

ENZIMAS

- **Estudiar características de las enzimas y su clasificación**
- **Conocer la función de las enzimas y su mecanismo de acción**
- **Comprender el significado de los principales parámetros cinéticos**
- **Interpretar los datos obtenidos en estudios de cinética de un solo sustrato**
- **Diferenciar los tipos de inhibición reversible**

Las enzimas son, en su gran mayoría, proteínas globulares sintetizadas por las células para catalizar reacciones bioquímicas.

RNA: ribozimas

Catalizadores biológicos

Aumentan la velocidad de la reacción en la que participan hasta millones de veces.

Se unen en forma temporal, liberándose al final a la vez que se libera el producto de la reacción en forma inalterada.

Diferencias entre catalizadores biológicos y químicos

BIOLÓGICOS

QUÍMICOS

Son específicos para una determinada reacción química o para un grupo de reacciones químicas a para un sustrato o grupo de sustratos.

Aceleran cualquier reacción inespecíficamente.

Son proteínas (hay ARN Ribozimas con función enzimática.

Son sustancias simples finamente divididas.

Son saturables

No son saturables

Son altamente eficaces (son eficaces en bajas concentraciones).

Medianamente eficaces.

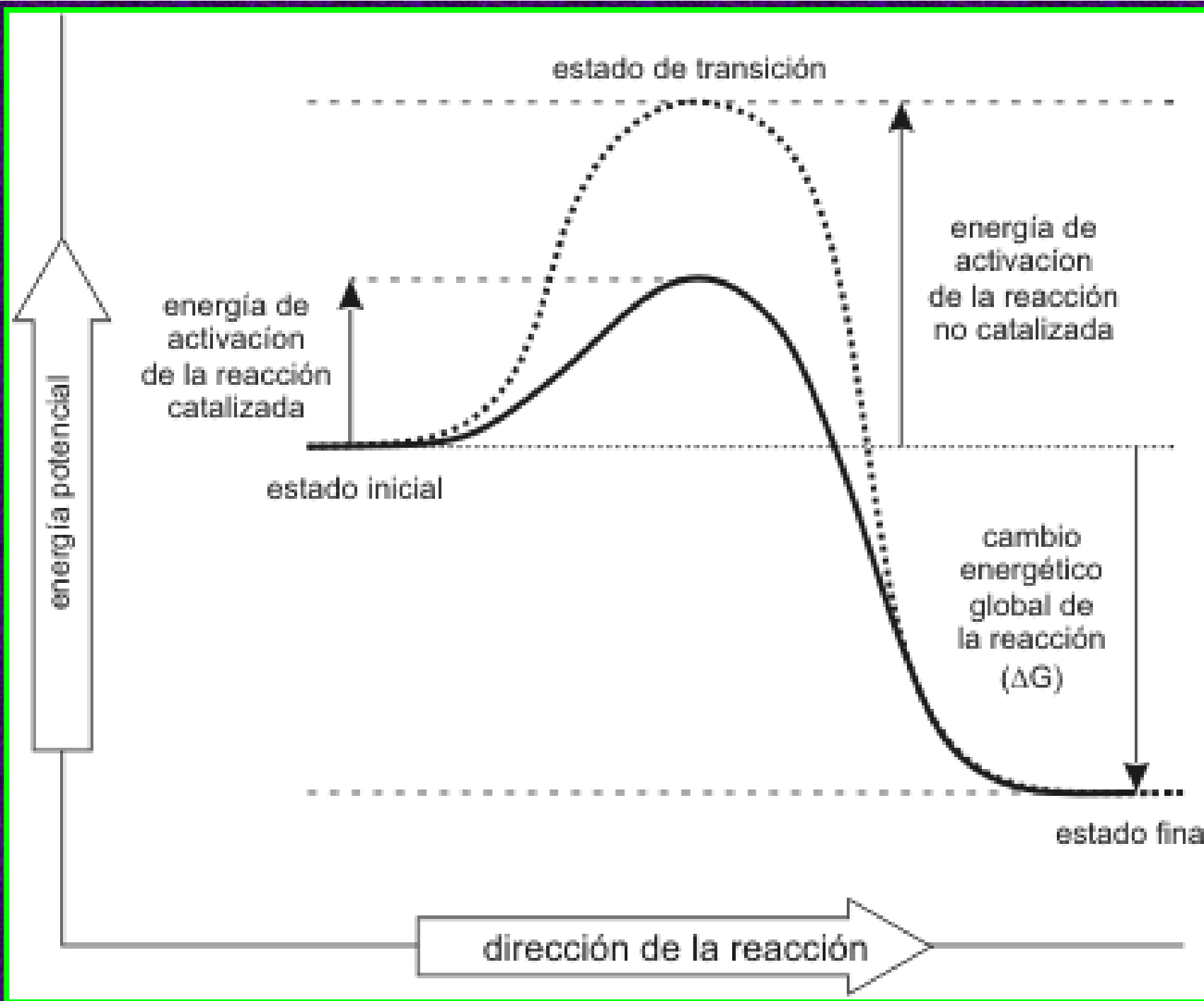
Puede ser regulada su actividad catalítica.

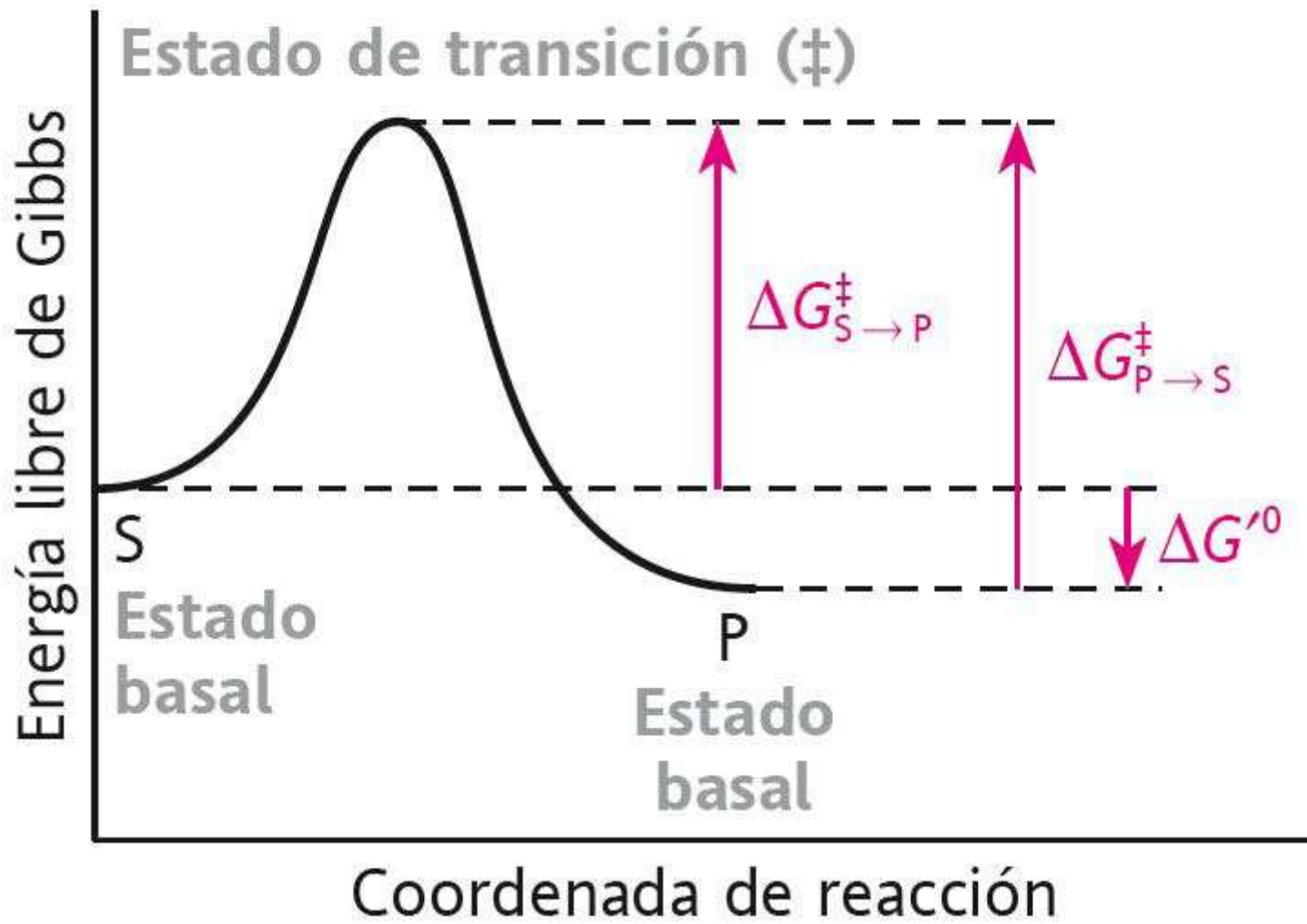
No pueden ser regulados.

Son termolábiles y su actividad puede variar también de acuerdo al pH

No son termolábiles ni se alteran con cambios de pH.

- **La catálisis enzimática presenta dos características:**
 - **La enzima no se modifica**
 - **La enzima aumenta la velocidad de reacción sin afectar las propiedades termodinámicas del sistema.**





CARACTERÍSTICAS DE LAS ENZIMAS

Son o contienen proteínas en su mayoría

Poseen gran poder catalítico

Son altamente específicas

Funcionan en soluciones acuosas

Funcionan a pH y temperaturas fisiológicas

Están reguladas

Permanecen inalteradas luego de la catálisis

Aplicaciones medicas

Deficiencia o ausencia de enzimas

Excesiva actividad de alguna enzima

Diagnóstico de enfermedades

Aplicaciones industriales

Laboratorios químicos y farmacéuticos

Alimentación, agricultura

Nomenclatura de las enzimas

Nombre común:

Se nombran según el nombre del sustrato sobre el cual actúan con el sufijo “-asa”

Ejemplos: ureasa, fosfatasa

En algunos casos el nombre no está relacionado ni con el sustrato ni con la reacción catalizada

Ejemplos : Catalasa, tripsina, pepsina

Según la Comisión Internacional de Enzimas (EC) de la IUBMB se unifica la nomenclatura enzimática con el fin de evitar imprecisiones y ambigüedades.

Se clasifican en 6 clases principales según el tipo de reacciones que Catalizan:

- 1- **OXIDO-REDUCTASAS**
- 2- **TRANSFERASAS**
- 3- **HIDROLASAS**
- 4- **LIASAS**
- 5- **ISOMERASAS**
- 6- **LIGASAS**

Nombre sistemático:

Nombre que indica más detalles de la reacción.

La enzima se designa con las letras EC (Enzyme Commission) seguido de un Número formado por 4 dígitos.

EC Clase. Subclase (tipo de sustrato, el donador de electrones o el enlace afectado). Grupo (aspectos específicos de la reacción, grupo funcional). Subgrupo (número concreto que ocupa la enzima).

Ejemplo nombre sistemático: ATP-glucosa-fosfotransferasa

Enzima que transfiere un grupo fosfato desde el ATP a la glucosa

Su número EC: EC 2.7.1.1

2. Clase transferasas

7.Subclase fosfotransferasa

1.grupo OH como aceptor

1.glucosa como aceptor del grupo fosfato



Es una transferasa

Cataliza la transferencia de grupo fosfato

EC: 2.7.1.2.

El aceptor del grupo fosfato es un grupo OH

El grupo OH está unido al C6 de la glucosa

Nombre sistemático	Nombre común	Número EC
ATP:D-glucosa-6-fosfotransferasa	Glucoquinasa	EC:2.7.1.2.
ATP:D-hexosa-6-fosfotransferasa	Hexoquinasa	EC:2.7.1.1.

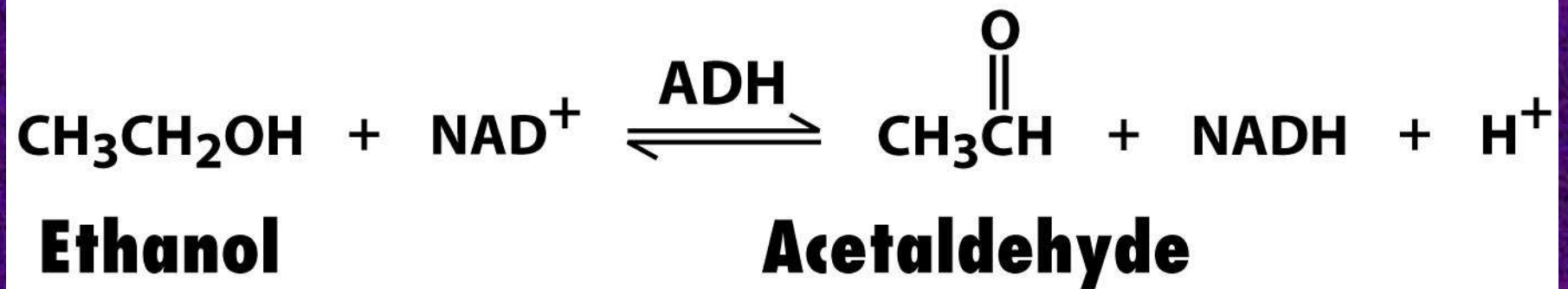
Clase	subclase
1. Oxidorreductasas	Deshidrogenasas, oxidasas, reductasas, peroxidasas, catalasas, oxigenasas, hidroxilasas
2. Transferasas	Transaldolasas y transcetolasas, fosforiltransferasas, quinasas, fosfomutasas
3. Hidrolasas	Esterasas, glucosidasas, peptidasas, fosfatasas, tiolasas, fosfolipasas, amidasas, desaminasas, ribonucleasas
4. Liasas	Descarboxilasas, aldolasas, hidratasas, deshidratasas, sintasas, liasas
5. Isomerasas	Racemasas, epimerasas, isomerasas, mutasas
6. Ligasas	Sintetasas, carboxilasas

OXIDO-REDUCTASAS

- Oxidaciones y reducciones biológicas
- Procesos de respiración y fermentación
- El principal agente oxidante (que se reduce en la reacción) es el oxígeno
- Subclases principales: **Deshidrogenasas y oxidasas**
- Catalizan la transferencia de electrones desde una molécula donante (el agente reductor) a otra aceptora (el agente oxidante).



- A es el reductor o donante de electrones y B es el oxidante o aceptor.
- Coenzimas: **NADH / NAD⁺, FAD / FADH₂.**



TRANFERASAS

- Transfieren grupos químicos (obtenidos de la ruptura de ciertas moléculas) de una molécula (dadora) a otra (aceptora).
- Catalizan la transferencia de grupos metilo, aldehído, glucosilo, amina, sulfato.
- La reacción de transferencia es la siguiente:



- A es el donador y B es el aceptor; el donador es, a menudo, una coenzima.
- Ejemplos: transaminasas (grupo amino), quinasas (transferencia de grupo fosfato a otra molécula desde el ATP) .

HIDROLASAS

- Catalizan la hidrólisis un enlace químico por agregado de H₂O.
- Transfieren un grupo –OH desde el agua a otro sustrato.
- La palabra hidrólisis se deriva de hidro 'agua' y lisis 'disolución'.
- El sustrato típico suele ser un enlace éster, fosfodiéster o amida.
- Catalizan la reacción siguiente:



- La nomenclatura sistemática denomina a estas enzimas como *sustrato hidrolasa*; no obstante, aún se emplea la nomenclatura tradicional de *sustratoasa*.
- Ej: la enzima ácido nucleico- hidrolasa se conoce como nucleasa.

- **Actúan sobre las grandes moléculas como la de glucógeno, las grasas y las proteínas.**
- **Verifican reacciones de hidrólisis con la consiguiente obtención de monómeros a partir de polímeros.**
- **Las enzimas digestivas desempeñan un papel esencial en los procesos digestivos, puesto que hidrolizan enlaces péptidicos, ésteres y glucosídicos.**
- **Ejemplos: glucosidasas, lipasas, esterasas.**
- **Pepsina, presente en el jugo gástrico.**
- **Tripsina y la quimiotripsina, segregada por el páncreas.**

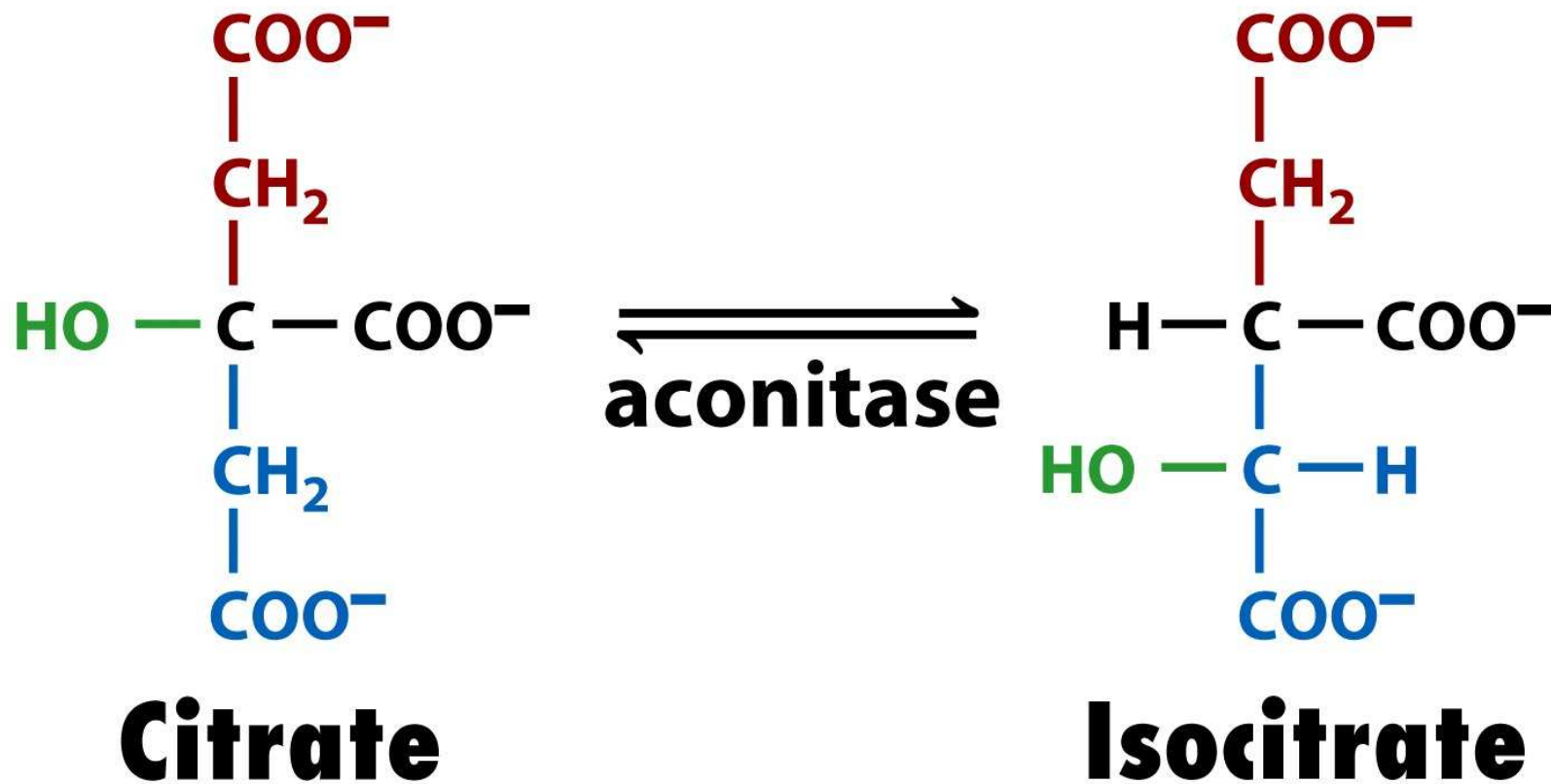
LIASAS

- **Catalizan escisión reversible de enlaces carbono-carbono como aldolasas.**
- **Como consecuencia de la ruptura del enlace, se generan nuevos dobles enlaces o anillos.**
- **Otras forman y rompen enlaces C-N o liberan CO₂ (descarboxilasas) y enlaces carbono-oxígeno como las deshidratasas.**
- **En el caso de formación de enlaces, NO requieren energía del ATP y se denominan sintasas. (citrato sintasa)**
- **Ejemplos: descarboxilasas, aldolasas, deshidratasas, sintasas**

ISOMERASAS

- **Catalizan reacciones que suponen un movimiento de un grupo o un doble enlace dentro de la molécula.**
- **Actúan sobre determinadas moléculas obteniendo de ellas sus isómeros de función o de posición.**
- **Suelen actuar en procesos de interconversión.**
- **Ejemplos: epimerasa. Transforman una molécula de glucosa en una de fructosa.**
- **Si se cambia la posición de un grupo fosfato se llama mutasa**
- **Las isomerasas cis – trans modifican la configuración geométrica a nivel de un doble ligadura.**

Actúan sobre determinadas moléculas obteniendo de ellas sus isómeros de función o de posición. Suelen actuar en procesos de interconversión.



LIGASAS

- **Enzimas capaces de catalizar la unión entre dos moléculas de gran tamaño, dando lugar a un nuevo enlace químico.**
- **Formación de enlaces Carbono – Carbono pero a diferencia de las liasas requieren energía que obtienen de la hidrólisis de ATP y se denominan sintetetasas.**

El nombre común de las enzimas **LIGASA** también incluyen la **ligasa de ADN**, una enzima usada comúnmente en laboratorios de biología molecular para unir fragmentos de ADN.

Otros nombres comunes para llamar a las ligasas son:

- **sintetasa** porque es usada para sintetizar nuevas moléculas
- **carboxilasa** cuando son usadas para añadir dióxido de carbono a una molécula.
- Ej: sintetetasas, carboxilasas, polimerasas

A cada enzima le corresponde un número de 4 dígitos

E.C. Number	Systematic Name and Subclasses
1	<i>Oxidoreductases</i> (oxidation–reduction reactions)
1.1	Acting on CH—OH group of donors
1.1.1	With NAD or NADP as acceptor
1.1.3	With O ₂ as acceptor
1.2	Acting on the $\begin{array}{l} \diagup \\ \text{C}=\text{O} \\ \diagdown \end{array}$ group of donors
1.2.3	With O ₂ as acceptor
1.3	Acting on the CH—CH group of donors
1.3.1	With NAD or NADP as acceptor
2	<i>Transferases</i> (transfer of functional groups)
2.1	Transferring C-1 groups
2.1.1	Methyltransferases
2.1.2	Hydroxymethyltransferases and formyltransferases
2.1.3	Carboxyltransferases and carbamoyltransferases
2.2	Transferring aldehydic or ketonic residues
2.3	Acytransferases
2.4	Glycosyltransferases
2.6	Transferring N-containing groups
2.6.1	Aminotransferases
2.7	Transferring P-containing groups
2.7.1	With an alcohol group as acceptor

Enzimas formadas por:

- **parte proteica o apoenzima** que es inactiva
- **parte no proteica o cofactor o grupo prostético** que se une de forma covalente a la apoenzima formando la
- **holoenzima o enzima activa.**

Holoenzima = apoenzima + cofactor



Apoenzima
(porción proteica)

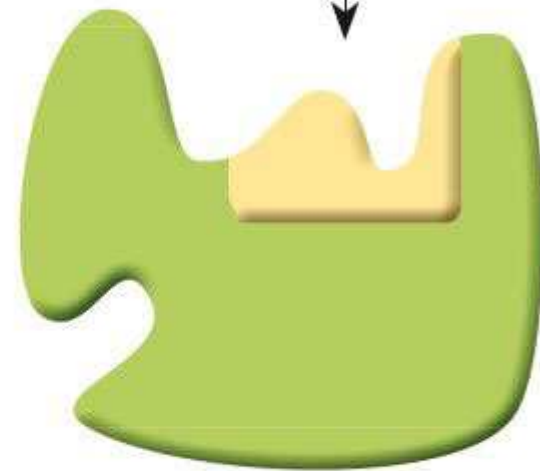
+



Cofactor o coenzima
(porción no proteica)



Sustrato



Holoenzima
(toda la enzima)

- **Los cofactores pueden ser:**
- **Orgánicos:** llamados coenzimas
- **Inorgánicos:** iones como el hierro, magnesio, cobre, manganeso, cinc
- La molécula sobre la cual actúan se llama sustrato
- Por lo general las reacciones son reversibles

Vitamina	Función	Déficit	Fuente alimentaria
Vitamina C (Ácido ascórbico)	Antioxidante, transportadora de O ₂ y H ₂ , coenzima en la síntesis de colágeno, coenzima en la síntesis de noradrenalina	Escorbuto	Kiwi, naranjas, fresas, perejil, pimiento rojo, col de bruselas, limón, coliflor, patatas, espinacas, etc.
B ₁ (Tiamina)	Promueve el metabolismo de hidratos de carbono y la función nerviosa del SNC	Beriberi. Problemas conductuales: pérdida de apetito, apatía, depresión	Productos de grano integral, huevos, frutos secos, carnes de cerdo o vaca, leguminosas
B ₂ (Riboflavina)	Precursor de coenzimas FAD y FMAn. Promueve oxidación de grasas y de hidratos de carbón. Mejora la salud de la piel, uñas y cabello	Falta de energía, nerviosismo, depresión, trastornos oculares, bucales y cutáneos, etc.	Carnes, pescados y alimentos ricos en proteínas en general; frutos secos, cereales integrales y legumbres
B ₃ (Niacina)	Precursor de coenzimas NAD y NADP. Promueve glucólisis anaeróbica y lipólisis. Mejora la salud de la piel, uñas y cabello	Pelagra o síndrome de las tres D (demencia, dermatitis, diarrea)	Carne, vísceras, pescado, cereales integrales, quesos, huevos y alimentos ricos en triptófano
B ₅ (Pantoténico)	Componente esencial del CoA en la transferencia de grupos «-acilo» (oxidación de hidratos de carbono y grasas)	Náuseas, fatiga, depresión y pérdida de apetito	Vísceras, carne, lácteos, huevos, cereales integrales, legumbres, verduras, etc.

B ₆ (Piridoxina)	Precursor de la coenzima fosfato piridoxal. Promueve el metabolismo de proteínas, la formación de hemoglobina y glóbulos rojos, la glucogenólisis y gluconeogénesis	Irritabilidad, convulsiones, anemia, dermatitis, lesiones en la mucosa oral, etc.	Cereales integrales, nueces, frutos secos, plátanos, yema de huevo, patatas, verduras, carnes y pescados
B ₈ (Biotina)	Precursor de coenzimas para transferir CO ₂ . Promueve el metabolismo de los hidratos de carbono, grasas y proteínas	Náuseas, fatiga y rasguños en la piel	Carne, leche, yema, cereales integrales, legumbres, verduras, etc.
B ₉ (Ácido fólico)	Necesaria para la formación de proteínas estructurales y hemoglobina. El ácido fólico es importante en las mujeres embarazadas. La ingesta adecuada de folato durante el período preconcepcional, el tiempo justo antes y después de la concepción, ayuda a proteger al bebé contra un número de malformaciones congénitas incluyendo defectos del tubo neural. Es efectivo en el tratamiento de ciertas anemias y la psilosis	Las causas de su carencia son la mala alimentación y un déficit de hidratación del folato génico que es asintomático hasta que la mujer se queda embarazada	Vísceras de animales, verduras de hoja verde, legumbres, levadura de cerveza y en frutos secos y granos enteros, como almendras, así como en alimentos enriquecidos

B ₁₀ (Ácido paraminobenzoico)	Precursor de coenzimas de la síntesis de ADN y ARN. Promueve la formación de hemoglobina y glóbulos rojos y blancos, síntesis de purinas y aminoácidos	Anemia, fatiga, diarrea, desórdenes digestivos, infecciones, problemas fetales durante el embarazo	Verduras verdes, levadura de cerveza, cereales integrales, frutos secos, carnes y patatas
B ₁₂ (Cobalamina)	Precursor de coenzimas que transportan grupo metilo, importantes en la síntesis de purinas para el ADN y ARN. Formación de glóbulos rojos y blancos y regeneración de los tejidos	Anemia, fatiga, daño nervioso, parálisis, infecciones. Provoca un cuadro grave, denominado anemia megaloblástica	Carne, pescado, vísceras, huevos, lácteos, mariscos, cereales, etc.

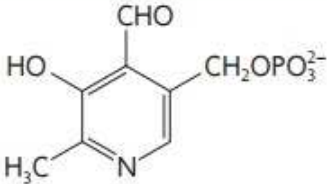
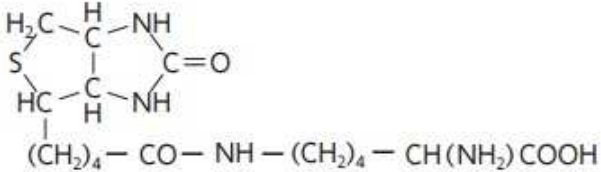
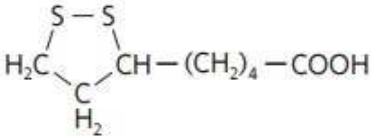
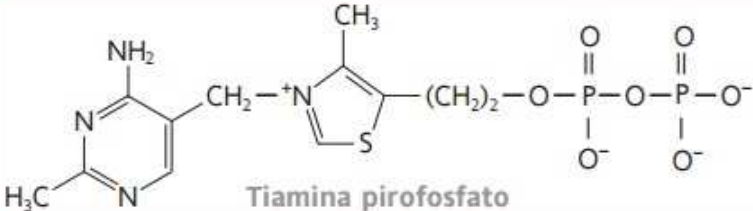
COENZIMA	UNIÓN DE LA APOENZIMA	REACCIÓN CATALIZADA POR LA HOLOENZIMA	PRECURSOR
 <p>Piridoxal fosfato</p>	Base de Schiff a un residuo de Lys	Transaminación, descarboxilación, racemización. Ej.: Glucógeno fosforilasa	Piridoxina (Vit. B ₆)
 <p>Biocitina</p>	Enlace amida con residuo de Lys	Carboxilación. Ej.: Piruvato carboxilasa	Biotina
 <p>Ácido lipoico</p>	Enlace amida con residuo de Lys	Transferencia de grupos acilo. Ej.: Piruvato deshidrogenasa	No se requiere en la dieta
 <p>Tiamina pirofosfato</p>	Unión no covalente	Descarboxilación de 2-oxo-ácidos. Ej.: Piruvato deshidrogenasa	Tiamina (Vit. B ₁)

Tabla 8-2. Ejemplos de cofactores

Cofactor	Enzima
Cu^{2+}	Citocromo oxidasa, amino oxidasa
Fe^{2+} o Fe^{3+}	Citocromo oxidasa, peroxidasa, catalasa
K^{+}	Piruvato quinasa
Mg^{2+}	Hexoquinasa, glucosa 6 fosfatasa, piruvato quinasa
Mn^{2+}	Arginasa, ribonucleótido reductasa
Ni^{2+}	Ureasa
Se	Glutación peroxidasa
Zn^{2+}	Alcohol deshidrogenasa, carboxipeptidasas A y B

Iones Metales

Cu^{2+}

Zn^{2+}

Mg^{2+}

K^{+}

Enzimas

Citocromo oxidasa

Anhidrasa Carbonica

Hexoquinasa, piruvato kinasa

Piruvato kinase

Coenzimas

Tiamin-pirofosfato (TPP)

Flavin adenin dinucleotido (FAD)

Nicotinamida adenin dinucleotido (NAD)

Coenzima A (CoA)

Fosfato de piridoxal(PP)

Vitamin B_{12}

Biotina

Tetrahidrofolato (THF)

Enzimas

Pyruvate dehydrogenase

Succinate dehydrogenase

Alcohol dehydrogenase

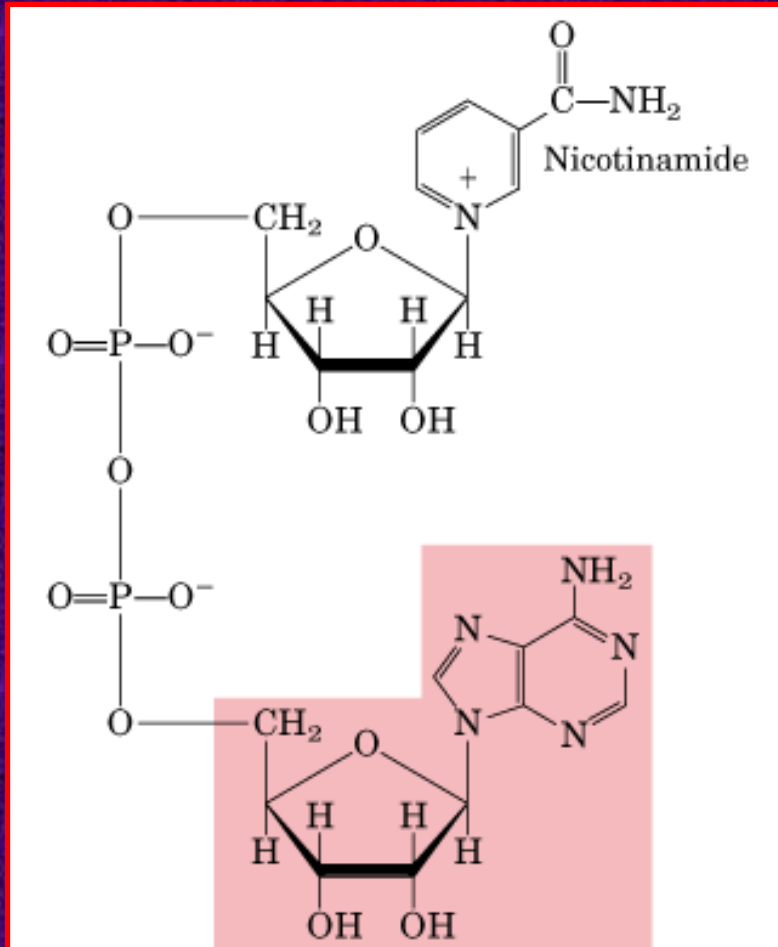
Acetil-CoA carboxylase

Aspartate aminotransferase

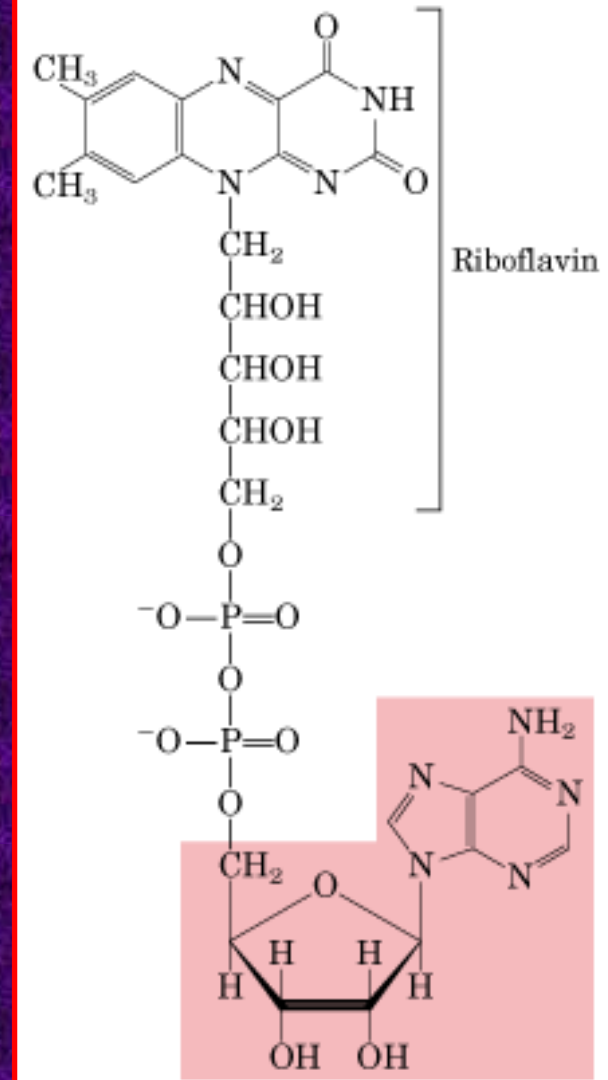
Metilmalonil-CoA mutase

Propionyl-CoA carboxylase

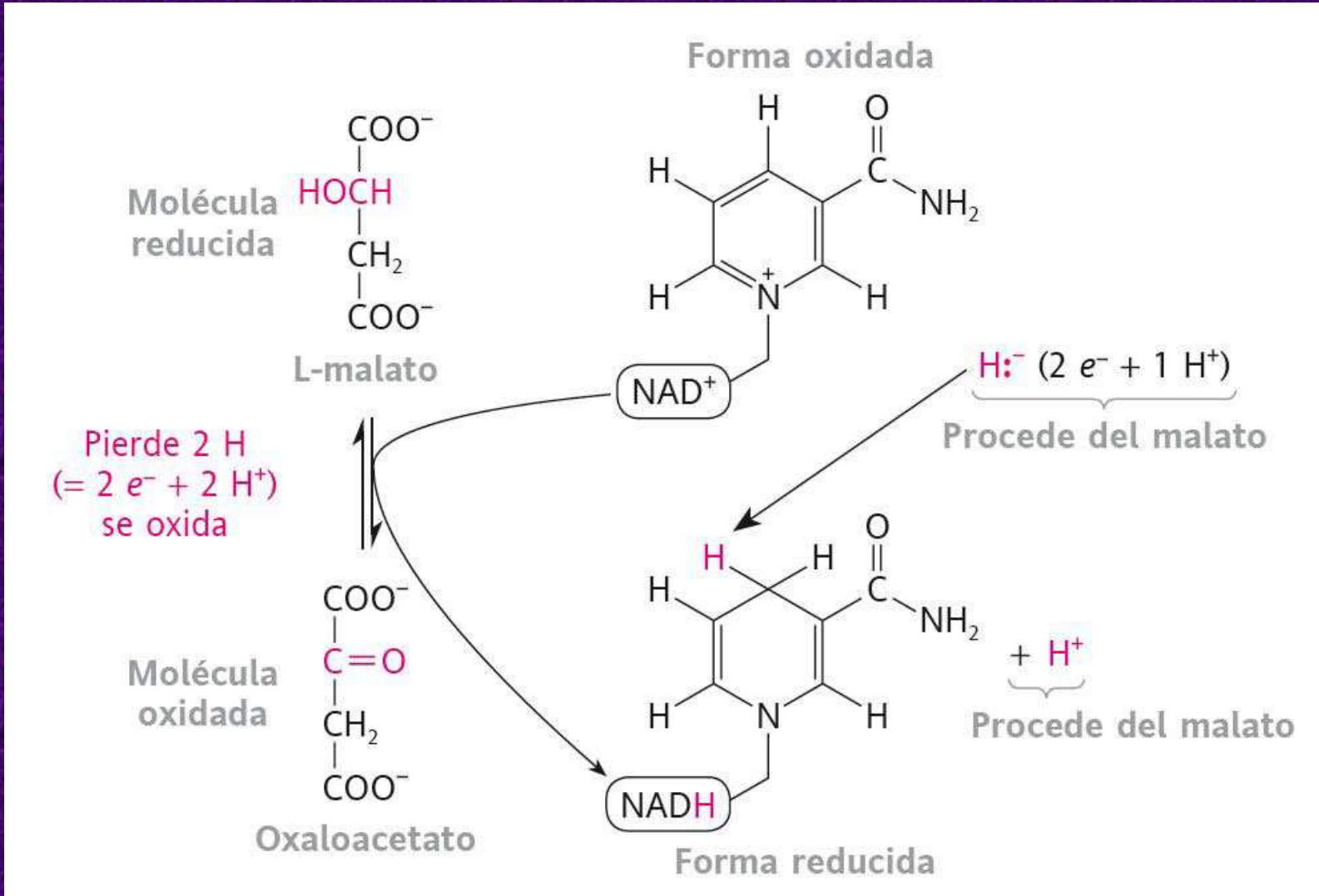
Thymidylate synthase



Nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺)



Flavin adenine dinucleotide (FAD)



ESPECIFICIDAD Y PODER CATALITICO

- La especificidad de la enzima reside en el centro de fijación del sustrato.
- Es una región que se encuentra en la superficie de la enzima denominada centro de fijación del sustrato o centro activo.
- La estructura terciaria de la proteína está plegada de tal manera que se origina una región con las dimensiones moleculares idóneas para acomodar un sustrato específico.

MECANISMOS DE ACCIÓN ENZIMÁTICA

Durante la catálisis las enzimas forman un complejo con el sustrato



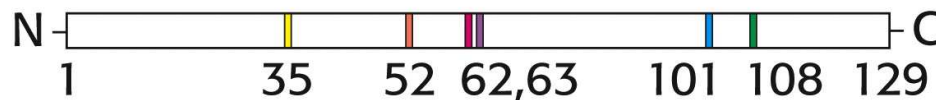
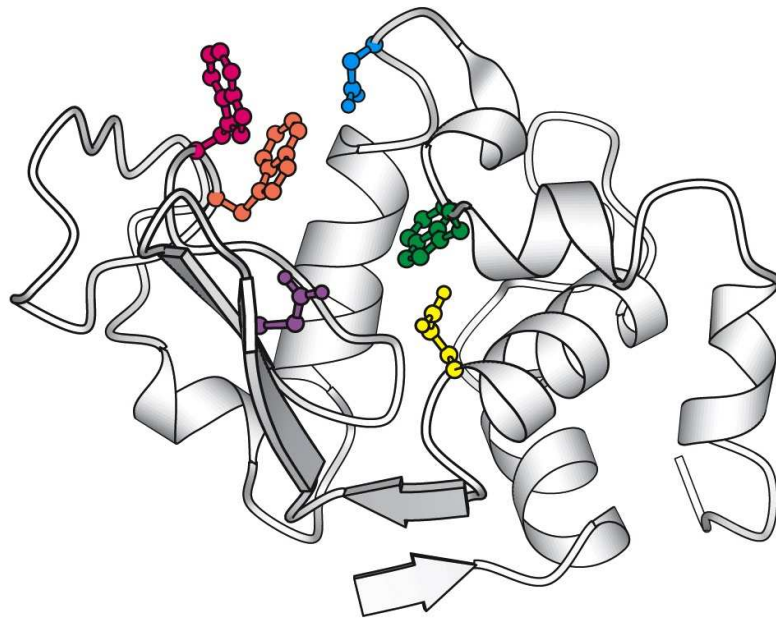
Centro activo

Es el lugar en la enzima en donde se une el sustrato

Esta formado por aminoácidos que pueden estar distanciados en la estructura primaria

Esta situado en la superficie de la enzima

Contiene aminoácidos catalíticos



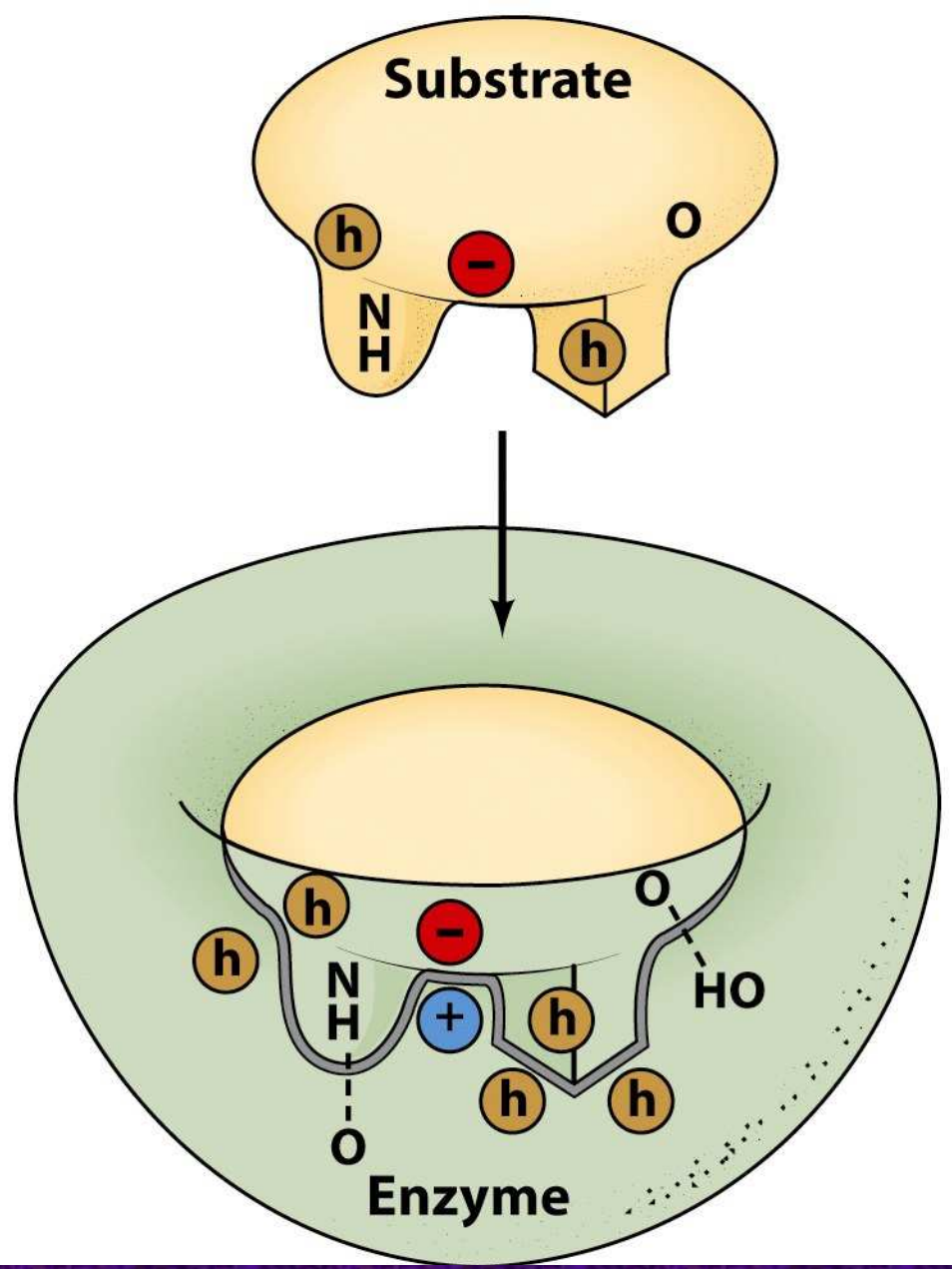
RELACIÓN ENTRE LA CONFORMACIÓN Y LA ACTIVIDAD DE LAS ENZIMAS

El sustrato y el centro activo interactúan mediante fuerzas químicas Van der Waals, puentes de hidrógeno, etc.

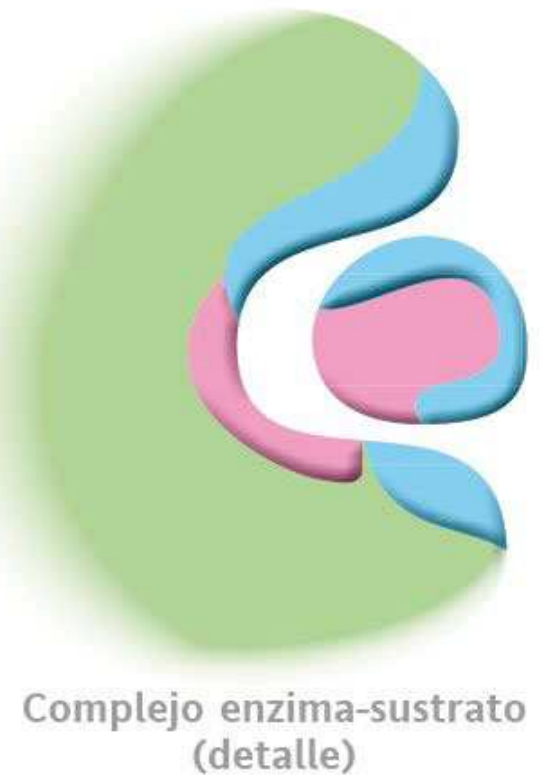
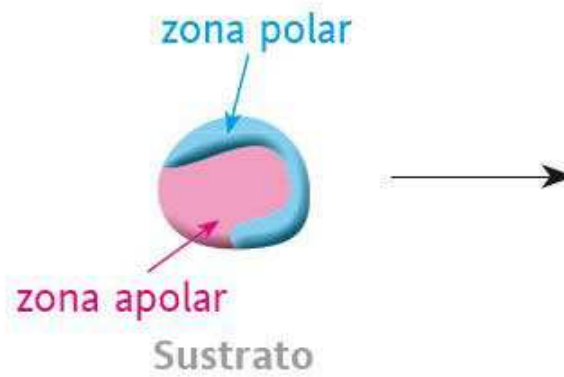
Ciertos aminoácidos de la proteína que están en el centro activo tienen afinidad química por determinados grupos funcionales presentes en el sustrato.

Los aminoácidos del centro activo pueden estar muy distantes unos de otros en la secuencia primaria de la proteína, pero debido a los pliegues y repliegues de la estructura terciaria, quedan localizados, espacialmente, muy próximos unos de otros y, sobre todo, formando una especie de hueco donde encajará el ligando.

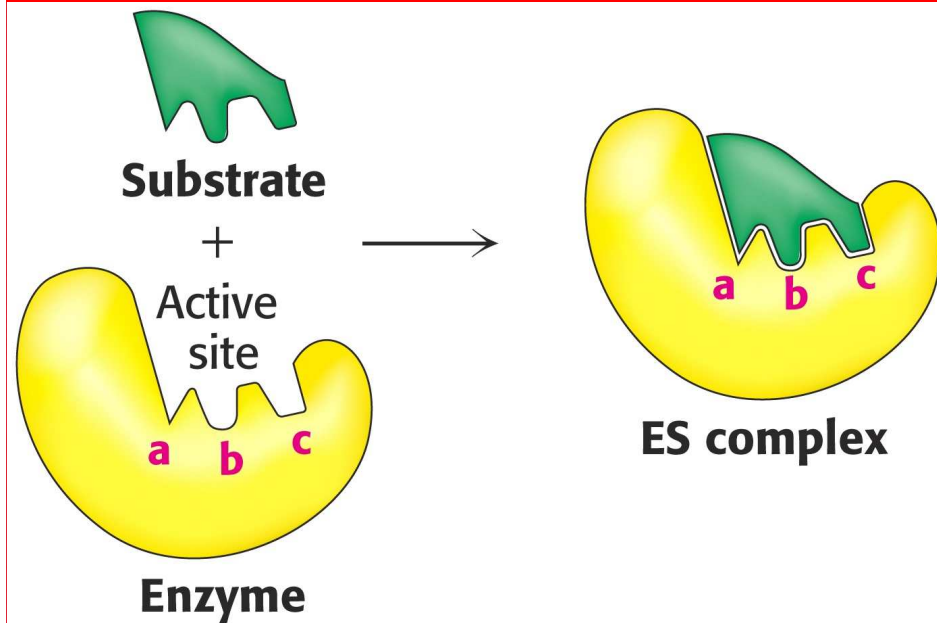
El resto de los aminoácidos de la proteína tienen como misión mantener la forma y la estructura que se precisa para que el centro activo se encuentre en la posición correcta.



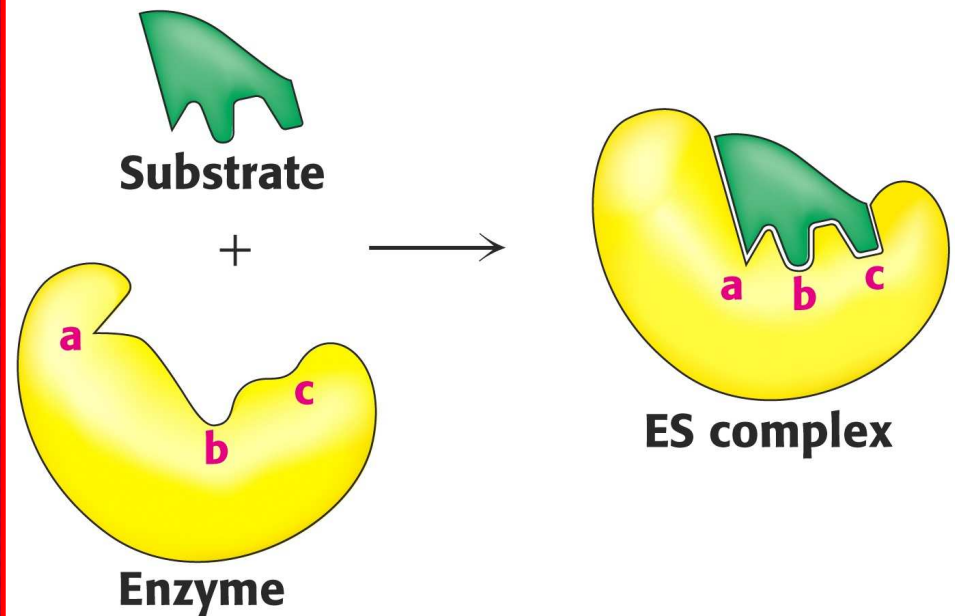
- **La conformación de una enzima y por lo tanto su centro activo y su función pueden alterarse si se producen cambios en la estructura primaria.**
- **La conformación puede también alterarse si la proteína se desnaturaliza por la acción de agentes como el calor, los ácidos y las bases fuertes.**
- **La desnaturalización irreversible destruye el centro activo y la enzima no puede ya realizar su función.**



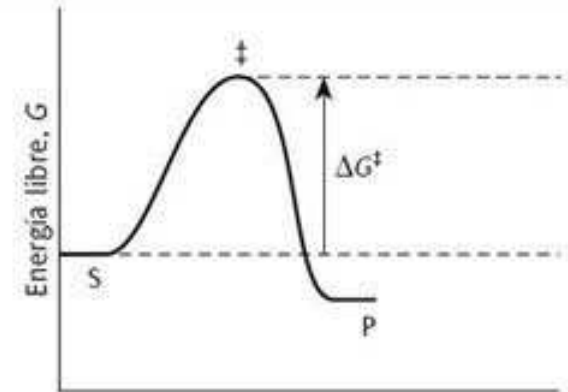
Modelo llave y cerradura



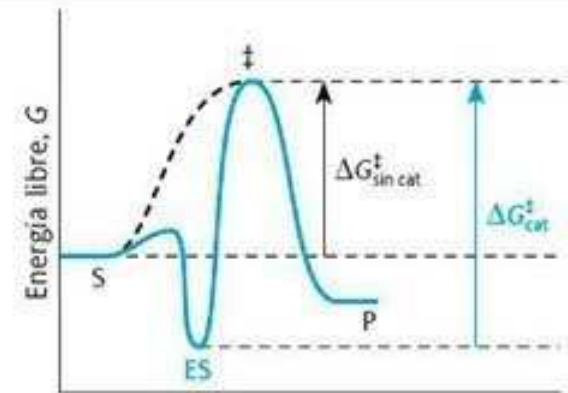
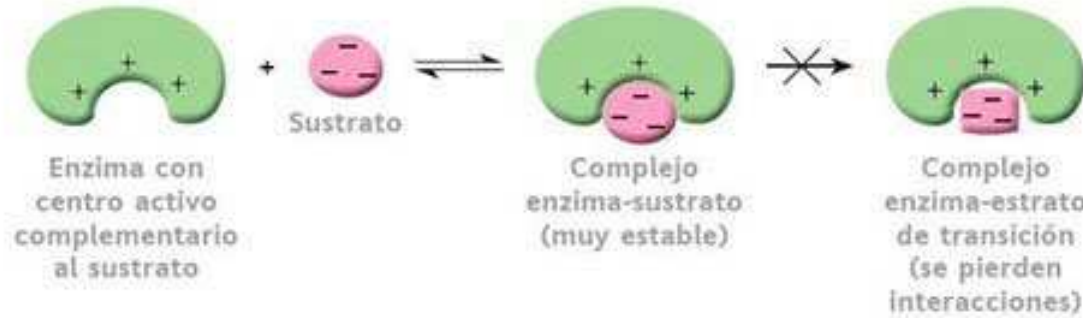
Modelo de acoplamiento inducido



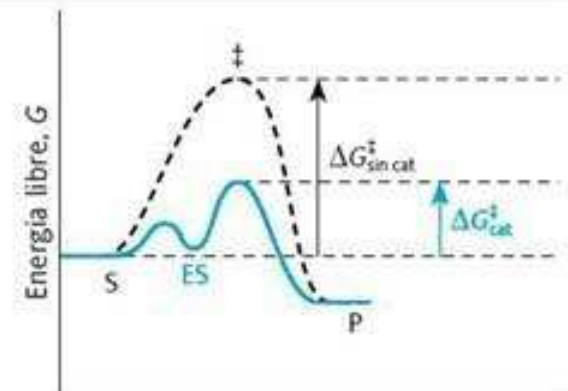
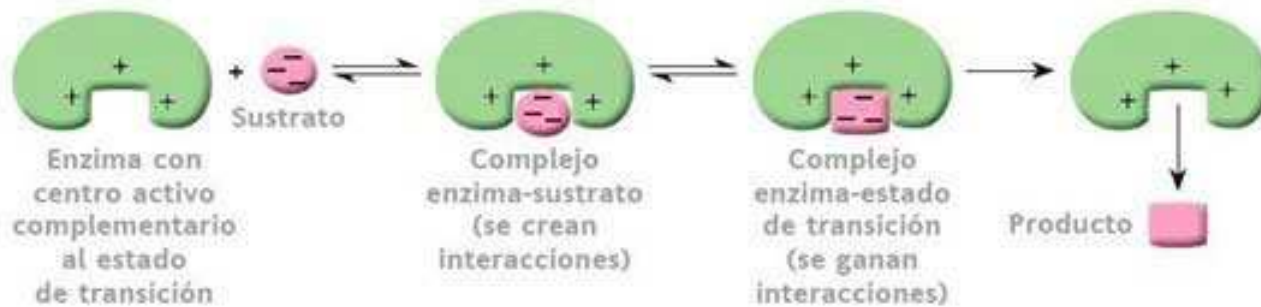
(a) Reacción sin catalizar



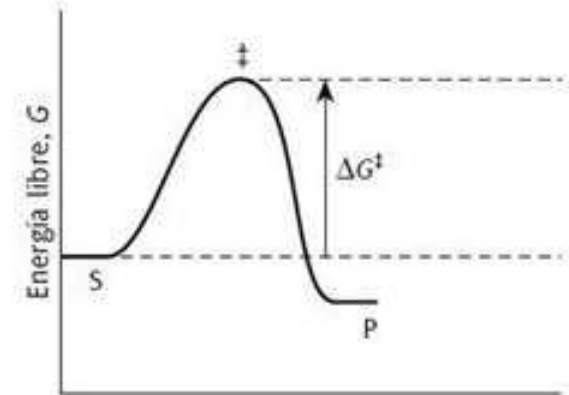
(b) Modelo de Fischer (llave y cerradura)



(c) Modelo del estado de transición

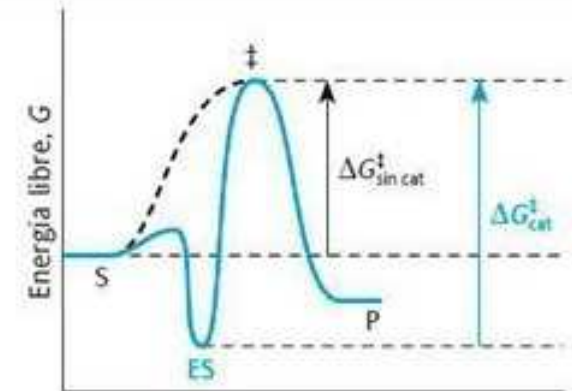
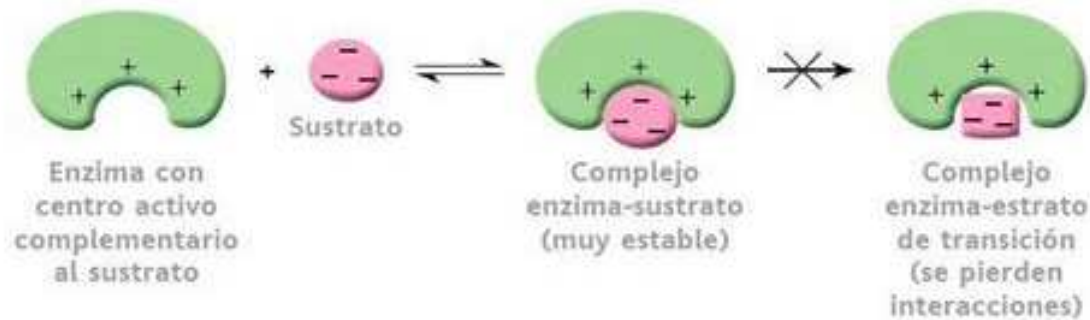


Reacción sin catalizar

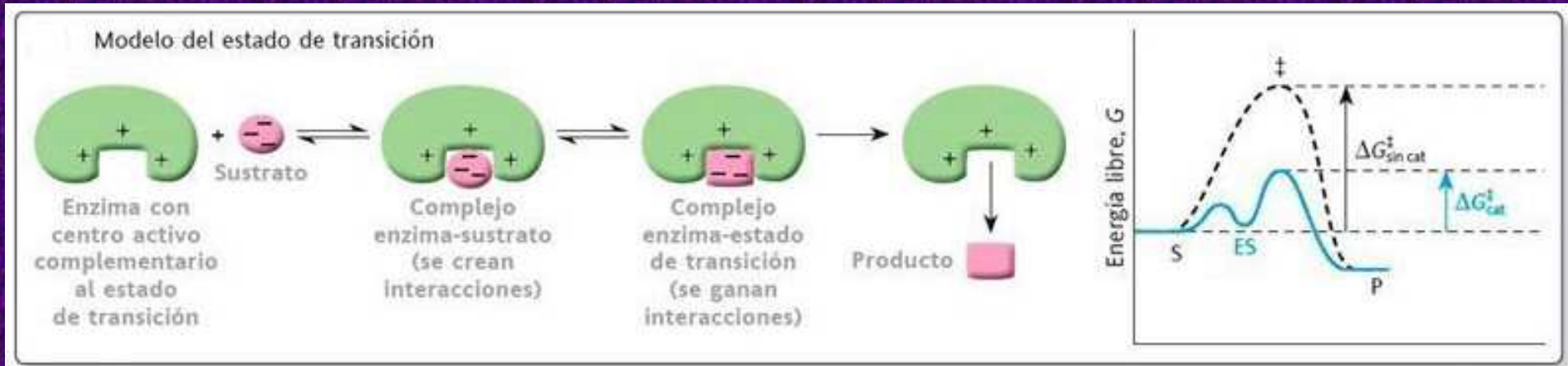


- **Reacción sin catalizar en la que el sustrato pasa por la formación de un estado de transición inestable.**

Modelo de Fischer (llave y cerradura)



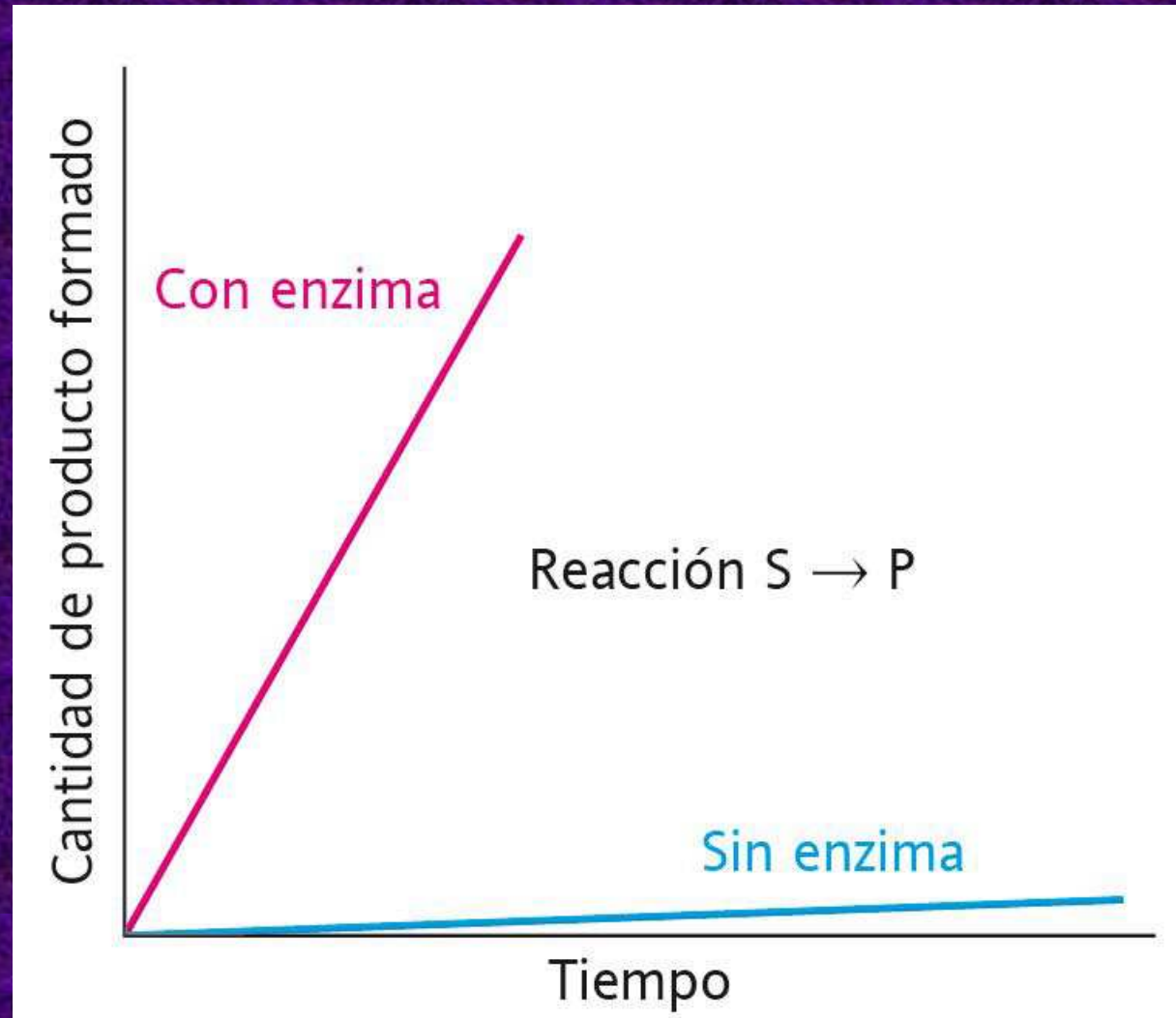
- En la reacción en la que el centro activo de la enzima es complementario al sustrato se forma un complejo ES muy estable que no favorece que el sustrato se transforme en el estado de transición, porque se perderían interacciones y sería energéticamente desfavorable.



- Si la enzima es complementaria al estado de transición, se forma un primer complejo ES con unas interacciones leves que se verían mejoradas cuando el sustrato se transforma al estado de transición. La reacción se ve favorecida y el estado de transición se convierte en producto; y al perder las cargas negativas, pierde afinidad por la enzima, de la que se disocia.

Mecanismo de catálisis enzimática

- El sustrato debe ser activado para que la reacción se lleve a cabo.
- Las enzimas disminuyen las necesidades de energía de activación.
- Energía de activación: cantidad de energía que se requiere para activar el sustrato.
- **La enzima no se modifica y permanece disponible para otra reacción**



Curva de progreso de una reacción catalizada y no catalizada.

Para un mismo tiempo, la cantidad de producto obtenido es muy superior en la reacción catalizada.

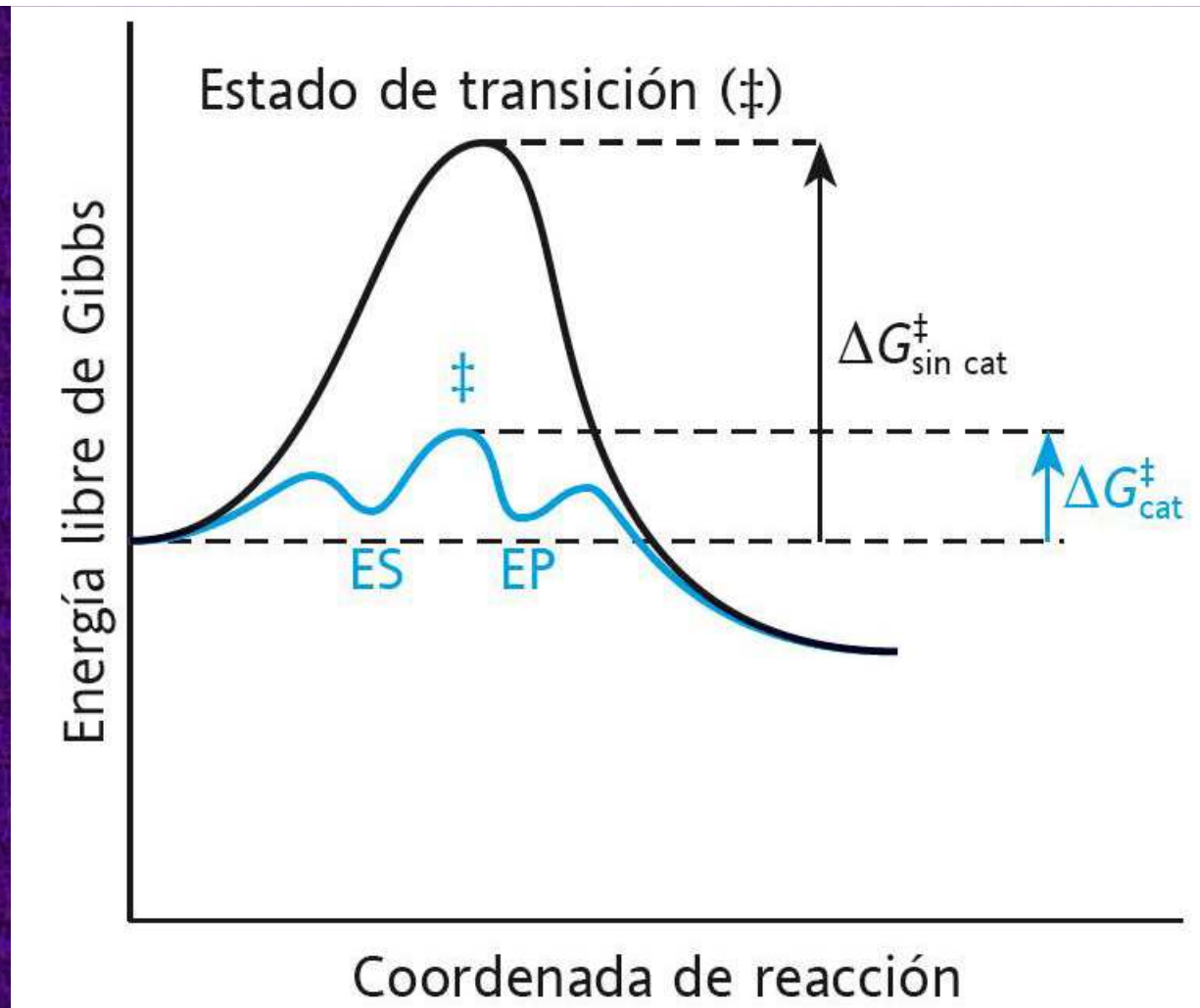


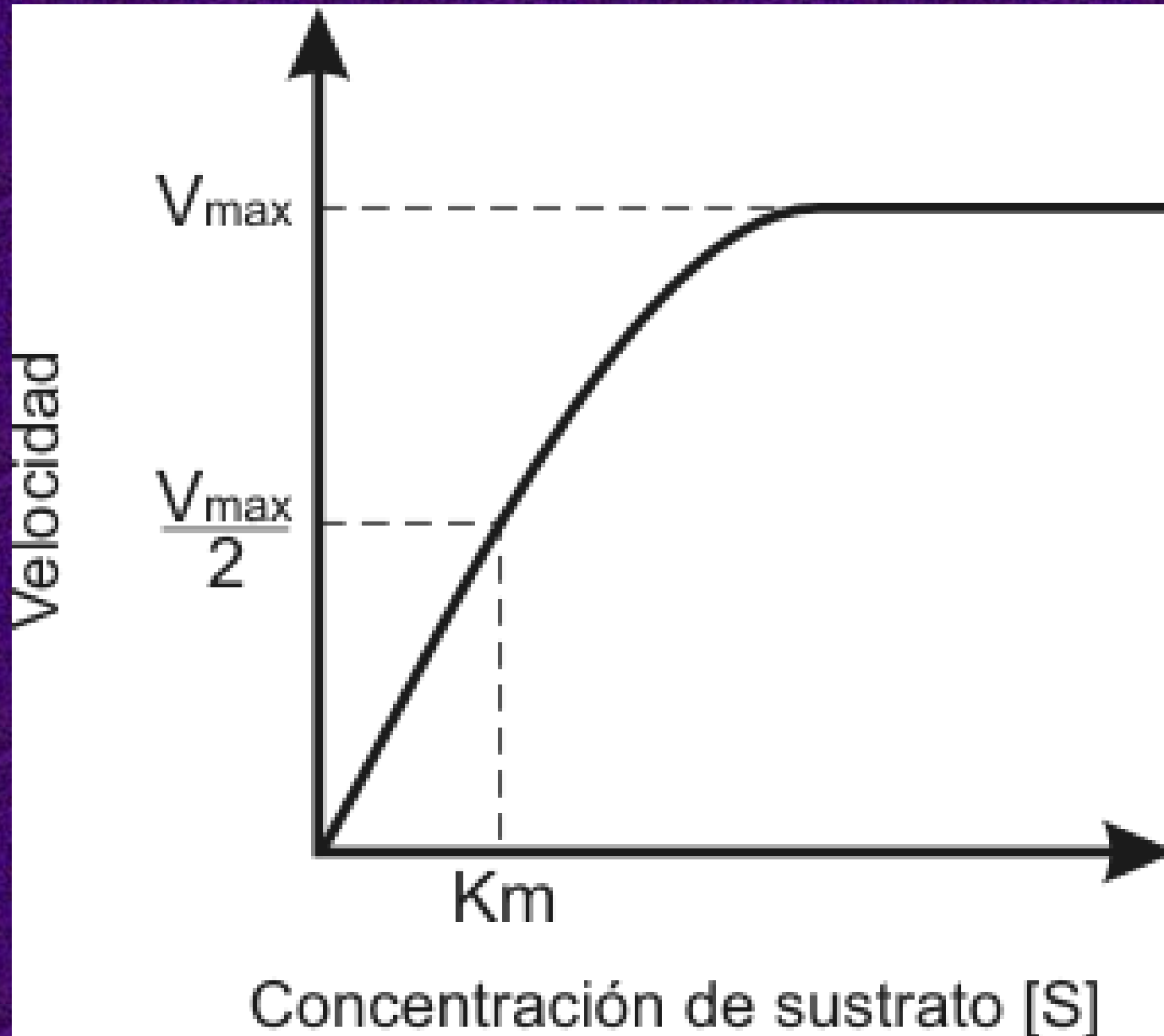
Diagrama del curso de una reacción catalizada y sin catalizar.

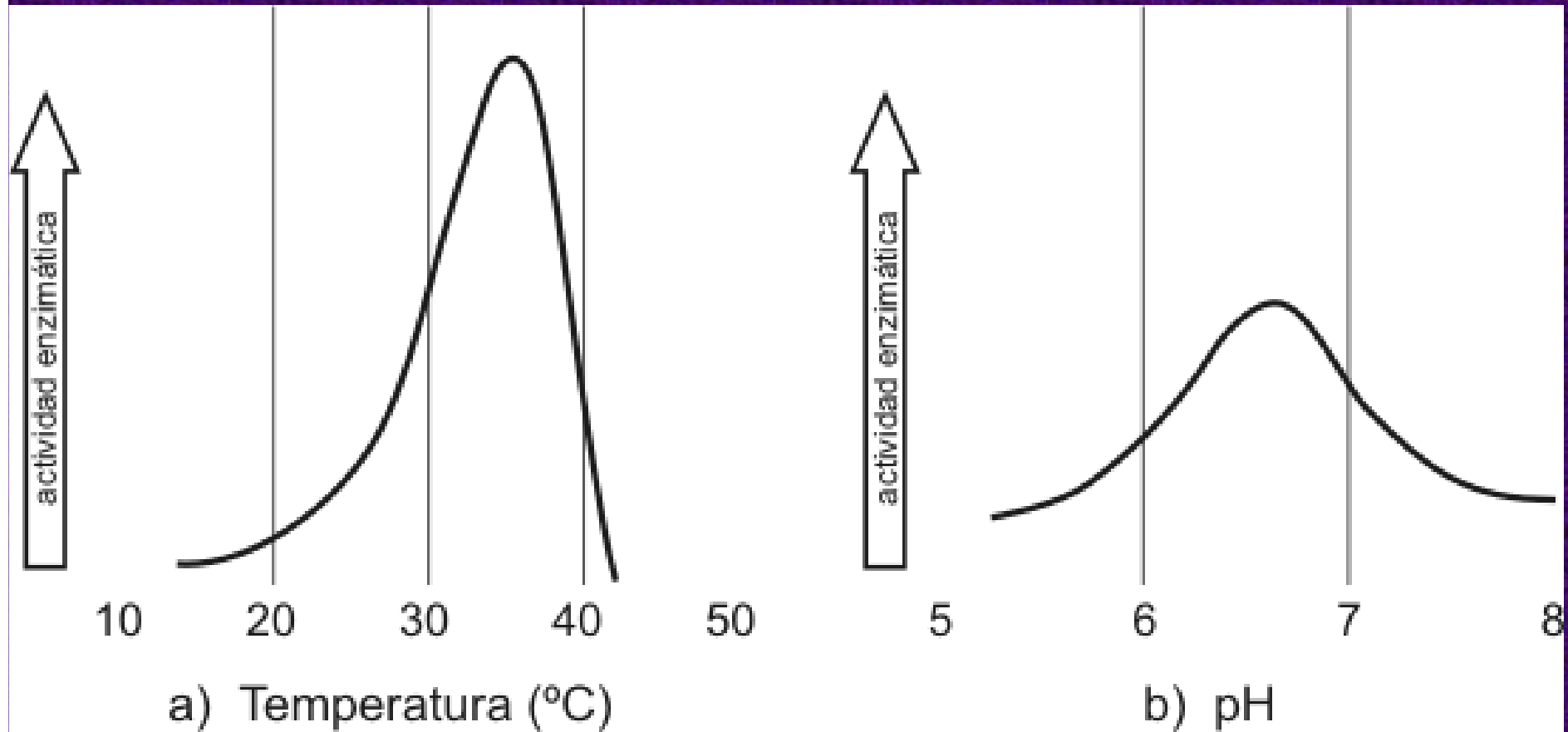
En la reacción catalizada los intermediarios ES y EP ocupan valores mínimos en el diagrama del curso de la reacción. Como resultado, la energía de activación de la reacción catalizada $\Delta G_{\text{cat}}^{\ddagger}$ es menor que la de la misma reacción sin catalizar $\Delta G_{\text{sin cat}}^{\ddagger}$

La actividad de la enzima varía con:

- Sustrato
- Temperatura
- pH

- Concentración de sustrato





a) Temperatura (°C)

b) pH

ISOENZIMAS

- Enzimas con estructura cuaternaria (varias subunidades).
- Presentan **formas moleculares diferentes** según el tipo de tejido, órgano.(varían las subunidades).
- **Catalizan la misma reacción.**
- Se distinguen por su movilidad electroforética

Creatina –quinasa

Dímero. Subunidades M y B.

3 isoenzimas

Lactato deshidrogenasa

Tetrámero. Subunidades H y M.

5 isoenzimas

La determinación en el laboratorio de las distintas isoenzimas en plasma tiene utilidad diagnóstica en medicina.