo en un 20-30% en SCs y se detecta mayoritariamente como complejo libre (27). Gracias a la aparición de numerosos estudios en diferentes especies como los mamíferos (Schägger and Pfeiffer, 2000, 2001) y al uso de métodos libres de detergentes, se ha podido corroborar los postulados existentes a cerca de la presencia de SCs respiratorios. En los estudios llevados a cabo por Kobayashi A. et al. en 2023 con la técnica de transferencia de energía por resonancia de Förster (FRET), se asumió que la interacción entre los complejos I y IV reflejaba con bastante exactitud las interacciones entre los complejos I, III₂ y IV (respirasoma). Asimismo, han sido de ayuda para las investigaciones a favor de la existencia de los SCs, las técnicas como la ultracentrifugación en gradiente de sacarosa (Acín-Pérez et al., 2008; Dudkina et al., 2005) (27), o la visualización por criomicroscopía electrónica (cryo-EM) (28).

6.1. Experimentos para determinar las estructuras de Los SCs en mamíferos

Se han llevado a cabo numerosos estudios con el fin de determinar la arquitectura que adopta el respirasoma, usando en la mayoría de ellos la técnica de cryo-EM. En los experimentos realizados por Letts et al., 2016 se comparaban las estructuras de los respirasomas tanto ovino como porcino y junto con Gu et al., 2016, que usaron la técnica anteriormente descrita, se logró distinguir una composición que parecía mantenerse conservada en las distintas especies, tanto de CI como de CIII, mientras que se mostró una composición variable para CIV. El complejo IV se enrolla alrededor de la punta del complejo I, mientras se disocia gradualmente del complejo III, y finalmente del respirasoma completo. De manera alternativa, se han propuesto que los respirasomas en la membrana varían la estructura y están constantemente disociándose y reorganizándose (27).

Se conoce que, la concentración y tipo de detergente utilizado para solubilizar la membrana en el BN-PAGE, son factores influyentes en la integridad de las asociaciones de SC, se considera que debe ser suficientemente fuerte como para lograr la solubilización, pero a su vez, deben ser débiles para preservar las interacciones. Asimismo, el empleo de cryo-EM, implica el uso de una rejilla que exhibe las muestras a una interfase aire-agua, pudiendo colaborar a la desestabilización tanto de los complejos individuales como de los SC (27).

Anteriormente se mencionaron las dudas que aparecieron acerca de los SCs. Una de las principales críticas era que los SCs se podían observar únicamente tras usar un detergente concreto (la digitonina), por lo que podrían ser artefactos. Acín-Pérez et al. en 2008 evaluaron membranas mitocondriales con distintos detergentes y a diferentes concentraciones, y concluyeron que las asociaciones entre complejos mitocondriales se observaban también con otros detergentes como TritonX-100 o Nonidet P-40 y, por tanto, no podían ser consideradas como un artefacto (13).

El hecho de que la organización estructural de los SCs ([ver apartado 6.2](#)) esté muy ordenada y además altamente conservada entre diferentes especies también apunta a que no son el resultado

de interacciones artificiales entre proteínas si no, más bien de un proceso fisiológico (Lenaz y Genova, 2012). La demostración de que, además, los SCs mantienen la funcionalidad y algunos son capaces de transferir electrones desde el NADH al oxígeno, consolidó su existencia como entidades fisiológicas, algo que hoy es aceptado por la comunidad científica (13).

Muy recientemente, se ha publicado un trabajo del grupo encabezado por Zheng, en el que han descrito nuevas organizaciones de SCs, utilizando una tecnología novedosa que consiste en usar cryo-EM *in situ* sin detergentes, lo cual resulta beneficioso frente a los métodos tradicionales de purificación *in vitro*, en los que se perdían las conformaciones nativas y se podrían producir artefactos. Esta técnica permite conservar las estructuras originales, permitiendo visualizar directamente las interacciones y la presencia de lípidos imprescindibles para, por ejemplo, los sitios de unión de Q (30). Los avances tecnológicos en este campo, han hecho posible confirmar la existencia y funcionalidad de estos macrocomplejos, en diferentes organismos y tejidos (29). La presencia, así como su abundancia, parece depender de las necesidades metabólicas de la célula, además del contenido de lípidos de la membrana mitocondrial interna (31).

6.2. Tipos de supercomplejos (SCs)

Desde los primeros estudios del grupo de Schägger en adelante, se han descrito varios tipos de SCs resultantes de la asociación entre los complejos I y III, entre el III y IV y entre el I, III y IV que coexisten con proporciones variables de esos mismos complejos en forma libre (*ver anexo, figura 10*). Aunque algunos autores han propuesto la presencia de CII y CV, la participación de ambos en la formación de SCs no parece confirmada y no se considerará en detalle en esta memoria. A continuación, se describen las diferentes asociaciones y se resumen algunos detalles estructurales de las mismas.

6.2.1. Supercomplejos formados por el complejo I, III y el IV: Respirasoma

Estos supercomplejos están formados por los complejos I, III₂ y IV y en geles de BN-PAGE, se corresponden a algunas de las bandas con pesos moleculares más altos, que oscilan entre 1.5 y 2.1 MDa dependiendo del número de copias del CIV (desde 1 hasta 4), siendo la forma más abundante el SC I₁III₂IV₁.

Este SC en mamíferos alcanza unos 300 Armstrong de longitud y unos 190 Armstrong de anchura. El complejo I tiene un brazo hidrofóbico o transmembrana que se curva hacia adentro con su superficie cóncava en contacto con la subunidad CIII₂, y además tiene uno hidrofílico o de matriz (27). En cuanto a la ubicación del CIV, se encuentra en la punta distal de CI e interactúa lateralmente con CIII₂ (*Figura 1*) (31). En estas asociaciones llamadas respirasomas, se alojan todos los elementos necesarios para realizar la transferencia de electrones desde el NADH hasta el aceptor final (oxígeno), ya que además de los complejos I, III y IV, incluyen dentro de sus estructuras a la CoQ y el Cyt c. De este modo, son capaces de realizar de forma completamente completa la respiración (32).

Estudios realizados en 2006 por Schäfer et al., determinaron que en los supercomplejos I+III₂ y I+III₂+IV_{1.4} había actividad NADH-deshidrogenasa del complejo I, en cambio, la actividad citocromo c oxidasa destacó solo en el segundo supercomplejo mencionado.

En un primer momento, se propuso que el primer complejo se ensamblaba completamente antes de unirse a los supercomplejos, esto se confirmó con unos estudios que mostraron la existencia de un espacio temporal entre la formación de los complejos individuales y su posterior localización formando las asociaciones proteicas (R. Acín-Pérez, 2008). Sin embargo, otro grupo que trabajó con ratones knock-out para NDUFS4, demostró que el complejo I, al que le faltaba el módulo N, se asociaba con CIII₂, de modo que se confirmó que no era necesaria la formación previa del complejo individual para su posterior ensamblaje (31) (*ver anexo, figura 11*).

Con respecto a las relaciones estructurales dentro del SC, las interacciones entre el CI y el CIII tienen lugar en dos regiones; en primer lugar, las subunidades *NDUFA11* y *NDUFB4* del complejo I interactúan con *UQCRCQ* del CIII, en segundo lugar, las subunidades *NDUFB9* y *NDUFB4* del complejo I interactúan con las subunidades *UQCRC1* y *UQCRCFS1* del complejo III (ver anexo, figura 12) (26). En cuanto a las interacciones entre CIII y CIV, se cree que es determinante el papel de la subunidad *Cox7A2L*, también conocida como SCAF1 (27).

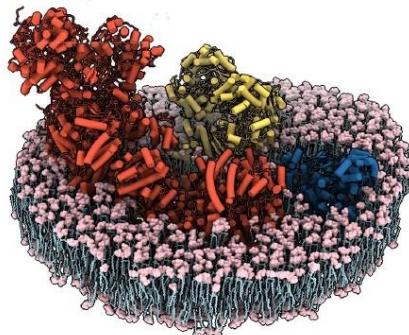


Figura 1: Modelo molecular del respirasoma en alta resolución con la membrana alrededor. El complejo I está coloreado en naranja, el complejo III en amarillo y el complejo IV en azul. (Zheng et al., 2024).

Letts et al. en 2016 llevaron a cabo la purificación de supercomplejos, y en ellos se desvelaron dos tipos de conformaciones en el respirasoma; la mayoría adquirían una forma *tight*, mientras que el resto adoptaban la forma *loose*. En ambas, la densidad del complejo IV es menor respecto a la de los complejos I y III, lo que sugiere una mayor flexibilidad conformacional de CIV. En la estructura *tight* el complejo IV está en contacto con CI y CIII, mientras que en la arquitectura *loose* solo interacciona con el complejo I. Asimismo, se comprobó que las dos conformaciones se pueden interconvertir, de modo que, tras una pérdida de cardiolipina, se pasa de *tight* a *loose* (26). No solo se estudió este supercomplejo en la especie ovina, Sousa et al. realizaron investigaciones del respirasoma bovino y desvelaron dos conformaciones. La primera de ellas concordaba con la conformación ovina *tight*, mientras que la segunda de ellas mostraba unas variaciones respecto a la orientación del CIII₂ (31). Gracias a estos trabajos, se pudo observar que los respirasomas en la membrana varían la posición de CIV, además de, que se reorganizan y disocian en función de los niveles de ROS de cada tejido o en función de los fosfolípidos que les rodean (10).

En la actualidad, se sigue investigando acerca de las diferentes asociaciones que pueden darse en la membrana mitocondrial interna. Así, el trabajo citado anteriormente encabezado por Zheng, empleando *cryo-EM in situ*, ha logrado determinar la presencia de 4 tipos de supercomplejos I₁III₂IV₁ (tipo A), I₁III₂IV₂ (tipo B), I₂III₂IV₂ (tipo O) y I₂III₄IV₂ (tipo X), siendo el más abundante el primero de ellos. Además, con la ayuda de estos avances, se ha podido localizar numerosos lípidos que favorecen la estabilidad de los SCs al mejorar las interacciones y al crear ambientes hidrofóbicos en los alrededores de los sitios de unión de Q (ver anexo, figura 13) (30).

6.2.2. Supercomplejos formados por el complejo I y el III: I+III₂

Este SC está compuesto por la unión entre el CI y dos copias del CIII (ver anexo, figura 14). Es muy abundante en las mitocondrias de plantas y se encuentra en diferentes proporciones, en las de mamíferos, estando en menores cantidades que los respirasomas.

Las mitocondrias de *Arabidopsis thaliana* fueron las primeras en desvelar una asociación lateral entre el CIII₂ y la parte distal de la membrana del CI (Figura 2). Más tarde, se analizaron las mitocondrias de mamíferos, alcanzando unas conclusiones sobre las interacciones, parecidas a las

descritas en el respirasoma (33). No obstante, en los SCs de plantas existe una interacción específica, que les permite alcanzar una mayor estabilidad (25). Por otro lado, en mamíferos se han observado dichas asociaciones, especialmente en tejidos con una alta demanda energética, tales como el corazón o el músculo esquelético (34).

Trabajos realizados por Lapuente-Brun et al. en 2013, demuestran la afinidad existente entre ambos complejos, puesto que a bajos niveles de CIII, este tiende a unirse completamente con el CI disponible (35). En este SC, el CI podría recibir los electrones del NADH y los transferiría hasta el complejo III, por lo que podría mejorar la eficacia del transporte electrónico, estabilizar la producción de energía y ayudar a secuestrar las especies reactivas de ubiquisemiquinona, que pueden reaccionar con oxígeno (Kotlyar et al. 1990). Los estudios realizados por Lenaz et al. en 2010, desvelaron que existe una clara relación entre el ensamblaje de estos supercomplejos y la proporción de fosfolípidos de la membrana (36).

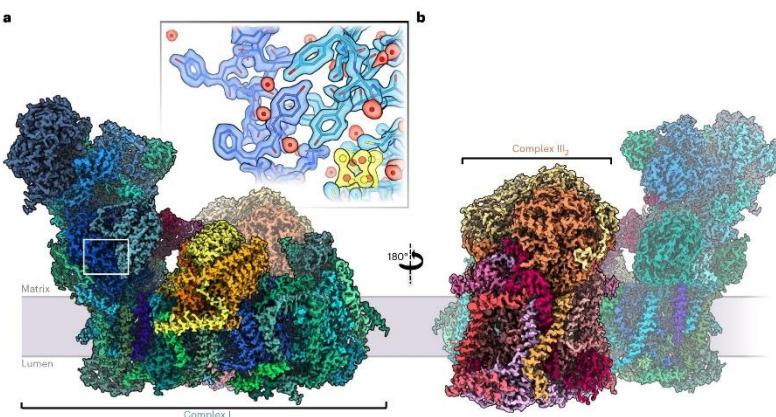


Figura 2: Estructura del supercomplejo I + III₂ de *Arabidopsis thaliana*. Vistas desde el plano de la membrana mitocondrial interna (gris), con el complejo I delante (a), con el complejo III₂ delante (b). Las 14 subunidades core del complejo I, están dibujadas en azul y las accesorias en verde. Las subunidades que sobresalen de la membrana aparecen en colores más fuertes. (Klusch et al.. 2022).

6.2.3. Supercomplejos formados por el complejo III y el IV: III₂+IV₁₋₂

Estos supercomplejos están formado por una unidad del dímero de complejo III y una o dos subunidades del complejo IV (Figura 3). En general son menos abundantes que los anteriormente citados que contienen al CI. Schägger y Pfeiffer a principios de este siglo, sugirieron que la abundancia del SC III₂+IV₁₋₂ estaba, controlada mayoritariamente, por la disponibilidad del CIV. Modelos pseudoatómicos de levaduras, demostraron que la forma dimérica del CIII está ligado a la zona convexa de dos monómeros del CIV. De este modo, quedan libres los lados opuestos para una posible dimerización del CIV. En este sitio, se observaron lípidos como fosfatidiletanoamina y cardiolipina. Además, se vio la presencia del citocromo c junto con el complejo III₂, actuando como transportador de electrones entre CIII₂ y CIV (25). Este SC podría recibir electrones desde el CoQ reducido tanto por el CI como por el CII y, a su vez, cederlos al O₂.

Estudios recientes de Vercellino y Sazanov en 2021 revelaron que los SCs III₂+IV₁₋₂ en mamíferos difieren de los de levaduras. Se observaron dos conformaciones: abierta, en la que el complejo IV se une lateralmente al complejo III₂, y cerrada, en la que ambos complejos mantienen un contacto fuerte. Se encontró que zonas específicas del complejo III₂ interactúan con el complejo I y IV, formando diferentes estructuras. Además, muchos de estos residuos se conservan en mamíferos, lo que sugiere una interacción entre complejos conservada en la evolución (14).

Existen dos hipótesis acerca del ensamblaje de estos SC: la primera de ellas proponía que intermediarios de los complejos individuales se unían dando lugar a un SC sin los complejos individuales completos, la segunda en cambio, asumía que los complejos individuales se

formaban de manera completa para posteriormente dar lugar a los SCs definitivos (14). Respecto a la generación de CIII₂CIV, fueron Vercellino y Sazanov en 2021 quienes plantearon que el ensamblaje de este SC está mediado por el factor de ensamblaje SCAF1, que se une a una forma prematura del CIII₂, y posteriormente se une el complejo IV (14, 25).

La formación de los supercomplejos a partir del ensamblaje de intermedios de los complejos individuales, sugiere a los SC como estructuras imprescindibles en la regulación de la respiración celular ya que establecen la proporción de complejos individuales antes de que sean catalíticamente activos (14).

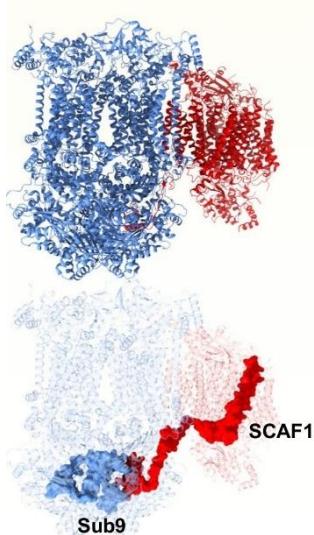


Figura 3: Estructura del supercomplejo CIII₂ + CIV. En la parte inferior, la misma estructura, pero transparente para mostrar las interacciones entre la subunidad Sub9 del CIII (azul) y la subunidad SCAF1 del CIV (rojo). (Kohler et al., 2023).

6.3. Factores de ensamblaje

La formación de SCs requiere la actuación de factores de ensamblaje específicos que median las interacciones entre los complejos individuales estabilizando su unión y también parece ser muy importante el ambiente lipídico de la membrana. A continuación, se estudian los principales factores descritos y se evalúa su implicación en la formación y estabilidad de los SCs.

6.3.1. HIGD1A y HIGD2A

En 2012 se realizó un trabajo encabezado por Chen et al., en el que se demostró la presencia de una proteína en las levaduras, llamada Rcf1, que actuaba como factor de ensamblaje de los supercomplejos (37). Se comprobó que Rcf1 era una proteína integral de la membrana interna mitocondrial tanto por métodos bioinformáticos como por métodos bioquímicos. Asimismo, se demostró que, en esta especie carente de complejo I, existía una relación entre esta proteína y la biogénesis de los complejos III y IV y su posterior ensamblaje, para dar lugar a los supercomplejos. Además, se observó que, en ausencia de este gen se producía un aumento del estrés oxidativo (37). Por último, sugirieron que en los genomas de humanos y ratones había secuencias homólogas del gen Rcf1, que podrían actuar de manera semejante, y que incluía dos genes: HIGD1A e HIGD2A, con diferente grado de expresión (37).

El primero de ellos se describió a principios de este siglo, como una especie inducible por hipoxia de forma dependiente de HIF-1. Experimentos de silenciamiento génico con siRNAs demostraron que la ausencia de HIGD1A no afectaba el ensamblaje, mientras que las células KO para HIGD2A presentaban una reducción en la formación de SCs que contenían el CIV. Estos resultados sugieren que HIGD2A es necesario para el ensamblaje y estabilidad adecuados del CIV y sus asociaciones.

en SCs en células de mamífero (37). Posteriormente, Timón-Gómez et al. realizaron unos estudios con células HEK293T, en los que se vio que estos factores de ensamblaje estaban embebidos en la MMI. Las células KO para ambos genes mostraron una reducción en la actividad mitocondrial y niveles reducidos de radicales libres de oxígeno (ROS). Además, las células KO para HIGD demostraron tener una disminución significativa en las actividades de los complejos III y IV (38). De acuerdo a los resultados observados en las células HIGD2A-KO con niveles tanto de CIV libre como de SC compuestos por CIV, bastante reducidos se comprobó que HIGD2A tiene un rol importante en el ensamblaje de CIV debido a que participa en la incorporación de al menos uno de sus módulos (COX3) (38). En cambio, HIGD1A parece tener una función más directamente relacionada con los niveles de CIII. La ausencia de este factor, produce menos ensamblajes de CIII₂ y su maduración también se ve alterada. Se realizó un SDS-PAGE de este complejo, y se percibió una reducción de UQCRRFS1, una de las principales subunidades del complejo III, pues la convierte al CIII en una enzima catalíticamente activa. De acuerdo a datos de otros experimentos (Vidoni et al., 2017), este factor participa en la biogénesis del complejo IV, aunque no se han visto grandes cambios de este complejo en ausencia de HIGD1A, al menos en condiciones normales de oxígeno (38). Cabe destacar que, al verse reducidas las cantidades de CIII y CIV, los niveles de CI disminuyeron debido a la dependencia entre este último complejo con los otros dos (38).

6.3.2.SCAF1

Lapuente-Brun et al. en 2013 identificaron, gracias a diversos métodos proteómicos, la proteína Cox7a21, como el primer factor de ensamblaje de supercomplejos en mamíferos. A su vez, se encontró una mutación en Cox7a21 de fibroblastos de ratones de la estirpe C57, que correlacionaba con un patrón de supercomplejos alterado ya que no se daba ninguna asociación entre los complejos libres CIII y CIV, que si estaba presente en ratones de otras estirpes que no portaban la mutación. Se concluyó que existía una diferencia en el cromosoma 17 entre ambos tipos celulares, y es en ese cromosoma donde se alberga el gen Cox7a21 (35).

Existe cierta controversia sobre el papel de SCAF1 en la formación de los SCs. A pesar del rol importante que tiene en la unión entre CIII y CIV, trabajos elaborados Pérez-Pérez et al. afirmaron que no resultaba ser un factor necesario para el ensamblaje del respirasoma y que no se detectaba en la estructura del mismo (39).

Vercellino y Sazanov en 2021, plantearon el siguiente mecanismo de ensamblaje: SCAF1 inserta su amino terminal en la cavidad formada por *core 1 y 2* en el lado de la matriz y el carboxi terminal conecta con las subunidades 7 y 8 del CIII₂, dejando libre el resto de la hélice para su posterior asociación con CIV. Tras este suceso, CIII₂ madura, plegando sus subunidades *ISP, Sub 10 y 11*; dando lugar a su conformación cerrada. Luego cambiará a la abierta cuando estas subunidades entran en contacto con el otro complejo. Por este motivo, se dice que SCAF1 sirve de gancho entre CIII₂ y CIV, pues los mantiene unidos antes de que se complete la formación de CIII₂ (14). Recientemente, Vercellino y Sazanov, retomando la idea de que los respirasomas están presentes en ausencia de SCAF1, han realizado unos estudios que desvelan la existencia de diferentes respirasomas mamíferos en función de su interacción con dicho factor (40).

En 2022, Fernández-Vizarraga et al. analizaron células humanas mediante complexome profiling (técnica que combina electroforesis en gel blue native y espectrometría de masas cuantitativa para definir las interacciones proteicas completas) y revelaron dos tipos de respirasomas que se diferenciaban ligeramente en la movilidad electroforética y que contenían o bien SCAF1 o bien COX7A2 (33).

Por otro lado, Enríquez, ha realizado varios trabajos a cerca de la relación existente entre SCAF1 y la estabilidad del respirasoma, en ellos concluye que el factor de ensamblaje es un elemento

necesario para la formación del SC III₂+IV, mientras que, para el ensamblaje del respirasoma no resulta verdaderamente indispensable. No obstante, apoyan el hecho de que la presencia de SCAF1 resulte relevante en la salud, tras sus investigaciones con peces cebra como organismos modelo (41,32,33).

6.3.3.Composición lipídica de la membrana

Los fosfolípidos tienen un papel importante en estos supercomplejos, ya que la formación, estabilización y función está condicionada por la composición de estos (27). Entre los más destacables encontramos la cardiolipina (CL). Zhang et al. en 2002, comprobaron que los complejos de *S.cerevisiae* carentes de CL, pero con elevadas cantidades de su precursor (fosfatidilglicerol; PG) actuaban y se movían como si estuvieran en forma libre. Asimismo, propusieron la existencia de una relación de dependencia entre los niveles de CL y la eficiencia del sistema energético (42). Estos resultados concuerdan con los experimentos cinéticos realizados un tiempo antes por Boumans et al. en los que, usando la antimicina A como inhibidor específico del CIII, mostraron que el citocromo c se comporta como un pool en los mutantes que carecen de CL, lo que concuerda con la ausencia de organización del supercomplejo de la cadena respiratoria (43). En 2005, el mismo grupo encabezado por Zhang, realizó otro estudio cinético sobre el SC III₂+IV en levaduras, con el que reafirmó el papel de la cardiolipina en la formación del supercomplejo (44).

Utilizando de nuevo los complejos III y IV, el grupo liderado por Bazán, en el año 2012, comprobó que la presencia de CL es indispensable para la formación del SC III+IV. Purificaron CIII y CIV de *S. cerevisiae* y al mezclarlos no obtuvieron la formación de ningún SC. En cambio, observaron la reconstrucción de dicho SC al añadir proteoliposomas con una cantidad de cardiolipina más elevada respecto a los otros fosfolípidos (45).

Se han realizado numerosos experimentos que apoyan esta teoría, pero se debe investigar el modo en el que se incorpora la cardiolipina (46). Algunos apoyan la teoría de que los fosfolípidos tienen buena capacidad para llenar cavidades, y aseguran que la CL es realmente adecuada ya que tiene ácidos grasos insaturados con 4 dominios hidrocarbonados y un dominio hidrofilico cargado negativamente (43) .

7. FUNCIONES DE LOS SCs

Desde su primera descripción se han propuesto diferentes posibles funciones para los SCs, entre las que destacan: preservar la estructura de los complejos individuales, controlar la generación de ROS y aumentar la eficacia de la transferencia electrónica. Algunos autores han sugerido otras funciones, pero las evidencias que las avalan son aún escasas. A continuación, se desarrollan los datos aparecidos en la literatura que apoyan y los que cuestionan las tres funciones mencionadas.

7.1. Mantener la integridad de los complejos libres

La posibilidad de que los SCs funcionen como plataformas que contribuyen a la estabilización de los complejos individuales fue propuesta por Schägger en 2001 basándose en el hecho de que siempre que aparece un defecto en el ensamblaje del CIII esto se traduce en un defecto también en el del CI (47). Este dato se reforzó con los resultados de Acín-Pérez et al. en 2004 cuando analizaron mutaciones en la subunidad citocromo b del CIII que llevaban a la desaparición de este complejo, y observaron que, en ausencia del CIII, el CI era mucho menos estable a pesar de no tener mutaciones en sus subunidades.

Para entender el mecanismo por el que unos complejos (por ejemplo, los complejos CIII y IV) determinarían la estabilidad de otros (por ejemplo, del CI), se han llevado a cabo diferentes estudios. En 2006, se realizó un trabajo encabezado por D'Aurelio et al., en el que partieron de dos líneas celulares, una que contenía una mutación homoplásica en la subunidad COX I del complejo IV, y la otra, que portaba una mutación en una subunidad citocromo b del complejo III para fusionarlas y generar células híbridas. En estas células se comprobó que se recuperaba la respiración celular evidenciando que las mitocondrias se fusionan, intercambiando tanto material genético como proteico. Además, se analizó mediante geles de electroforesis BN la organización de la cadena respiratoria en las células híbridas y como consecuencia de estos experimentos se relacionó la restauración de la función respiratoria con la presencia de estructuras formadas por CI, CIII y CIV (respirasomas) que estaban ausentes en las células de partida antes de la fusión. Con estos resultados, los investigadores postularon que los SC ayudaban a mantener la estabilidad de los complejos individuales (48).

Proyectos desarrollados en la misma dirección, como los dirigidos por Youfen Li en 2007, sugieren que, defectos en el complejo IV conllevan problemas en el ensamblaje del complejo I. Estas conclusiones las obtuvieron tras crear dos líneas sistemas; una línea celular de ratón con RNA de interferencia para suprimir COX IV codificado nuclearmente y otra línea de cíbridos de humanos con una mutación sin sentido en un gen COX I codificado por mtDNA. Se posicionaron a favor de una mayor investigación en este campo, pero aseguraron que sus resultados desvelaban que el complejo I es estable una vez forma un SC con CIII y CIV (49).

Vempati et al., en 2009, llevaron a cabo unos experimentos en los que emplearon líneas celulares con mutaciones en el citocromo y determinaron los valores respiratorios y la producción de ROS de sus mitocondrias. Propusieron que la ausencia del citocromo c causaba problemas en el ensamblaje del complejo IV, lo que afectaba indirectamente a la estabilidad del complejo I (50).

Previamente, este grupo había creado y caracterizado células carentes de COX10 (factor necesario para la incorporación del grupo hemo a en el sitio catalítico del complejo) y puso de manifiesto que, el citocromo c era un elemento fundamental para el ensamblaje y estabilidad del CI. Apoyados en las teorías anteriores de Rocher et al., en las que planteaban que un subensamblado del complejo I interaccionaba con los complejos III y IV, plantearon que la presencia de COX es imprescindible para el ensamblaje del CI, y que este podría necesitar, a su vez, ensamblarse con CIII o CIV. Sus trabajos junto con los realizados con anterioridad, sostienen que los complejos no son unidades independientes si no que forman parte de un sistema interconectado funcionalmente (51).

Estudios estructurales detallados han establecido que determinadas subunidades como la B14.7 (también conocida como NDUFA11) juegan un papel relevante en la estabilización del complejo I, además de, en la interacción de dicho complejo y el complejo III (*ver anexo, figura 15*) (52). Sin embargo, surgen dudas, ya que para algunos estos efectos, podrían considerarse una mera consecuencia de otras funciones como podría ser la producción de ROS que, a su vez, podrían desestabilizar al CI.

7.2. Regular la producción de ROS

Durante la fosforilación oxidativa, algunos de los electrones reaccionan con el oxígeno presente en el medio y lo transforman en especies como el radical hidroxilo, anión superóxido o el peróxido de hidrógeno (ROS). Estas moléculas en concentraciones moderadas funcionan como factores señalizadores de un elevado número de respuestas celulares, sin embargo, a elevadas concentraciones resultan tóxicas (16). En la cadena de transporte electrónico, existen dos lugares principales en los cuales se generan ROS, una de ellas es la zona Q_p del complejo CIII₂, y la otra es la FMN del complejo I (Murphy, 2009) (10). Fue también Schägger, en 2001 quien propuso que el secuestro de intermediarios, como la ubisemiquinona, por parte de los SCs, podría reducir la generación de ROS (47). Posteriormente, los SCs han sido presentados como un posible factor clave en la reducción de ROS por Lenaz y Genova en 2009.

Maranzana et al. en 2013, realizaron una serie de estudios en los que se analizaron los valores de ROS en mitocondrias bovinas tratadas con laurilmaltosido y en SCs I+III₂ reconstituidos mediante liposomas. En ellos se observó un aumento de producción de ROS en los casos de disrupción o prevención de la asociación de CI y CIII en comparación con el sistema cuando los complejos están asociados en SCs (53).

Unos años más tarde, López-Fabuel junto con otros investigadores, analizaron también la posible relación entre la proporción del SC I+III₂ a la producción de ROS. Se realizaron los experimentos en dos tipos de células distintas: neuronas y astrocitos que presentan patrones de asociación de SCs diferentes. A partir de ellas, se solubilizaron las membranas mitocondriales y se realizó BN-PAGE. Seguidamente, comprobaron la composición de cada SC, su actividad y sus proporciones mediante WB y espectrometría de masas. De acuerdo a los resultados obtenidos, existe una diferencia entre la ratio de CI libre respecto al ensamblado en cada tipo celular; siendo mayor en el caso de los astrocitos. Como hemos dicho anteriormente, el CI, es conocido como uno de los principales generadores de ROS en la cadena de transporte electrónico mitocondrial, y es por ello que se evaluó la cantidad de estas sustancias, que resultó ser menor en las neuronas. Tras haber obtenido todos estos resultados, se constató que, cuanto mayor es la cantidad de CI asociado en SCs, menor es la de ROS (53).

7.3. Mejorar la eficiencia del transporte de electrones

La asociación de los complejos individuales en SCs, da lugar a que una de las principales funciones propuestas sea el aumento en la eficiencia del transporte electrónico entre los complejos y los transportadores (ubiquinona y citocromo c) mediante la canalización de sustratos y/o mediante la reducción de las distancias de difusión de los mismos. Mientras que el modelo fluido implica que los choques entre los diferentes elementos que participan en la transferencia de electrones se darían al azar y a veces serían “no productivos”, dicha transferencia en la estructura de los SCs podría estar “facilitada” y ser más eficiente al encontrarse los transportadores situados en la orientación y con las distancias adecuadas, proporcionando así una ventaja cinética.

Bianchi et al. en 2004, investigaron a cerca de la existencia de una asociación funcional entre los complejos I y III. De acuerdo a los resultados de control de flujo obtenidos, propusieron que, ambos complejos funcionan de manera integrada como si fueran uno. El control de flujo sirve para medir el grado en que cada enzima que forma parte de una vía metabólica controla el flujo

global de dicha vía y en este trabajo se aplicó a la cadena respiratoria con el fin de determinar las enzimas que controlan la oxidación de NADH y de succinato. Este ensayo también es útil para confirmar la teoría del modelo basado en SCs ya que al inhibir cualquiera de los componentes, el valor del control de flujo sería el mismo. Se analizó una etapa de una ruta, comparando lo que ocurría cuando se inhibía esa fase de manera aislada y en dicho proceso. De esta manera, se concluía que, si la inhibición era similar, esta etapa tenía un control completo sobre la ruta y que el coeficiente de control de flujo sería cercano a 1. En este trabajo se utilizó rotenona y mucidina para obtener los valores de 1 para el complejo I y III en la ruta de oxidación del NADH, es por ello que propusieron que estos complejos actuaban como una única entidad (54).

Trabajos encabezados por Schäfer en 2006, sugerían que el respirasoma, después de aislarlo, mostraba una mayor actividad enzimática, que el SC I+III₂. Ante este supuesto, se pensó que la presencia del complejo IV en los SCs aumentaba la eficiencia del sistema OXPHOS. Asimismo, plantearon dos modelos de las posibles configuraciones que puede tomar el supercomplejo I+III₂+IV, y gracias a sus datos obtenidos sugirieron que el respirasoma es el mayor módulo fisiológico de la cadena respiratoria mitocondrial en mamíferos (55).

Un año más tarde Heinemeyer et al., comprobaron que no había diferencias significativas entre los SC III₂+IV y III₂+IV₂ respecto a la eficiencia electrónica. Propusieron que, la arquitectura de dichos SCs permite la adhesión del citocromo a su superficie, y de acuerdo a sus resultados, determinaron que, esta canalización de sustratos entre complejos permitía aumentar la eficiencia catalítica, puesto que los SC evitarián la difusión de CoQ y citocromo c (56).

Uno de los mecanismos estudiados para comprobar la existencia de una canalización de sustratos ha sido el ciclo Q. El complejo III en su forma dimérica, contiene dos cavidades de unión Q, cada una de las cuales tiene a su vez, dos sitios de unión a Q (Q_P; también conocido como Q₀ y Q_N; o también conocido como Q_i). En este proceso, el QH₂ reducido se une al sitio Q_P y transfiere, por un lado, un electrón al citocromo c en el espacio intermembrana, por otro lado, su segundo electrón lo cede a un segundo Q unido en el sitio Q_N, generando el intermedio altamente reactivo; ubisemiquinona (Q*). Posteriormente, se unirá un segundo QH₂ al sitio Q_P, que reduce una segunda molécula de citocromo c, y cede su segundo electrón a Q* que se encontraba en el sitio Q_N, dando lugar a un QH₂ totalmente reducido. Cada cavidad CIII Q está abierta a la membrana en lados opuestos del dímero CIII con una pared compartida de proteína que impide el intercambio de Q entre ellas (*ver anexo, figura 16*).

Letts et al. en 2016 sugirieron que, en el respirasoma, una de las cavidades Q es adyacente al CI y la otra es adyacente a CIV; nos referimos a ellas como las cavidades proximal y distal, respectivamente, por su proximidad a CI, la fuente que genera QH₂. La cavidad Q proximal está abierta a la membrana, mientras que la cavidad Q distal está parcialmente ocluida por CIV (*ver anexo, figura 16*) (52).

Esta disposición puede ayudar a limitar la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) por CIII. Los electrones de la oxidación de QH₂ en la cavidad proximal se transfieren a la subunidad UQCRCFS1 cercana a CI y al sitio QN del citocromo b en la cavidad distal, generando Q* en la cavidad distal, parcialmente cubierta por CIV. En el respirasoma *tight*, la proximidad de UQCRCFS1 y CIV puede impedir la rotación libre de UQCRCFS1, necesaria para la transferencia de electrones, lo que rompe la simetría de CIII. Esto crea dos cavidades Q distintas: una para la oxidación de QH₂ y otra para la reducción de Q. En la cavidad distal, la reducción de Q* es más lenta debido a su oclusión parcial. Las arquitecturas de los complejos supramoleculares (SCs) han evolucionado para limitar la producción de ROS; a expensas de la máxima actividad (26).

En 2013, Lapuente-Brun et al., desarrollaron unas investigaciones para comprobar la posible relación entre la presencia de SC y el transporte electrónico. Utilizaron siRNA para eliminar la

subunidad NDUFS3 del complejo I, en células S. Estas células son fibroblastos murinos que tienen una baja expresión del complejo III y se comprobó con un gel de electroforesis BN que los SCs que contenían CI eran menos abundantes que en las células control y que, a penas, se apreciaba CIII libre. Sugirieron que este hecho era consecuencia del secuestro de la limitada cantidad de CIII por parte del CI. Tras reducir notablemente la expresión del CI en las células S, analizaron el estado de asociación de los SCs mediante BNGE, y observaron que la supresión de dicho complejo, suponía la liberación del complejo III de los SCs apareciendo como CIII libre en mayor proporción. Igualmente, se dieron cuenta que el flujo electrónico entre los complejos I y III disminuía en las células interferidas, mientras que el existente entre los complejos II y III había aumentado. Por estos motivos, sugirieron que el complejo III, se asocia preferentemente con el complejo I que contiene CoQ. Para confirmar los datos obtenidos, se eliminó con la misma técnica (siRNA) el complejo III de las células control. Se comprobó que la reducción de la cantidad de CIII conllevaba la pérdida del SC III+IV y, a su vez, se produjo una mayor pérdida de la actividad del SC II+III₂ frente a la del SC I+III₂ (35). Con base en estos resultados, se planteó la existencia de dos poblaciones de CoQ; en primer lugar, la encargada de transportar los electrones que provienen de NADH; CoQNADH, y que se presenta en los SCs que contienen CI (I+III y I+III+IV) y, en segundo lugar, la que está libre en la membrana mitocondrial interna y conectaría el CII (y otras enzimas que usan el FAD como cofactor) con el CIII libre y con el SC III+IV; CoQFAD. Todo ello, es compatible con la idea de la existencia de sitios específicos para CoQ en los SCs que participarían en la canalización de los sustratos (35).

Este grupo trabajó con ratones con mutaciones en SCAF1, para demostrar que la ausencia total de esta subunidad, conllevaba la pérdida de la interacción del complejo IV con el resto. Esto daba lugar a que los electrones de NADH o FAD pasaran por un pool de citocromo c a otro pool de CIV. Sin embargo, si SCAF1 estaba presente, el CIV se unía con CIII o con este último y CI, formando el respirasoma. En consecuencia, plantearon la existencia de tres tipos de poblaciones de CIV: en primer lugar, una que recibía los electrones exclusivamente del NADH, por otro lado, otra que dependía de FAD, y, por último, una que recibía los electrones tanto de NADH como de FAD. Cabe destacar que todo esto se desarrolla debido a la presencia o ausencia de SCAF1, que es el responsable de la segmentación de la cadena respiratoria mitocondrial en 3 poblaciones de CIV, que puede ser favorable para evitar la saturación por sustrato y mejorar así su eficiencia ante cambios en la fuente de energía que emplea la célula (35).

Por otra parte, algunos autores han presentado datos que contradicen la hipótesis de que los SCs actúan como canalizadores de sustratos y aumentan la eficiencia en la transferencia de electrones. Así, Blaza et al. realizaron experimentos en los que añadían NADH o succinato por separado a membranas mitocondriales o SMPs (partículas submitocondriales) para comprobar si se reducía solo parte de la población del complejo III. También añadieron NADH y succinato conjuntamente, puesto que, de acuerdo a la teoría de la presencia de los pools de Q, en estas condiciones se debería observar una reducción de la población completa (57).

Monitorearon con un espectrómetro el estado redox del complejo III en SMPs y comprobaron que el centro hemo c1 se reducía en la misma proporción tras la adición de NADH, succinato o ambos (*ver anexo, figura 17A*), lo que sugería que los tres accedían al complejo III sin restricciones. El grupo hemo c1 se vio que transfería los electrones al citocromo c con un potencial alto similar y de igual modo demostraron que, cada combinación reductora también accede a todo el pool de cyt c (*ver anexo, figura 17B*). Estos resultados se propusieron como una prueba en contra de la compartimentalización del pool de Q propuesta por Lapuente-Brun et al y por el grupo de Lenaz (57).

En la misma dirección, Kröger, A. & Klingenberg, M. calcularon la constante de difusión de Q en la membrana mitocondrial interna y estudiaron la cinética de las reacciones redox de la

ubiquinona. Con todo ello, se reveló la existencia de un solo pool de Q, lo que iría en contra de la propuesta de Lapuente-Brun et al. y de Lenaz (58).

El transporte electrónico mitocondrial es un proceso estrechamente relacionado con la difusión, de manera que la agregación de lípidos exógenos implica una reducción del flujo de electrones (53). En consecuencia, se plantea que la cercanía de los sitios activos de los complejos en un SC podría resultar una ventaja cinética (52). Boekema y colaboradores, propusieron que la proximidad de los sitios activos suponía una reducción del tiempo necesario para la difusión, pero consideraron poco probable que el SC fuera una estructura realizada con el fin de reducir distancias (59). Unos años más tarde, otro equipo encabezado por Sazonov determinó que no existía ningún canal de substratos o barreras de difusión libre que enlazaran los sitios de unión de substratos de los complejos I, III y IV (10).

El ubiquinol se libera del CI y no existe ninguna estructura que lo canalice y guíe hasta el sitio Q₀ del monómero de CIII más cercano. De esta manera, su difusión y unión entre ambos sitios es libre, por cual, al no presentar ninguna estructura que lo confine, no se puede hablar de canalización (53). Las enzimas que realmente si canalizan substratos muestran unos canales que conectan los sitios, permitiendo la salida o intercambio (Weeks et al., 2006). Del mismo modo, Hackenbrock et al. años antes, en 1988, estudiaron el citocromo c, que difunde a lo largo de la membrana interna. Se concluyó, que no hay muestras de estructuras que canalicen el citocromo c entre los sitios específicos de unión y que prevengan su difusión (53).

Recientemente, en 2023, Larsson et al. llevaron a cabo una serie de experimentos para poner a prueba las funciones de los SCs que hasta el momento se habían propuesto en un modelo *in vivo* de ratón. Con el objetivo de modular las interacciones proteicas que permiten formar el respirasoma, crearon tres ratones modificados genéticamente y analizaron las consecuencias a nivel funcional y estructural (60). En la primera cepa, se cambió una tirosina por una alanina de la subunidad NDUFA11 del complejo I. Esta subunidad es conocida como una pieza clave en la unión entre este complejo con el complejo III. En la segunda cepa, se eliminaron 20 aminoácidos del extremo C-terminal de la subunidad NDUFB7, perteneciente al CI, se trata de una proteína N-miristilada que tiene un papel crucial en el ensamblaje del complejo I (61). Por último, en la tercera cepa, se eliminó un loop pequeño formado por tres aminoácidos de una de las subunidades del complejo III2; UQCRC1, puesto que se habían visto que estos aminoácidos interaccionaban con otras subunidades del complejo I en la formación de SCs (60).

Las mitocondrias de corazón de estos ratones se analizaron con BN-PAGE. De la primera cepa, se vio que se habían reducido los niveles de respirasomas, y que, a su vez, los niveles de CI libre habían aumentado. En cambio, las mitocondrias pertenecientes a los ratones de la segunda cepa, no presentaban a penas muestras de la desestabilización de los respirasomas (60). Sin embargo, los ratones de la última cepa, con UQCRC1 mutado, presentaron notablemente reducidos los niveles de respirasomas y del SC CI+CIII₂, y, además, mostraron unos niveles muy altos de CI y CIII libres. Sorprendentemente, estos ratones estaban sanos; no mostraban un fenotipo aparentemente anómalo y eran fértiles (60). Cabe destacar que, a pesar de la radical pérdida de respirasomas, las tasas de ROS no se vieron alteradas. De igual manera, se comprobó que la drástica reducción no había afectado al acoplamiento existente entre la respiración celular, la producción de ATP y el bombeo de protones. (60) De este trabajo se concluyó que los ratones modificados y con menos SCs mantuvieron niveles altos de los complejos pese a no establecer relaciones estructurales y mantuvieron la fisiología y bioenergética de manera similar a los control sin generar más ROS.

8. DISCUSIÓN

Las funciones de los SCs en la cadena respiratoria mitocondrial constituyen un tema que ha sido objeto de investigación intensa durante las últimas décadas. En este trabajo se han analizado las evidencias a favor y en contra de las tres principales funciones propuestas: preservar la estructura de los complejos individuales, regular la producción de ROS y mejorar la eficiencia del transporte electrónico.

La primera función propuesta sostiene que los complejos tienen que estar asociados para aumentar o mantener su estabilidad. Existen numerosos estudios a favor de esta teoría, como los realizados por Schägger que plantean la estabilidad dependiente entre el complejo I y III, que posteriormente fue apoyada por Acín-Pérez, entre otros. No solamente se ha estudiado la relación entre el CI y CIII, sino que, también ha sido de interés la correlación entre los complejos I, III y IV. D'Aurelio demostró que se podía recuperar la función respiratoria, al restablecer las relaciones entre dichos complejos y otros trabajos dieron luz a la interconexión entre el CIV y el CI. Sin embargo, también hay algunas evidencias que cuestionan esta función. Así, el grupo de Larsson encontró que la ausencia de la subunidad esencial para la unión entre el CI y CIII no afectaba a los fenotipos de los ratones, pese a tener notablemente reducidos los niveles de los SCs.

La segunda función hace referencia a la regulación de la producción de ROS. Estas moléculas son generadas durante la fosforilación oxidativa y pueden ser tóxicas en concentraciones elevadas. Los SCs han sido propuestos por Schägger y por Lenaz y Genova como un posible factor clave en la reducción de ROS. Trabajos realizados por Maranzana, han sugerido que, la asociación entre los complejos I y III reduce la producción de ROS, respecto a lo producido por los complejos individuales. López-Fabuel demostró que en las neuronas la producción de especies reactivas era menor, lo que estaba relacionado con una mayor proporción de CI asociado en SC. Del mismo modo que en la función anterior, los experimentos de Larsson et al. cuestionaron esta teoría, debido a que en los ratones que mutaron y sufrieron la pérdida de respirasomas, no detectaron ningún cambio respecto a la producción de ROS.

Por último, la tercera función sugiere que los SCs mejoran la eficiencia del transporte electrónico. Esto se basa en la idea de que la asociación de los complejos individuales en SCs facilita la transferencia de electrones y reduce las distancias de difusión entre los transportadores, lo que podría aumentar la eficiencia catalítica. El control de flujo medido por Bianchi et al. de los complejos I y III, reveló que ambos complejos funcionan como un única entidad. Más tarde, Schäfer afirmó que el respirasoma alcanzaba una actividad enzimática mayor a la del SC CI+CIII₂, por lo que sugería que dicho SC era la unidad funcional más grande y relevante de la cadena de transporte electrónico mitocondrial en mamíferos. Por otro lado, Lapuente-Brun et al., planteó la presencia de dos poblaciones de CoQ, lo cual estaría a favor de la idea de la canalización, y, además, desvelaron la existencia de tres tipos de CIV, en función de si el factor SCAF1 está o no presente, con el fin de mejorar la eficiencia energética.

No obstante, aparecieron otros autores que presentaron resultados en contra de este supuesto. Por su parte, Blaza realizó un estudio sobre la reducción del complejo III, al añadir diferentes sustratos y comparó los resultados con lo que supuestamente tendría que ocurrir según la teoría de la canalización. Los resultados obtenidos eran contrarios a la idea anteriormente propuesta. Siguiendo en la misma dirección, Boekema y Sazanov, plantearon que el SC no era una simple construcción para minimizar distancias y negaron la existencia de canales, tal y como lo hizo recientemente Larsson.

A pesar de los numerosos experimentos que evidencian estas funciones, la aparición de artículos en contra; sobre todo, de la tercera función, pone de manifiesto la necesidad de continuar investigando a cerca de las ventajas biológicas y de los roles concretos que presentan los supercomplejos.

9. CONCLUSIONES

- Las mitocondrias son orgánulos imprescindibles, no solo en la producción de energía celular, sino también en la evolución y funcionamiento de las células eucariotas.
- Cada complejo respiratorio (I a V) muestra una estructura concreta y un proceso de ensamblaje único, que determinará su función.
- La alta conservación estructural y funcional de estos complejos entre diferentes especies indica que proporcionan una ventaja evolutiva.
- A lo largo de los años se ha investigado y ha ido cambiando la percepción acerca de la organización estructural de la cadena de transporte electrónico, partiendo de los modelo sólido y fluido hasta el actualmente más aceptado modelo de plasticidad.
- Los estudios realizados mediante las técnicas de Blue Native-PAGE (BN-PAGE) y criomicroscopía electrónica (cryo-EM), han evidenciado la existencia y funcionalidad de los supercomplejos, identificando asociaciones entre los complejos I, III y IV (llamados respirasomas).
- Con la ayuda de la investigación, se han identificado supercomplejos con estequiométría variable, según la especie, el tejido y las necesidades metabólicas.
- Diferentes estudios, como los mostrados, defienden que los SCs desempeñan papeles importantes en la estabilidad de los complejos libres. Además, sugieren que potencian la eficiencia de la transferencia electrónica y controlan la producción de ROS. Sin embargo, dado que también hay estudios sólidos que cuestionan estas propuestas, se subraya la necesidad de más investigación para comprender mejor su papel e impacto en la bioenergética celular.

CONCLUSIONS

- Mitochondria are essential organelles, not only in cellular energy production, but also in the evolution and function of eukaryotic cells.
- Each respiratory complex (I to V) shows a specific structure and a unique assembly process, which will determine its function.
- The high structural and functional conservation of these complexes between different species indicates that they provide an evolutionary advantage.
- Over the years, research and insights into the structural organisation of the electron transport chain have changed from the solid and fluid models to the now more widely accepted plasticity model.
- Studies using Blue Native-PAGE (BN-PAGE) and cryo-EM (cryo-EM) techniques have shown the existence and functionality of supercomplexes, identifying associations between complexes I, III and IV (called respirasomes).
- With the help of research, supercomplexes have been identified with variable stoichiometry, depending on the species, tissue and metabolic needs.
- Several studies, such as the ones shown, argue that SCs play important roles in the stability of free complexes. Furthermore, they suggest that they enhance the efficiency of electron transfer and control ROS production. However, due to the existence of solid studies questioning these proposals, further research is still needed to better understand their role and impact on cellular bioenergetics.

10. BIBLIOGRAFÍA

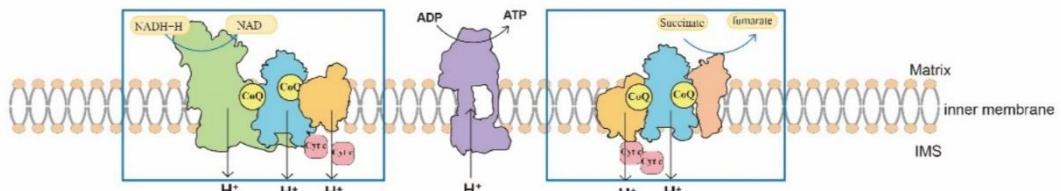
1. Genome.gov., Mitochondria., [Consultado el 20 de octubre de 2023], Disponible en: <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Mitochondria>.
2. The Cell, Chapter 10, 2nd edition A Molecular Approach Geoffrey M Cooper. Sinauer Associates, 2000.
3. Roger, A.J., Muñoz-Gómez, S.A. y Kamikawa, R. (2017)*The Origin and Diversification of Mitochondria*. Elsevier BV. 27(21):1177-1192.
4. Friedman, J.R. y Nunnari, J. (2014)*Mitochondrial form and function*. Springer Science and Business Media LLC. *Nature* 505:335–343.
5. Fernandez-vizarra, E. y Zeviani, M. (2020)*Mitochondrial disorders of the OXPHOS system*. Wiley. 595(8):1062-1106.
6. Britannica, Cellular respiration | Definition, Equation, Cycle, Process, Reactants, & Products. [Consultado el 30 de octubre de 2023], Disponible en: <https://www.britannica.com/science/cellular-respiration>.
7. Cogliati, S., Cabrera-Alarcón, J.L. y Enriquez, J.A. (2021)*Regulation and functional role of the electron transport chain supercomplexes*. Portland Press Ltd. *Biochem Soc Trans.* 49 (6): 2655–2668
8. Mitchell, P. *mitchell1977*.
9. Guan, S., Zhao, L. y Peng, R. (2022)*Mitochondrial Respiratory Chain Supercomplexes: From Structure to Function*. MDPI AG. *International Journal of Molecular Sciences* 23, 22: 13880
10. Milenkovic, D., Blaza, J.N., Larsson, N. y Hirst, J. (2017)*The Enigma of the Respiratory Chain Supercomplex*. Elsevier BV. 25(4):765-776
11. Enriquez, J.A. (2015)*Supramolecular Organization of Respiratory Complexes*. *Annual review of physiology*, 78:533-561.
12. Scha, H. y Pfeiffer, K. *schägger-pfeiffer-2000-supercomplexes-in-the-respiratory-chains-of-yeast-and-mammalian-mitochondria.. The EMBO Journal*. 19(8):1777-1783.
13. Acín-Pérez, R., Fernández-Silva, P., Peleato, M.L., Pérez-Martos, A. y Enriquez, J.A. (2008)*Respiratory Active Mitochondrial Supercomplexes*. Elsevier BV. 32(4):529-539.
14. Vercellino, I. y Sazanov, L.A. (2021)*The assembly, regulation and function of the mitochondrial respiratory chain*. Springer Science and Business Media LLC. 23(2):141-161.
15. Caruana, N.J. y Stroud, D.A. (2020)*The road to the structure of the mitochondrial respiratory chain supercomplex*. Portland Press Ltd. 48(2):621-629
16. Lastres, D.M. *Ensamblaje de los supercomplejos mitocondriales en modelos celulares de salud y enfermedad Tesis Doctoral*.
17. Cecchini, G. (2003)*Function and Structure of Complex II of the Respiratory Chain*. Annual Reviews. 72:77-109
18. Mimaki, M., Wang, X., Mckenzie, M., Thorburn, D.R. y Ryan, M.T. (2011)*Understanding mitochondrial complex I assembly in health and disease*. Elsevier BV. 1817(6):851-862
19. Fernández-Vizarra, E. y Zeviani, M. (2015)*Nuclear gene mutations as the cause of mitochondrial complex III deficiency*. Frontiers Media SA. 6:134
20. Lenaz, G. y Genova, M.L. (2009)*Structural and functional organization of the mitochondrial respiratory chain: A dynamic super-assembly*. Elsevier BV. 41(10):1750-1772
21. Alcázar-Fabra, M., Navas, P. y Brea-Calvo, G. (2016)*Coenzyme Q biosynthesis and its role in the respiratory chain structure*. Elsevier BV. 1857(8):1073-1078
22. Stefely, J.A. y Pagliarini, D.J. (2017)*Biochemistry of Mitochondrial Coenzyme Q Biosynthesis*. Elsevier BV. 42(10):824-843
23. Ow, Y.P., Green, D.R., Hao, Z. y Mak, T.W. (2008)*Cytochrome c: functions beyond respiration*. Springer Science and Business Media LLC. 9(7):532-42
24. Dudkina, N.V., Sunderhaus, S., Boekema, E.J. y Braun, H. (2008)*The higher level of organization of the oxidative phosphorylation system: mitochondrial supercomplexes*. Springer Science and Business Media LLC. 40(5): 419–424.
25. Kohler, A., Barrientos, A., Fontanesi, F. y Ott, M. (2023)*The functional significance of mitochondrial respiratory chain supercomplexes*. Springer Science and Business Media LLC. 24(11)

26. Letts, J.A., Fiedorczuk, K. y Sazanov, L.A. (2016) *The architecture of respiratory supercomplexes*. Springer Science and Business Media LLC. 537(7622):644-648
27. Wu, M., Gu, J., Zong, S., Guo, R., Liu, T. y Yang, M. (2020) *Research journey of respirasome*. Oxford University Press (OUP). 11(5): 318–338.
28. Dudkina, N.V., Kouřil, R., Peters, K., Braun, H. y Boekema, E.J. (2009) *Structure and function of mitochondrial supercomplexes*. Elsevier BV. 1797(6–7): 664-670.
29. Acin-Perez, R. y Enriquez, J.A. (2013) *The function of the respiratory supercomplexes: The plasticity model*. Elsevier BV. 1837(4):444-450.
30. Zheng W, Chai P, Zhu J, Zhang K. *High-resolution In-situ Structures of Mammalian Mitochondrial Respiratory Supercomplexes in Reaction within Native Mitochondria*. Preprint. bioRxiv. 2024;2024.04.02.587796. Published 2024 Apr 3. doi:10.1101/2024.04.02.587796
31. Lobo-Jarne, T. y Ugalde, C. (2017) *Respiratory chain supercomplexes: Structures, function and biogenesis*. Elsevier BV. 76:179-190.
32. Cogliati, S., Calvo, E., Loureiro, M., Guaras, A.M., Nieto-Arellano, R., Garcia-Poyatos, C., Ezkurdia, I., Mercader, N., Vázquez, J. y Enriquez, J.A. (2016) *Mechanism of super-assembly of respiratory complexes III and IV*. Springer Science and Business Media LLC. 539(7630):579-582
33. Benegiamo, G., Bou Sleiman, M., Wohlwend, M., Rodríguez-López, S., Goeminne, L.J.E., Laurila, P., Klevjer, M., Salonen, M.K., Lahti, J., Jha, P., Cogliati, S., Enriquez, J.A., Brumpton, B.M., Bye, A., Eriksson, J.G. y Auwerx, J. (2022) *COX7A2L genetic variants determine cardiorespiratory fitness in mice and human*. Springer Science and Business Media LLC. 4(10):1336-1351
34. Lapuente-Brun. *Organización modular de la cadena respiratoria de mamíferos y optogenética* Tesis Universidad de Zaragoza.
35. Lapuente-Brun, E., Moreno-Loshuertos, R., Acín-Pérez, R., Latorre-Pellicer, A., Colás, C., Balsa, E., Perales-Clemente, E., Quirós, P.M., Calvo, E., Rodríguez-Hernández, M.A., Navas, P., Cruz, R., Carracedo, Á., López-Otín, C., Pérez-Martos, A., Fernández-Silva, P., Fernández-Vizarra, E. y Enríquez, J.A. (2013) *Supercomplex Assembly Determines Electron Flux in the Mitochondrial Electron Transport Chain*. American Association for the Advancement of Science (AAAS). 340(6140):1567-70.
36. Lenaz, G., Baracca, A., Barbero, G., Bergamini, C., Dalmonte, M.E., Del Sole, M., Faccioli, M., Falasca, A., Fato, R., Genova, M.L., Sgarbi, G. y Solaini, G. (2010) *Mitochondrial respiratory chain super-complex I-III in physiology and pathology*. Elsevier BV. 1797(6–7):633-640.
37. Chen, Y., Taylor, E.B., Dephoure, N., Heo, J., Tonhato, A., Papandreou, I., Nath, N., Denko, N.C., Gygi, S.P. y Rutter, J. (2012) *Identification of a Protein Mediating Respiratory Supercomplex Stability*. Elsevier BV. 15(3):348-360.
38. Timón-Gómez, A., Garlich, J., Stuart, R.A., Ugalde, C. y Barrientos, A. (2020) *Distinct Roles of Mitochondrial HIGD1A and HIGD2A in Respiratory Complex and Supercomplex Biogenesis*. Elsevier BV. 31(5):107607.
39. Pérez-Pérez, R., Lobo-Jarne, T., Milenkovic, D., Mourier, A., Bratic, A., García-Bartolomé, A., Fernández-Vizarra, E., Cadenas, S., Delmiro, A., García-Consuegra, I., Arenas, J., Martín, M.A., Larsson, N. y Ugalde, C. (2016) *COX7A2L Is a Mitochondrial Complex III Binding Protein that Stabilizes the III2+IV Supercomplex without Affecting Respirasome Formation*. Elsevier BV. 16(9): 2387–2398.
40. Vercellino, I. y Sazanov, L.A. (2024) *SCAF1 drives the compositional diversity of mammalian respirasomes*. Springer Science and Business Media LLC.
41. García-poyatos, C., Cogliati, S., Calvo, E., Hernansanz-agustín, P., Lagarrigue, S., Magni, R., Botos, M., Langa, X., Amati, F., Vázquez, J., Mercader, N. y Enríquez, J.A. (2020) *Scaf1 promotes respiratory supercomplexes and metabolic efficiency in zebrafish*. Springer Science and Business Media LLC. 21(7).
42. Zhang, M., Mileykovskaya, E. y Dowhan, W. (2002) *Gluing the Respiratory Chain Together*. Elsevier BV. 277(46):43553-435566.
43. Bogdanov, M., Mileykovskaya, E. y Dowhan, W. *Lipids in the Assembly of Membrane Proteins and Organization of Protein Supercomplexes: Implications for Lipid-Linked Disorders*. 49: 197–239.

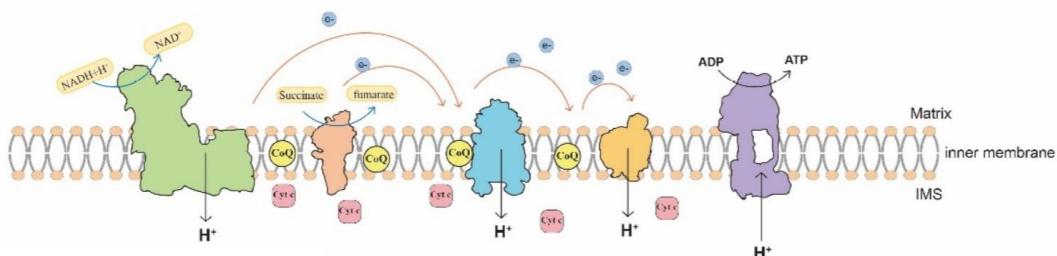
44. Zhang, M., Mileykovskaya, E. y Dowhan, W. (2005) *Cardiolipin Is Essential for Organization of Complexes III and IV into a Supercomplex in Intact Yeast Mitochondria*. Elsevier BV. 280(33): 29403–29408.
45. Bazán, S., Mileykovskaya, E., Mallampalli, V.K.P.S., Heacock, P., Sparagna, G.C. y Dowhan, W. (2012) *Cardiolipin-dependent Reconstitution of Respiratory Supercomplexes from Purified *Saccharomyces cerevisiae* Complexes III and IV*. Elsevier BV. 288(1): 401–411.
46. Paradies, G., Paradies, V., De Benedictis, V., Ruggiero, F.M. y Petrosillo, G. (2013) *Functional role of cardiolipin in mitochondrial bioenergetics*. Elsevier BV. 1837(4):408-417.
47. Schägger, H. (2001) *Respiratory Chain Supercomplexes*. Wiley. 52(3-5):119-128.
48. D'Aurelio, M., Gajewski, C.D., Lenaz, G. y Manfredi, G. (2006) *Respiratory chain supercomplexes set the threshold for respiration defects in human mtDNA mutant cybrids*. Oxford University Press (OUP). 15(13):2157–2169.
49. Li, Y., D'Aurelio, M., Deng, J., Park, J., Manfredi, G., Hu, P., Lu, J. y Bai, Y. (2007) *An Assembled Complex IV Maintains the Stability and Activity of Complex I in Mammalian Mitochondria*. Elsevier BV. 282(24):17557-17562.
50. Vempati, U.D., Han, X. y Moraes, C.T. (2009) *Lack of Cytochrome c in Mouse Fibroblasts Disrupts Assembly/Stability of Respiratory Complexes I and IV*. Elsevier BV. 284(7): 4383–4391.
51. Diaz, F., Fukui, H., Garcia, S. y Moraes, C.T. (2006) *Cytochrome c Oxidase Is Required for the Assembly/Stability of Respiratory Complex I in Mouse Fibroblasts*. Informa UK Limited. 26(13):4872-4881.
52. Letts, J.A. y Sazanov, L.A. (2017) *Clarifying the supercomplex: the higher-order organization of the mitochondrial electron transport chain*. Springer Science and Business Media LLC. 24(10):800-808.
53. Lopez-Fabuel, I., Le Douce, J., Logan, A., James, A.M., Bonvento, G., Murphy, M.P., Almeida, A. y Bolaños, J.P. (2016) *Complex I assembly into supercomplexes determines differential mitochondrial ROS production in neurons and astrocytes*. Proceedings of the National Academy of Sciences. 113(46):13063-13068.
54. Bianchi, C., Genova, M.L., Parenti Castelli, G. y Lenaz, G. (2004) *The Mitochondrial Respiratory Chain Is Partially Organized in a Supercomplex Assembly*. Elsevier BV. 279(35):36562-36569.
55. Schäfer, E., Seelert, H., Reifsneider, N.H., Krause, F., Dencher, N.A. y Vonck, J. (2006) *Architecture of Active Mammalian Respiratory Chain Supercomplexes*. Elsevier BV. 281(22):15370-15375.
56. Heinemeyer, J., Braun, H., Boekema, E.J. y Kouřil, R. (2007) *A Structural Model of the Cytochrome c Reductase/Oxidase Supercomplex from Yeast Mitochondria*. Elsevier BV. 282(16):12240-12248.
57. Blaza, J.N., Serreli, R., Jones, A.J.Y., Mohammed, K. y Hirst, J. (2014) *Kinetic evidence against partitioning of the ubiquinone pool and the catalytic relevance of respiratory-chain supercomplexes*. Proceedings of the National Academy of Sciences. 111(44):15735-41570.
58. Kröger, A., Klingenberg, M. y Schweidler, S. (1973) *Further Evidence for the Pool Function of Ubiquinone as Derived from the Inhibition of the Electron Transport by Antimycin*. Wiley. 39(2):313-323.
59. Dudkina, N.V., Kudryashev, M., Stahlberg, H., Boekema, E.J. y Baumeister, W.P. *Interaction of complexes I, III, and IV within the bovine respirasome by single particle cryoelectron tomography*. 108(37):15196-15200.
60. Milenkovic, D., Misic, J., Hevler, J.F., Molinié, T., Chung, I., Atanassov, I., Li, X., Filograna, R., Mesaros, A., Mourier, A., Heck, A.J.R., Hirst, J. y Larsson, N. (2023) *Preserved respiratory chain capacity and physiology in mice with profoundly reduced levels of mitochondrial respirasomes*. Elsevier BV. 35(10):1799-1813.
61. Harada, H., Moriya, K., Kobuchi, H., Ishihara, N. y Utsumi, T. (2023) *Protein N-myristoylation plays a critical role in the mitochondrial localization of human mitochondrial complex I accessory subunit NDUFB7*. Springer Science and Business Media LLC. 13(1):22991.

11. ANEXO

A Modelo sólido



B Modelo fluido



C Modelo de plasticidad

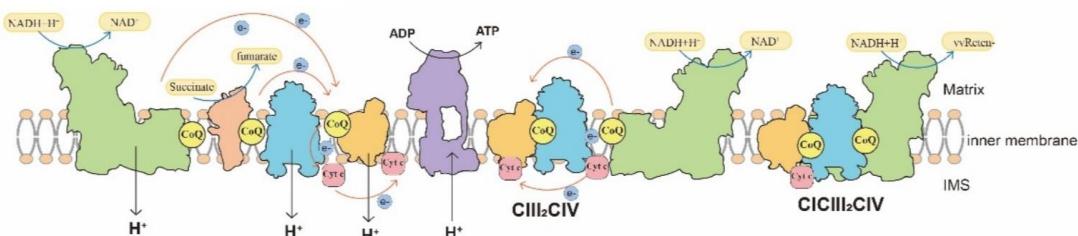


Figura 1: Representación esquemática de los modelos sólido (A), fluido (B) y el modelo de plasticidad (C). (Guan, Zhao y Peng, 2022).

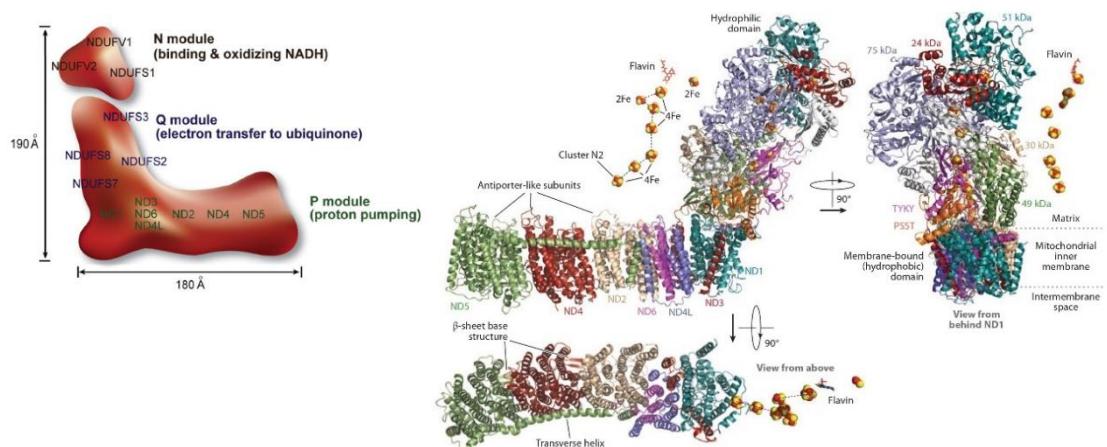


Figura 2: a) Gráfico esquemático de la estructura del complejo I mitochondrial de mamíferos. El brazo de la matriz y el brazo de la membrana forman una estructura en forma de L. Está compuesto por tres módulos funcionales conservados: el módulo NADH deshidrogenasa (módulo N), el módulo de transferencia de electrones a la ubiquinona (módulo Q) y el módulo de translocación de protones (módulo P). Se indican las posiciones de 14 subunidades centrales, altamente conservadas entre procariotas y eucariotas. (Mimaki et al., 2011).

b) Modelo del CI insertado en la membrana interna de la mitocondria, desde 3 vistas diferentes con las diferentes subunidades coloreadas. (Hirst, 2013).

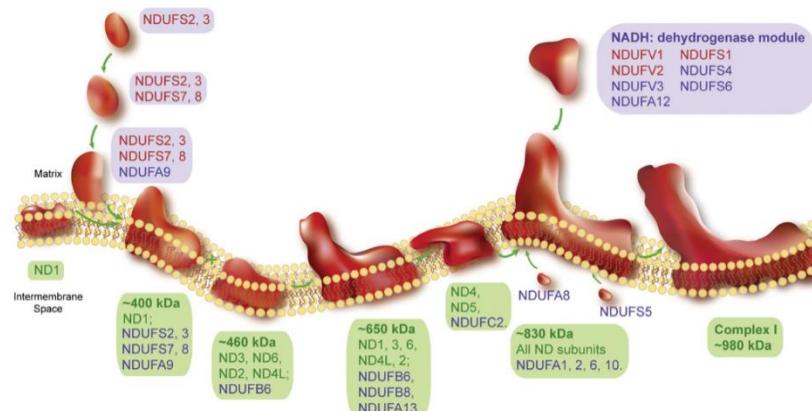


Figura 3: Representación de las diferentes etapas del modelo propuesto para el ensamblaje del complejo I (Mimaki et al., 2011).

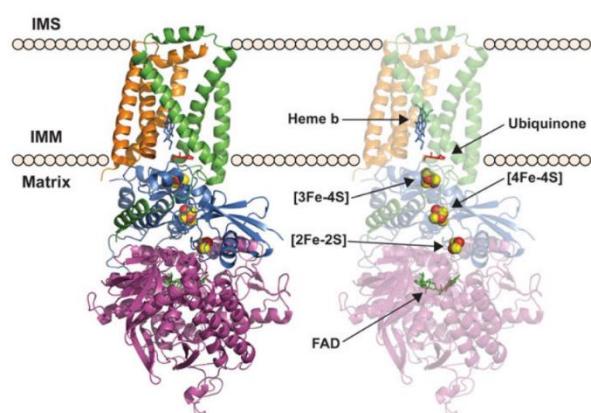


Figura 4: Succinato deshidrogenasa porcina incrustada en la membrana interna mitocondrial. SDHA (morada); SDHB (azul); SDHC (verde); SDHD (naranja). En la imagen de la derecha, representados FAD y los centros FeS, ubiquinona y el grupo hemo b. IMM: membrana interna mitocondrial; IMS: espacio intermembrana (Van Vranken et al., 2014).

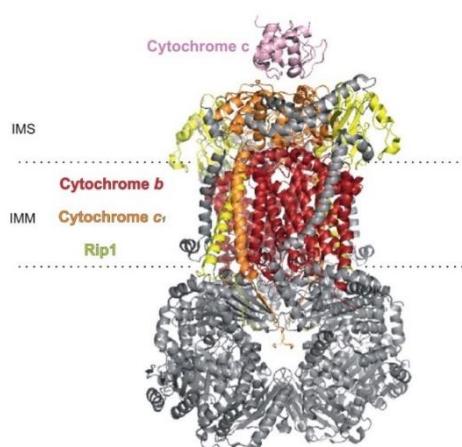


Figura 5: Estructura del complejo III dimérico con sus subunidades catalíticas en distintos colores: citocromo b en rojo, citocromo c1 en naranja y la proteína FeS de Rieske (ISP o Rip1) en amarillo. IMM: membrana interna mitocondrial; IMS: espacio intermembrana (Ndi et al., 2018).

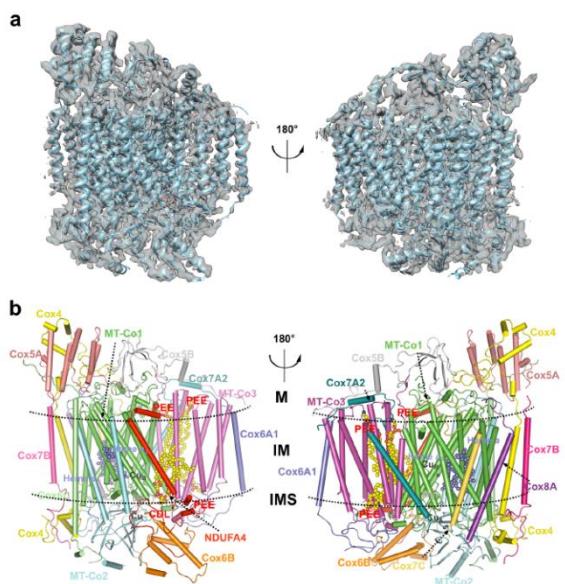


Figura 6: a) y b) Estructura global del monómero humano de CIV y los modelos presentados de las diferentes subregiones coloreadas, en dos vistas rotadas de forma diferente a lo largo de la membrana. IMM: membrana interna mitocondrial; IMS: espacio intermembrana; M: matriz mitocondrial (Zong et al., 2018).

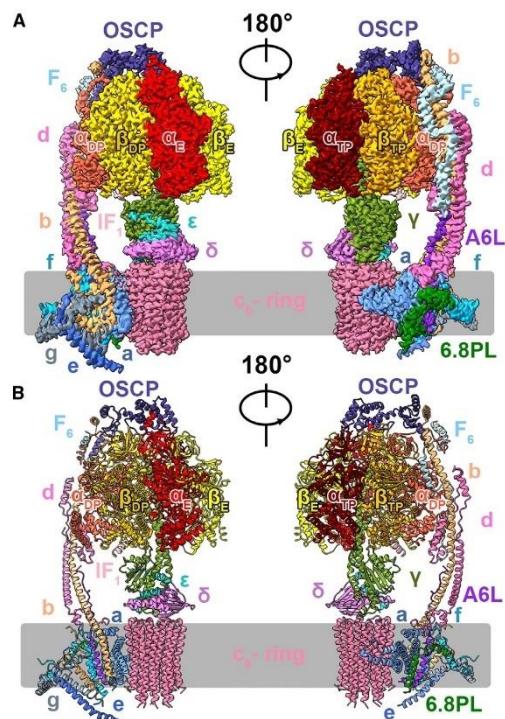


Figura 7: Estructura del complejo V o ATP sintetasa vista desde dos perspectivas y con las subunidades identificadas cada una con un color diferente (Lai et al., 2023).

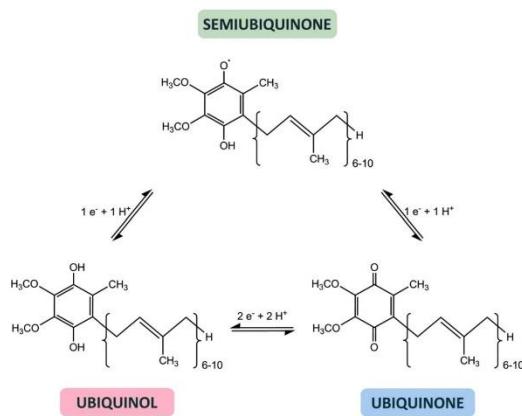


Figura 8: Diferentes formas del CoQ. (Alcázar-Fabra, Navas y Brea-Calvo, 2016).

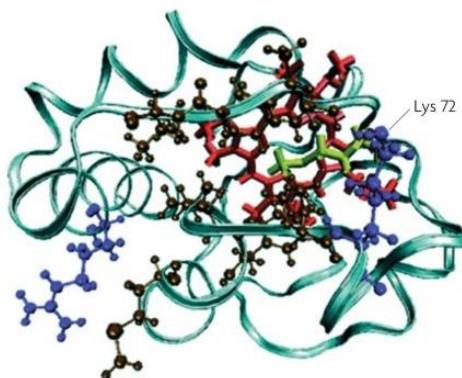


Figura 9: Estructura del citocromo c, aparece señalada la lisina 72, esencial para mantener la estabilidad entre el citocromo c y APAF1. (Ow et al., 2008).

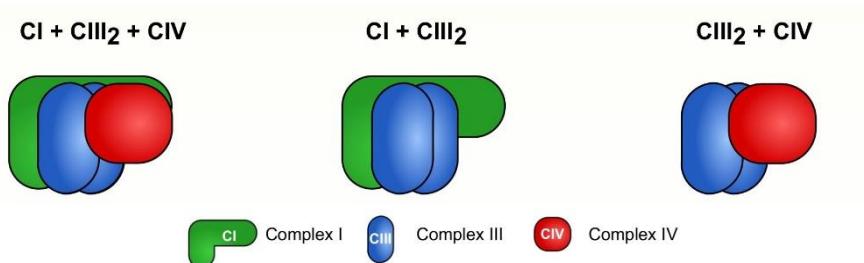


Figura 10: Representación esquemática de los supercomplejos más relevantes, en primer lugar; de izquierda a derecha, el respirasoma ($CI + CIIL2 + CIV$), a continuación, el supercomplejo formado por CI y $CIIL2$ y, por último, el supercomplejo compuesto por $CIIL2$ y CIV . Debajo aparece la leyenda en la que se indica que la figura verde hace referencia al complejo I, la azul es el complejo III ,mientras que la roja es el complejo IV. (Kohler et al., 2023).

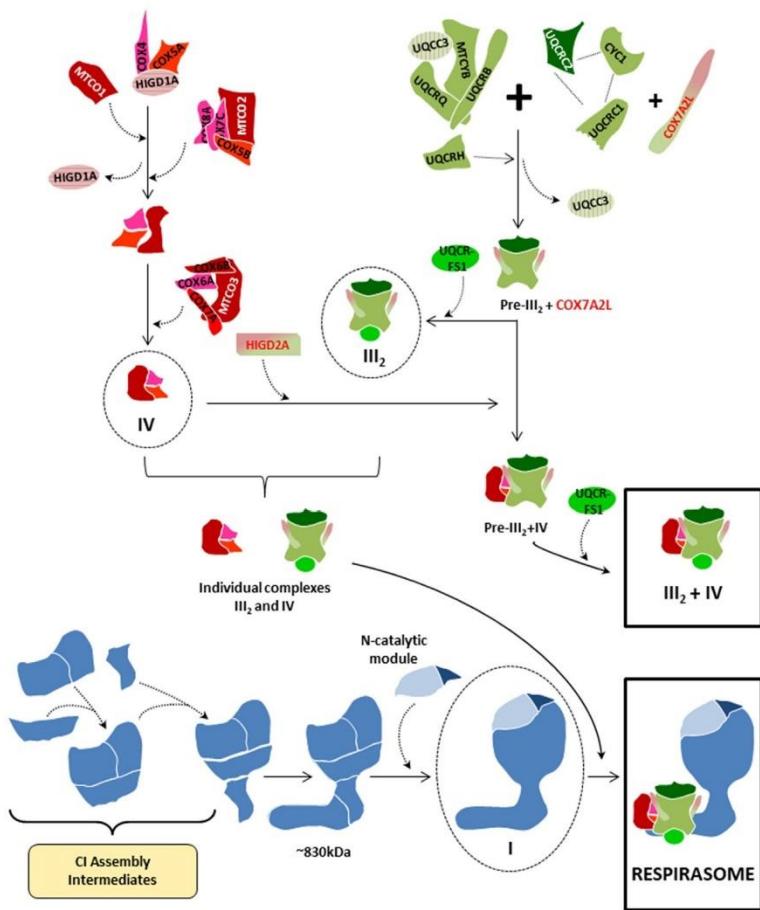


Figura 11: Modelo de la biogénesis del respirasoma que propone la asociación de los complejos individuales ya formados. También aparece representada la formación del supercomplejo CIII2+CIV. (Lobo-Jarne y Ugalde, 2018).

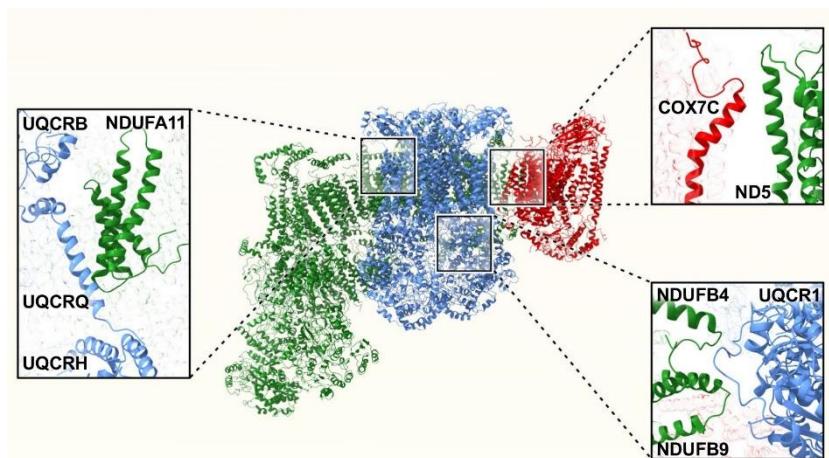


Figura 12: Representación de las interacciones principales entre los distintos complejos que forman el respirasoma: CI (verde), CIII (azul) y CIV. Destacamos las subunidades NDUFA11 y NDUFB4 del complejo I que interactúan con la subunidad UQCRC1 del complejo III, y por otro lado, las subunidades NDUFB9 y NDUFB4 del complejo I interactúan en otras, con la subunidad UQCRC2 del complejo III. (Kohler et al., 2023).

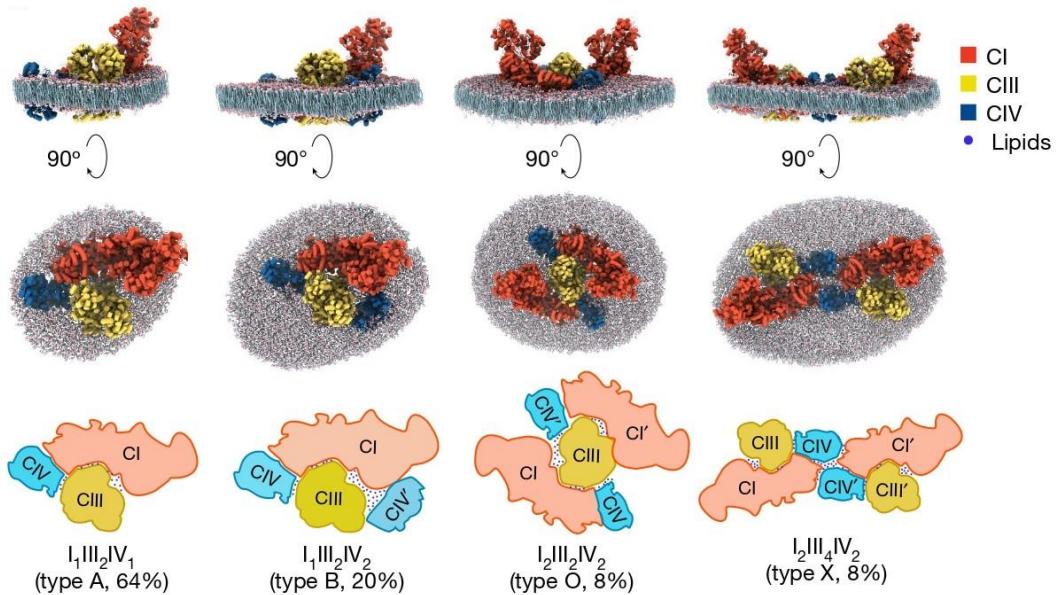


Figura 13: Arquitectura, curvatura de la membrana e interfaces de interacción de los cuatro tipos de supercomplejos. Vistas superior y lateral de los modelos de SCs: $I_1III_2IV_1$, $I_1III_2IV_2$, $I_2III_2IV_2$ y $I_2III_4IV_2$ con las membranas alrededor, poniendo de relieve el impacto de las diferentes composiciones de los SC en la curvatura de la membrana. (Zheng et al., 2024).

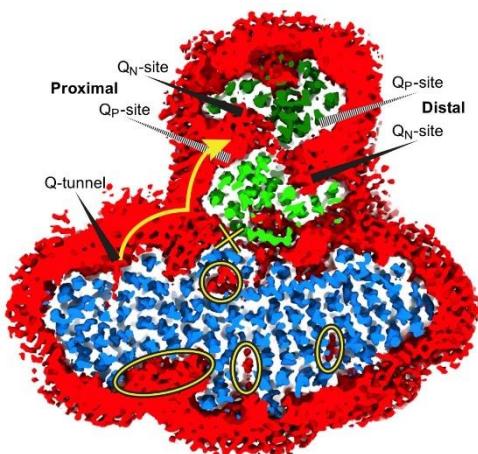


Figura 14: Corte a través de los dominios de membrana de CI y CIII₂ dentro de la estructura del SC mirando desde la matriz mitocondrial. El de lípido se muestra en color rojo, el CI en azul y el CIII₂ está en una tonalidad distinta de verde cada monómero. Los sitios activos de CoQ aparecen señalados. La flecha amarilla muestra el camino más corto para la difusión de CoQ desde el túnel CI al sitio QP proximal de CIII₂. (Letts et al., 2019)

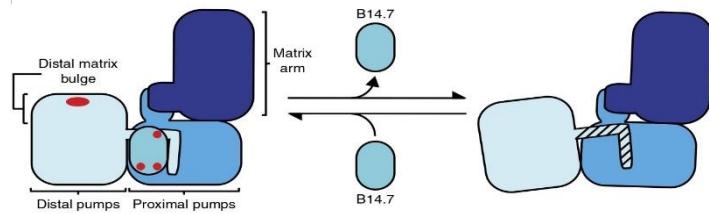


Figura 15: Representación de la estabilización del complejo I con la interacción del CIII₂ (en rojo). Se muestran los diferentes módulos de CI, en diferentes tonos de azul. La pérdida de B14.7 provoca el desorden de parte de la hélice lateral de CI, lo que provoca una inclinación de las bombas distales con respecto a las proximales. (Letts y Sazanov, 2017).

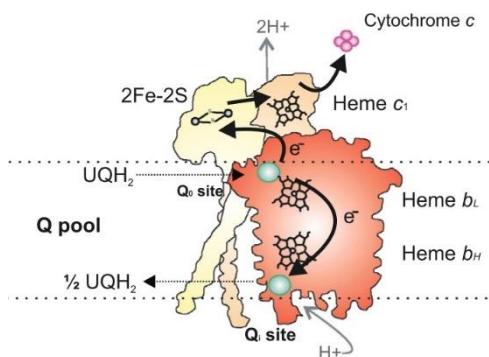


Figura 16: Esquema del ciclo Q. El quinol reducido (QH_2) se une al sitio Q_o , dos electrones son transportados: uno al citocromo c, el otro electrón llega a otro Q en el sitio Q_i , generando una ubisemiquinona. Los sitios Q_o y Q_i se muestran en verde. (Ndi et al., 2018).

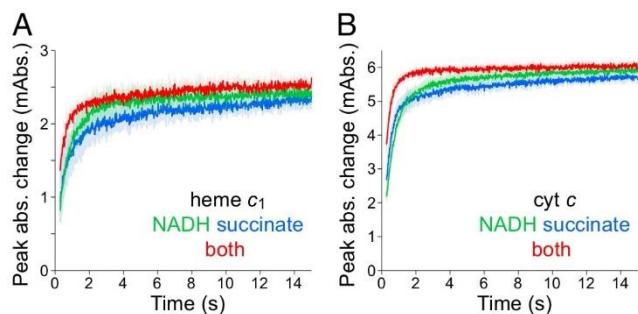


Figura 17: Reducción del complejo III a través de la adición de NADH (verde), succinato (azul) o ambos (rojo). (Blaza et al., 2014)