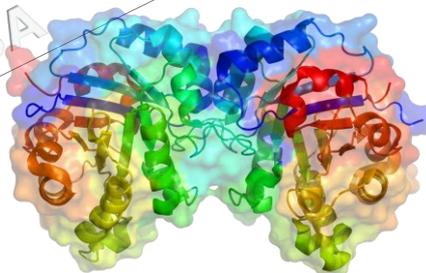


# CATALIZADORES BIOLÓGICOS: ENZIMAS

Cátedra de Bioquímica  
FOUBA



**ESTRUCTURA DE LA TRIOSAFOSFATO ISOMERASA**  
*esta proteína es una eficiente enzima involucrada en la vía glucolítica.*

# ENZIMAS

- ▣ **Características generales**
- ▣ **Cinética química**
- ▣ **Nomenclatura**
- ▣ **Centro activo**
- ▣ **Cofactores**
- ▣ **Factores que modifican la actividad enzimática**
- ▣ **Cinética enzimática**
- ▣ **Inhibidores enzimáticos**
- ▣ **Las enzimas séricas en el diagnostico clínico**

Cátedra de Bioquímica - FOUBA

## CARACTERÍSTICAS GENERALES

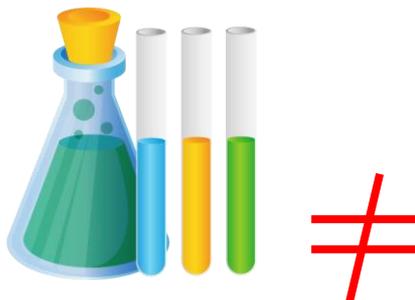
### Estructura química:

la mayoría son proteínas,  
una minoría son moléculas de **ARN**.

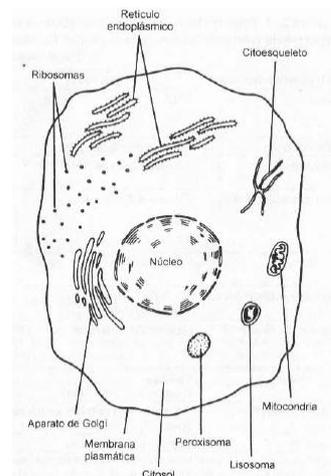
- Una enzima puede estar formada por:
  - una sola cadena polipeptídica,
  - por varias subunidades
  - o formar parte de un complejo multienzimático.
- Son indispensables para la vida.
- Son eficaces catalizadores.

Cátedra de Bioquímica - FOUBA

## Reacciones bioquímicas



¿temperatura, pH, eficacia catalítica, control?



Cátedra de Bioquímica - FOUBA

# catalizadores biológicos

- ❑ **Aceleran la velocidad de la reacción química**
- ❑ **Disminuyen la energía de activación**
- ❑ **No modifican el cambio neto de energía**
- ❑ **No forman parte de los productos finales**
- ❑ **No se desgastan en el proceso, son reutilizables**
- ❑ **Aceleran la llegada al equilibrio, pero no varía su posición**

Cátedra de Bioquímica - FOUBA



*La buena salud exige no sólo que se produzcan reacciones químicas sino que sucedan a velocidades adecuadas, compatibles con la vida.*

**=> Las enzimas aceleran la velocidad de la reacción química**

Cátedra de Bioquímica - FOUBA

# CINÉTICA QUÍMICA

**Estudia: mecanismo y la velocidad con que interaccionan las moléculas en condiciones determinadas**

Cátedra de Bioquímica - FOUBA

## CINETICA QUIMICA:

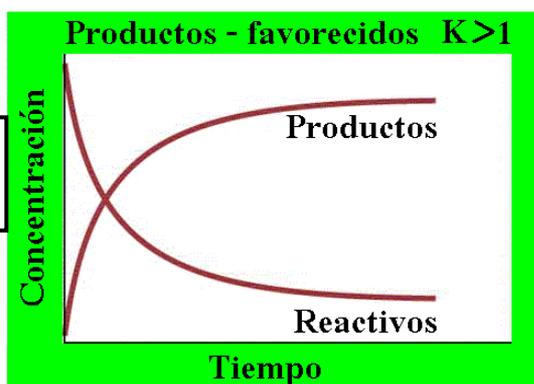
**Velocidad de una reacción química se puede medir como:**

- a) **Velocidad de formación de sus productos**
- b) **Velocidad de consumo de sus reactivos**

$$V_r = k [\text{Reactantes}]^n$$

Número de orden

Cátedra de Bioquímica - FOUBA



$$V_r = k \left( \text{Reactantes} \right)^n$$

(velocidad de reacción) = (constante) x (cc de reactivos)<sup>n</sup>

donde "n" es el orden de la reacción

□ si n = 1 ----> reacción de primer orden:

$$V_r = k \cdot [A]$$

□ si n = 2 ----> reacción de segundo orden:

$$V_r = k \cdot [A] [B] \quad \text{ó}$$

$$V_r = k [A]^2$$

□ si n = 0 ----> reacción de orden cero.

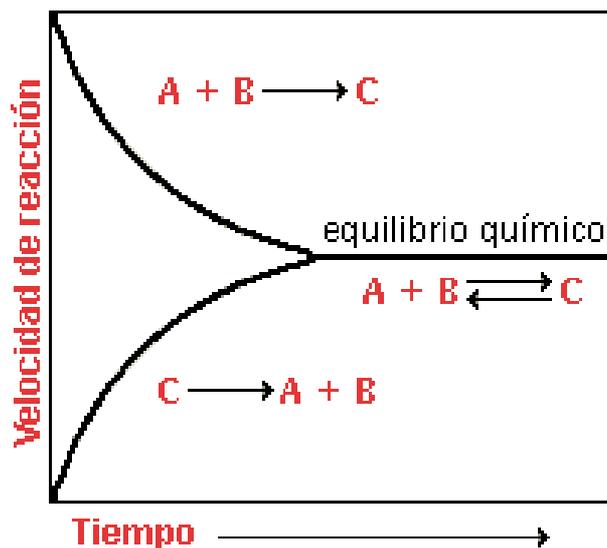
independiente de la concentración de rvos

Cátedra de Bioquímica - FOUBA

## VELOCIDAD DE REACCIÓN Y EQUILIBRIO

Reacción de 1<sup>o</sup> orden y en el estado de Eq Qco

$$k_1 [A] = k_{-1} [B]$$



Cátedra de Bioquímica - FOUBA

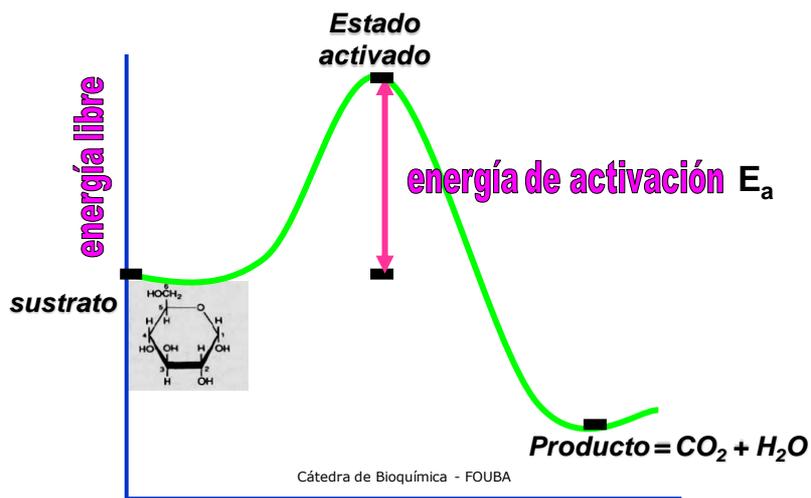
## FACTORES QUE AFECTAN LA VELOCIDAD DE UNA REACCIÓN

- **Concentración de los reactivos**
- **Temperatura de reacción**
- **Concentración y/o área de superficie de un catalizador**

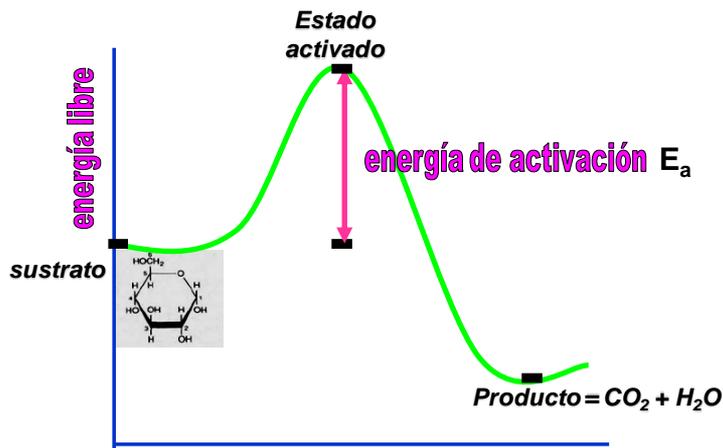
Cátedra de Bioquímica - FOUBA

## ENERGÍA DE ACTIVACIÓN

*Es el valor mínimo de energía de colisión necesaria para que ocurra la reacción*



Para que una reacción tenga lugar  
 ↓  
 superar la energía de activación.



Cátedra de Bioquímica - FOUBA

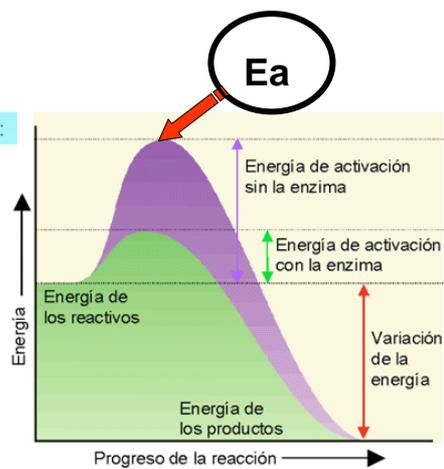
- (1) aumentando la  $T^0$  de reacción o  
 (2) disminuyendo la energía de activación.

## MECANISMO DE ACCIÓN ENZIMÁTICO:

Las enzimas actúan como un catalizador:

♦ Disminuyen la energía de activación.

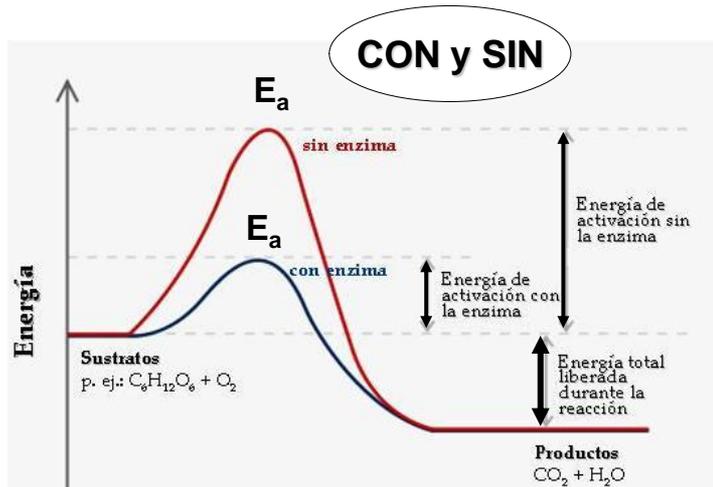
Las enzimas se combinan con los Rvos para producir un estado de transición de <E



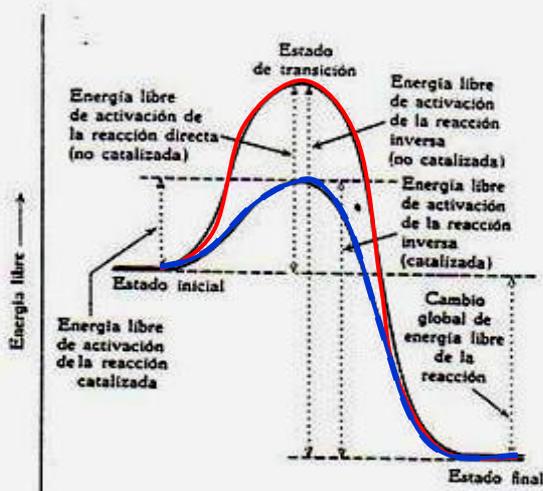
Las enzimas disminuyen la energía de activación

Cátedra de Bioquímica - FOUBA

## COMPARACIÓN DE LAS $E_a$ DE LAS REACCIONES CON Y SIN CATALIZADOR:

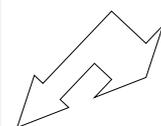


## DIAGRAMA DE ENERGÍA PARA UNA REACCIÓN QUÍMICA



**CATALIZADA Y NO CATALIZADA**

**EN SENTIDOS**



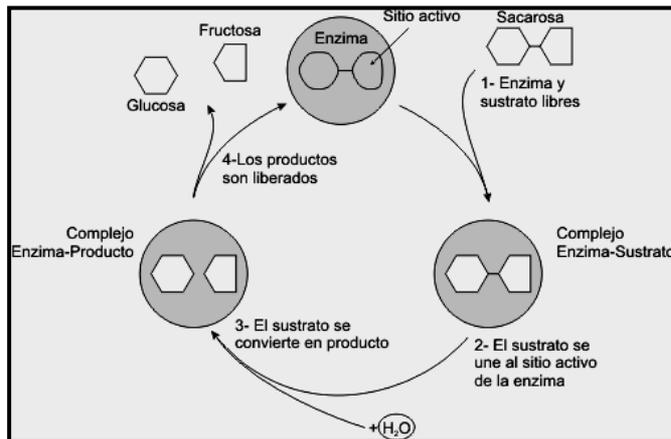
**DIRECTO**

**INVERSO**

Cátedra de Bioquímica - FOUBA

⇒ La variación de energía libre de la reacción ( $\Delta G = G_f - G_i$ ) no se modifica en presencia del catalizador.

## LA ENZIMA SE RECUPERA INALTERADA AL FINAL DE UN CICLO CATALÍTICO



□ Las enzimas no forman parte de los productos finales ni se desgastan en el proceso. Son reutilizables.

Cátedra de Bioquímica - FOUBA

***... Entonces hasta ahora podemos decir que las enzimas se caracterizan por:***

- Alta especificidad.
- Elevado poder catalítico.
- Alta eficiencia.
- No sufren modificaciones químicas durante la catálisis.

Cátedra de Bioquímica - FOUBA

## NOMENCLATURA:



- Nomenclatura histórica:

SUSTRATO + ACTIVIDAD + SUFIJO -asa: *glucoquinasa*

SUSTRATO + SUFIJO -asa: *ureasa*

DONADOR + ACEPTOR + ACTIVIDAD + SUFIJO -asa:  
*oxalacetil-amino-transferasa*

Cátedra de Bioquímica - FOUBA

## NOMENCLATURA:



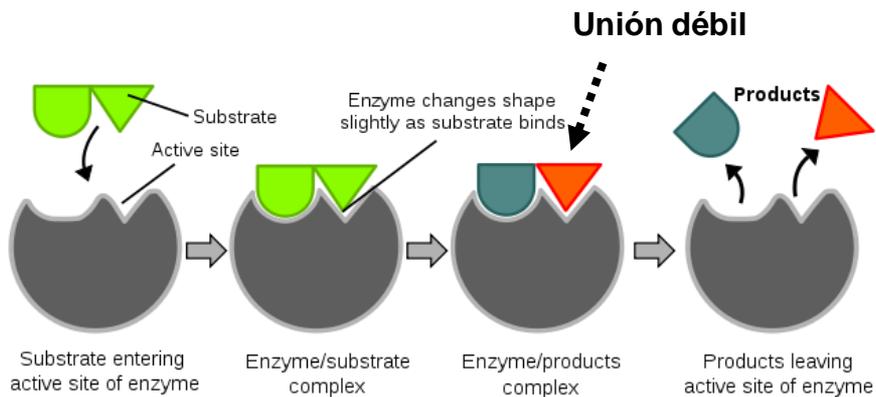
### Sistematización de la nomenclatura (International enzyme commission)

#### Clasificación:

- « **Oxidoreductasas**
- « **Transferasas**
- « **Hidrolasas**
- « **Liasas**
- « **Isomerasas**
- « **Ligasas**

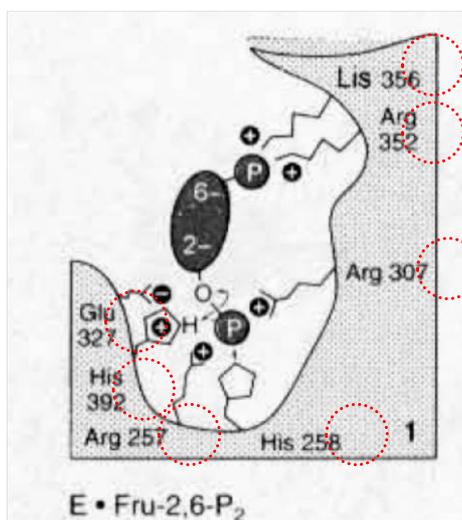
Cátedra de Bioquímica - FOUBA

## CENTRO ACTIVO



Cátedra de Bioquímica - FOUBA

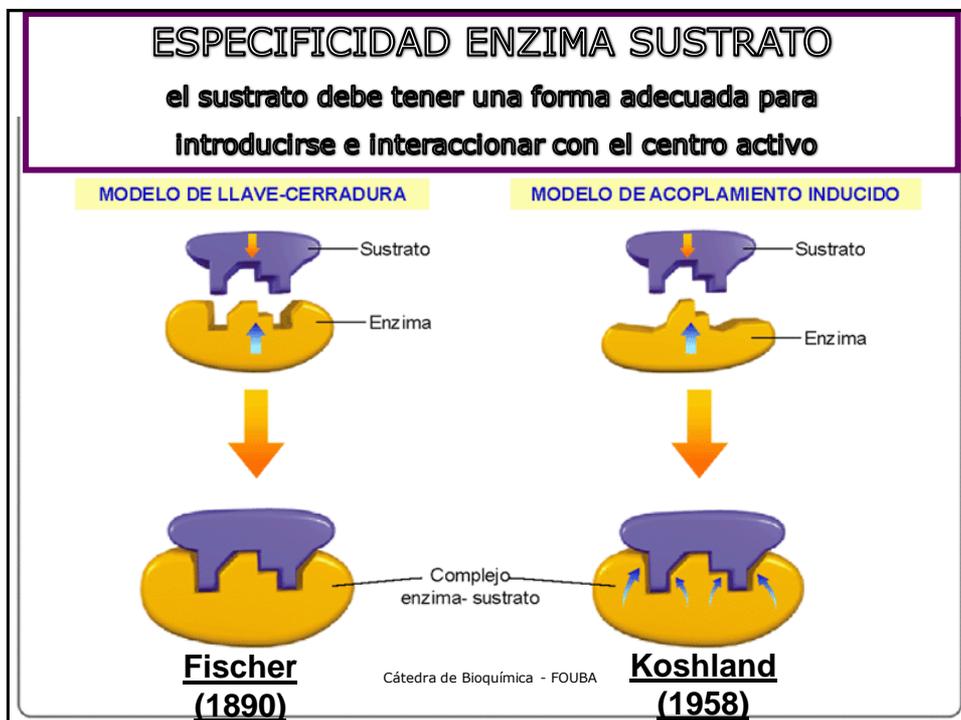
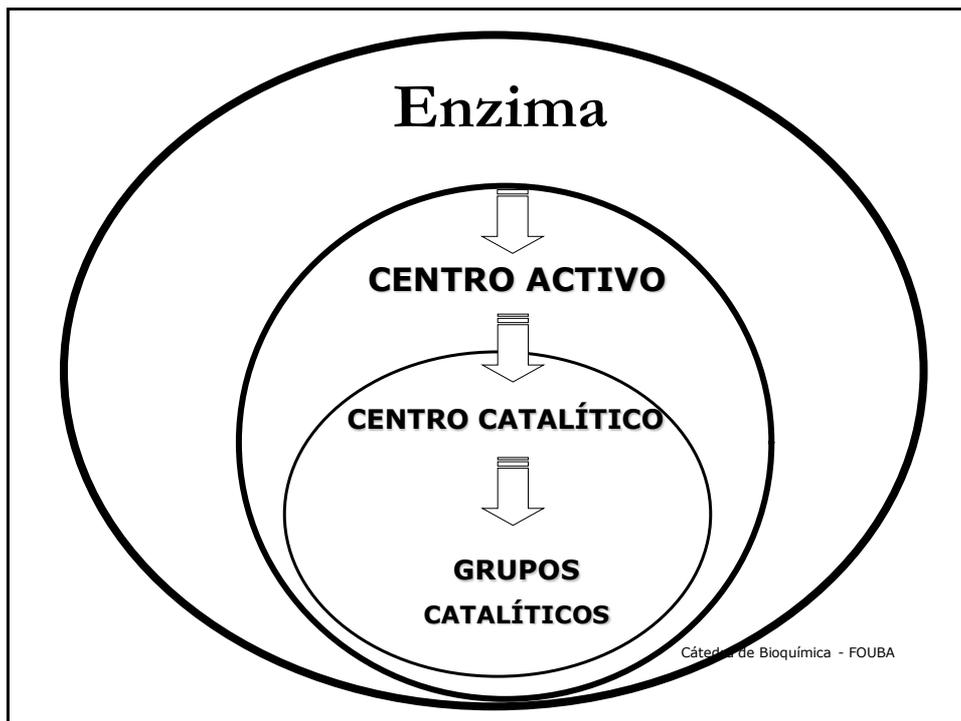
## GRUPOS CATALÍTICOS

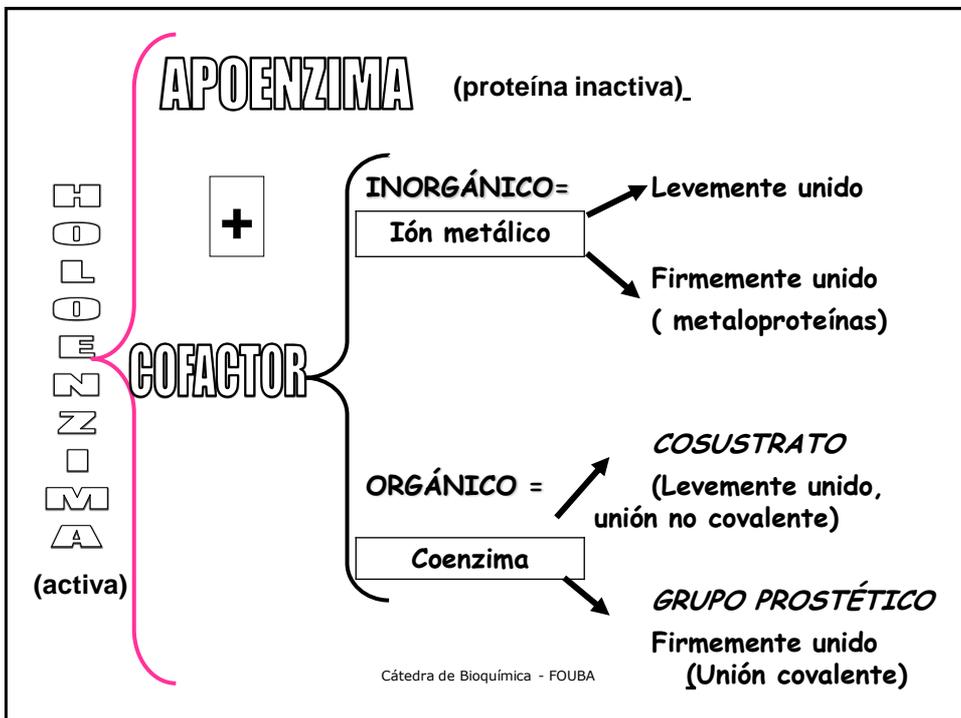
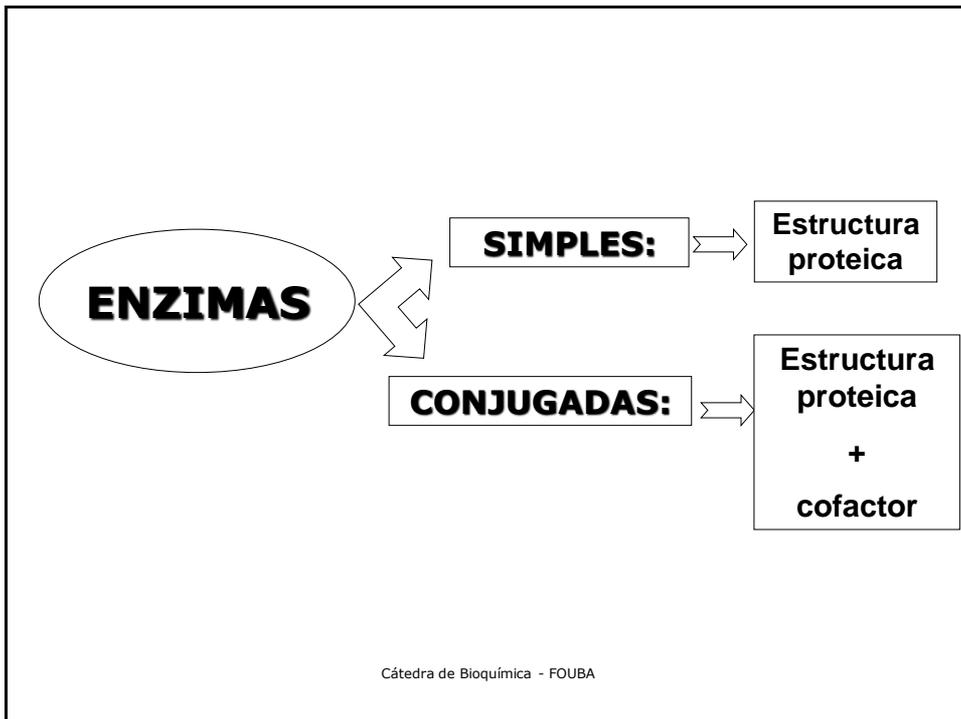


Siete residuos del centro catalítico del sitio activo de la fructosa 2,6 bifosfatasa

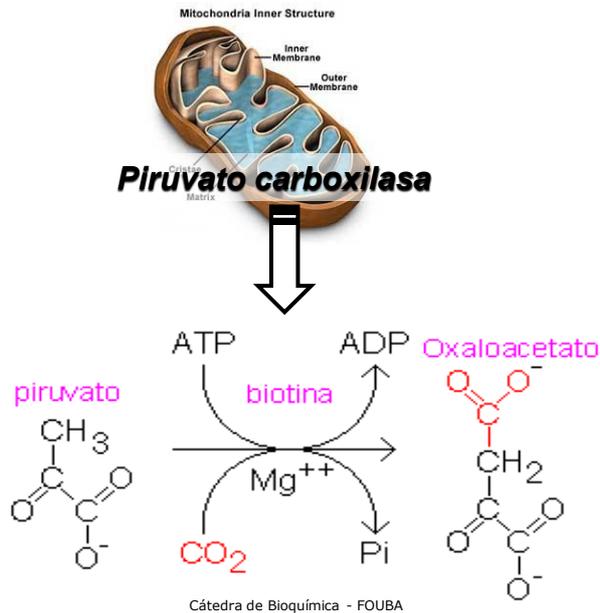
es indispensable mantener la estructura terciaria de la enzima para que sea catalíticamente activa.

Cátedra de Bioquímica - FOUBA





## Ejemplo de enzima conjugada



## Algunas vitaminas funcionan como coenzimas en *distintas rutas metabólicas*

VITAMINAS	FUNCIONES	Enfermedades carenciales
<b>C (ácido ascórbico)</b>	Coenzima de algunas peptidasas. Interviene en la síntesis de colágeno	<b>Escorbuto</b>
<b>B1 (tiamina)</b>	Coenzima de las descarboxilasas y de las enzima que transfieren grupos aldehidos	<b>Beriberi</b>
<b>B2 (riboflavina)</b>	Constituyente de los coenzimas FAD y FMN	<b>Dermatitis y lesiones en las mucosas</b>
<b>B3 (ácido pantoténico)</b>	Constituyente de la CoA	<b>Fatiga y trastornos del sueño</b>
<b>B5 (niacina)</b>	Constituyente de las coenzimas NAD y NADP	<b>Pelagra</b>
<b>B6 (piridoxina)</b>	Interviene en las reacciones de transferencia de grupos aminos.	<b>Depresión, anemia</b>
<b>B12 (cobalamina)</b>	Coenzima en la transferencia de grupos metilo.	<b>Anemia perniciosa</b>
<b>Biotina</b>	Coenzima de las enzimas que transfieren grupos carboxilo, en metabolismo de aminoácidos.	<b>Fatiga, dermatitis</b>

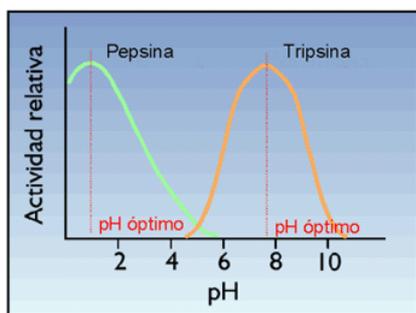
Cátedra de Bioquímica - FOUBA

## FACTORES QUE MODIFICAN LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA:

- Temperatura
- pH (ionización)
- Concentración de sustrato

Cátedra de Bioquímica - FOUBA

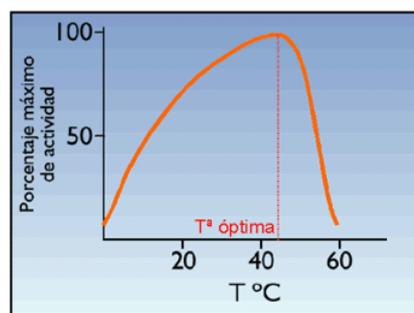
### INFLUENCIA DEL pH y LA TEMPERATURA SOBRE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA



Cada enzima actúa a un pH óptimo.

Los cambios de pH alteran la estructura terciaria y por tanto, la actividad de la enzima.

**Desnaturalización o pérdida del estado iónico de la enzima**

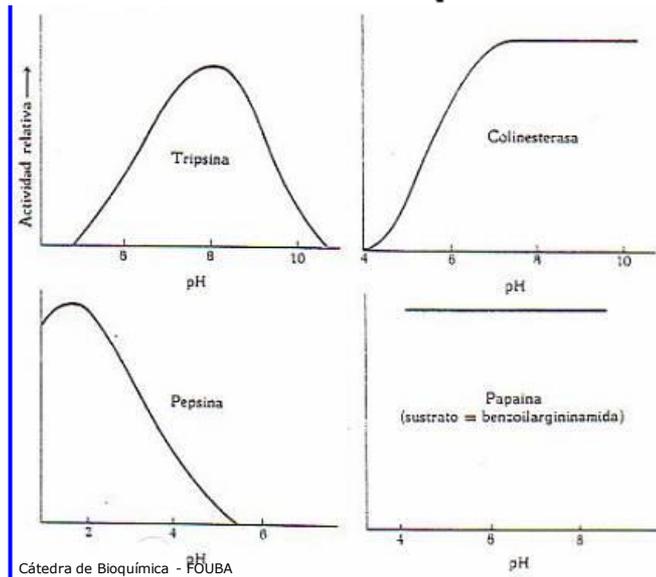


Cada enzima tiene una temperatura óptima para actuar.

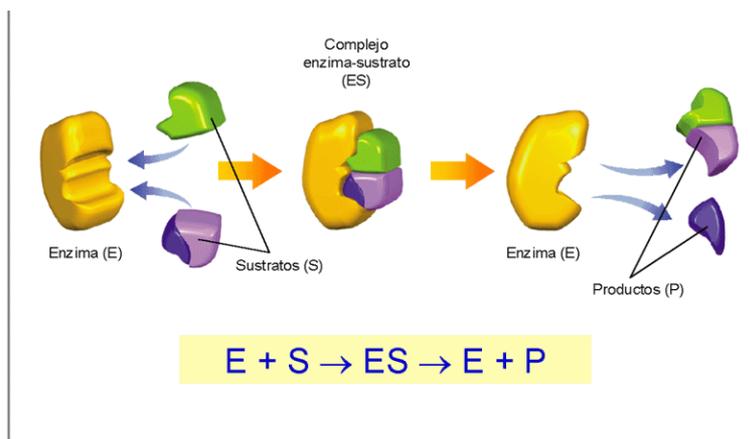
Las variaciones de temperatura provocan cambios en la estructura terciaria o cuaternaria, alterando la actividad del enzima.

Cátedra de Bioquímica - FOUBA

## CURVAS DE ACTIVIDAD ENZIMÁTICA EN FUNCIÓN DEL pH

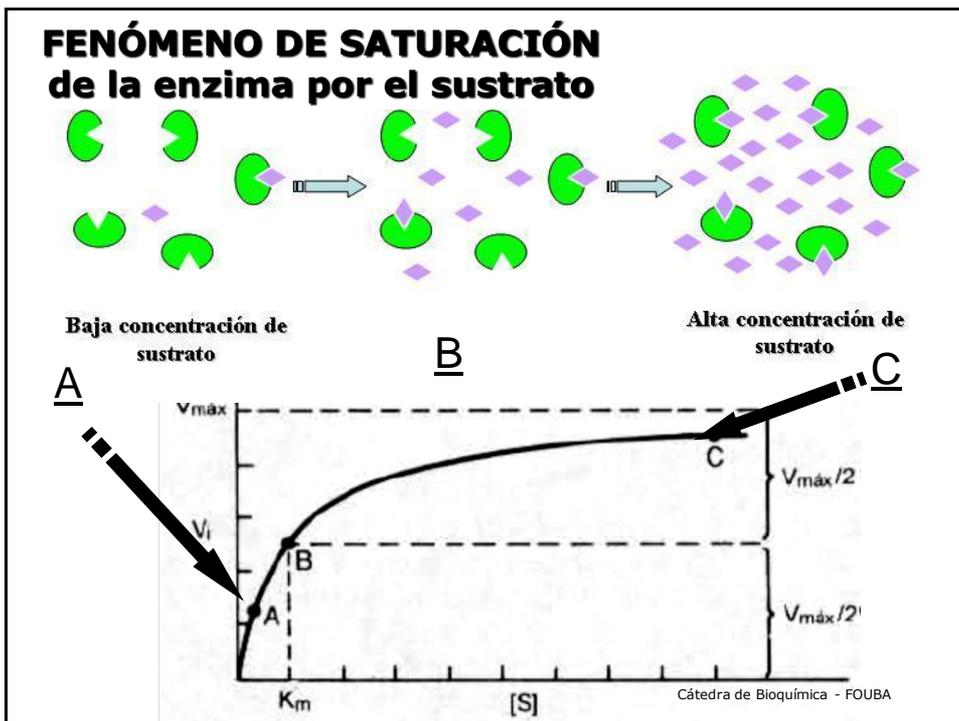


## ESQUEMA DE UNA REACCIÓN ENZIMÁTICA



**Influencia de la concentración de SUSTRATO en la reacción enzimática**

Cátedra de Bioquímica - FOUBA



Leonor Michaelis (1875-1949)

**Leonor Michaelis**

Maud Menten (1879-1960)

**Maud Menten**

Cátedra de Bioquímica - FOUBA

## L. Michaelis y M. L. Menten (1913)

### Teoría general acerca de acción y cinética enzimática

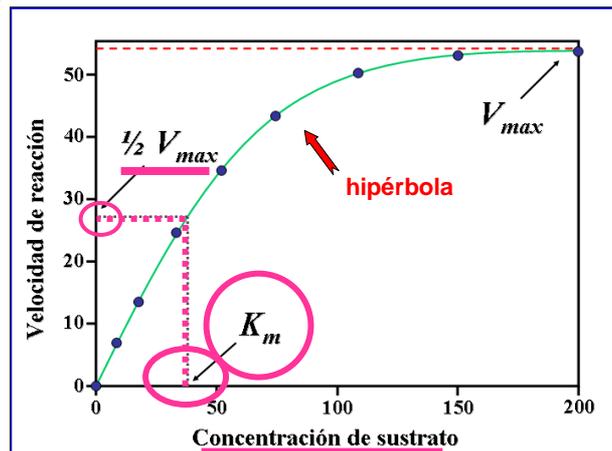


Cátedra de Bioquímica - FOUBA

## ECUACIÓN DE MICHAELIS - MENTEN

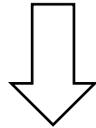
Ecuación de velocidad para las reacciones catalizadas por enzimas que actúan sólo sobre un sustrato

$$v_0 = \frac{v_{\max} [S]}{K_M + [S]}$$



Cátedra de Bioquímica - FOUBA

$K_m = [S]$  necesaria para alcanzar la  $\frac{1}{2}$  de la  $V_{max}$



Unidad de concentración  
(Molar)

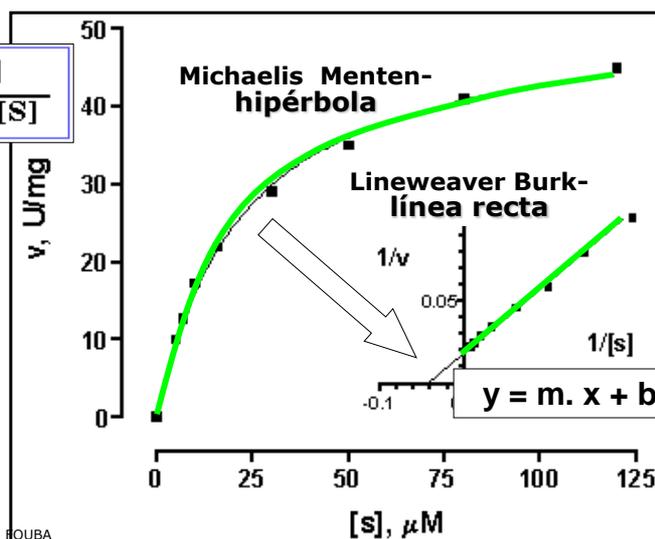
$A < K_m$

> Afinidad de la Ez por el S

Cátedra de Bioquímica - FOUBA

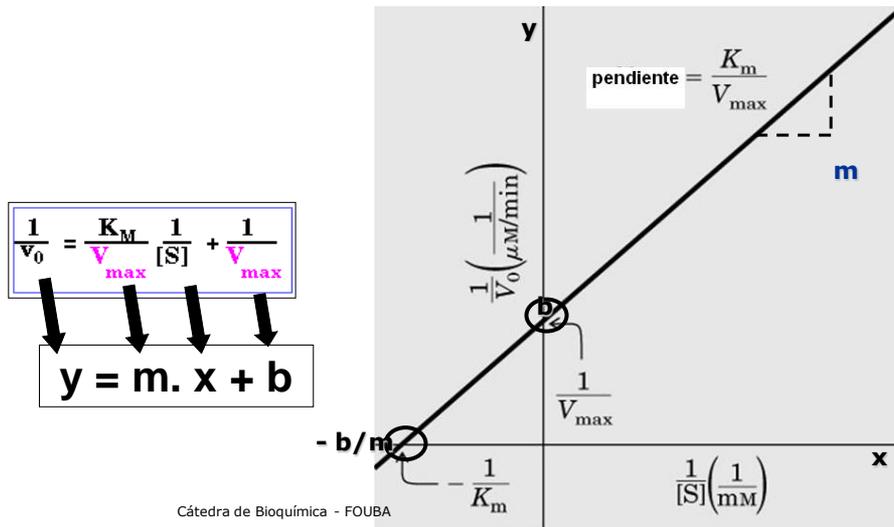
Representación de  $V_r$  en función de la  $[S]$   
para una reacción dada:

$$v_0 = \frac{V_{max} [S]}{K_M + [S]}$$

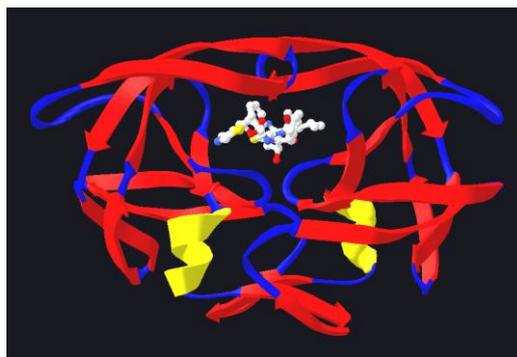


Cátedra de Bioquímica - FOUBA

## Representación gráfica de ecuación de Michaelis - Menten según LINEWEAVER - BURK (doble recíproca)



## INHIBICIÓN ENZIMÁTICA



**Proteasa del virus del SIDA**

+

**el inhibidor ritonavir**

Cátedra de Bioquímica - FOUBA

## TIPOS DE INHIBIDORES

### ☀ IRREVERSIBLES:

- el I se une en a la E en forma covalente
- provoca un cambio permanente en su molécula
- pérdida definitiva de la actividad

### ☀ REVERSIBLES:

#### - Competitiva:

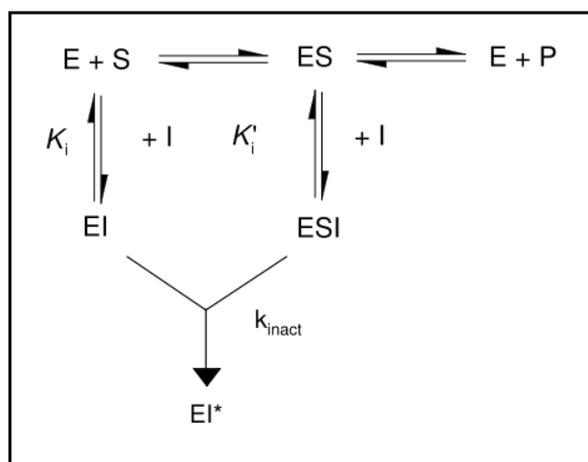
- I y S tienen estructura similar
- Compiten por el sitio activo
- Se desplaza por aumento de [S]

#### - No competitiva:

- I puede unirse a E libre o al Complejo E-S
- Interfiere la acción de ambos
- No se desplaza por aumento de [S]

Cátedra de Bioquímica - FOUBA

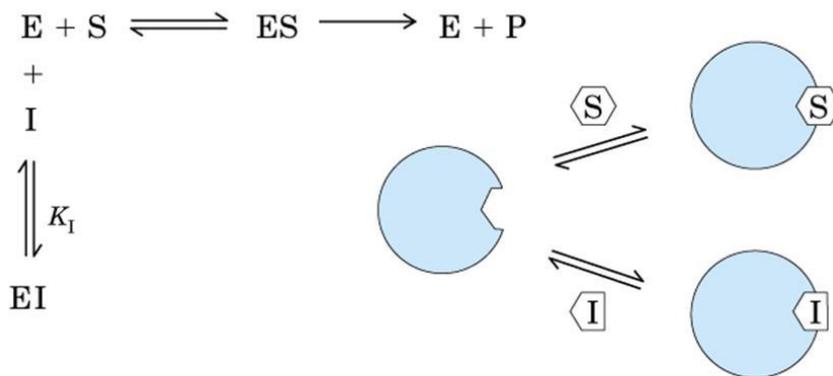
## ☀ INHIBIDORES IRREVERSIBLES



No puede ser tratada por Michaelis - Menten

Cátedra de Bioquímica - FOUBA

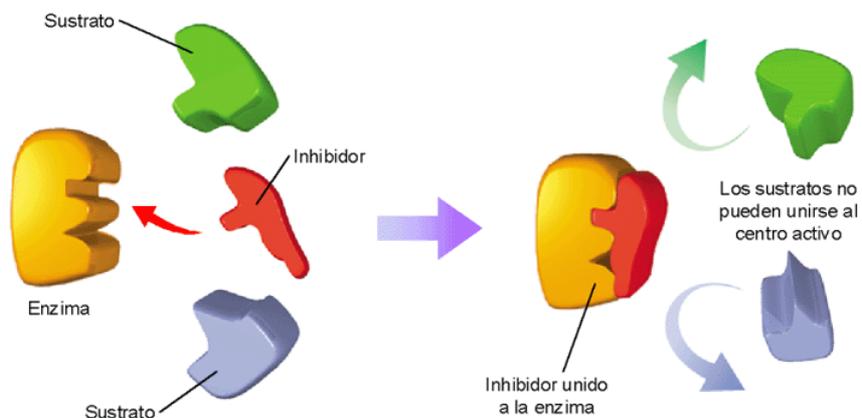
## ☀ INHIBIDORES REVERSIBLES: competitivos



Inhibición competitiva

Cátedra de Bioquímica - FOUBA

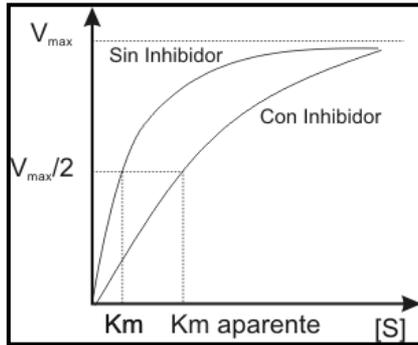
## EFFECTO DE UN INHIBIDOR COMPETITIVO



Cátedra de Bioquímica - FOUBA

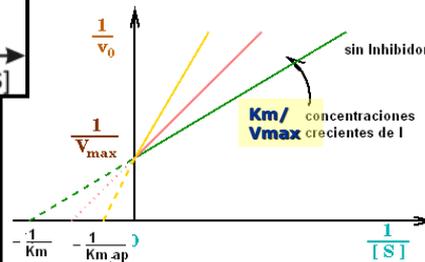
Representación de  $V_r$  en función de la  $[S]$  para una reacción enzimática en presencia de

### Inhibidor COMPETITIVO



$K_m \uparrow$   
 $V_{max} \text{ cte}$

Cátedra de Bioquímica - FOUBA



### ☀ INHIBIDORES REVERSIBLES: no competitivos



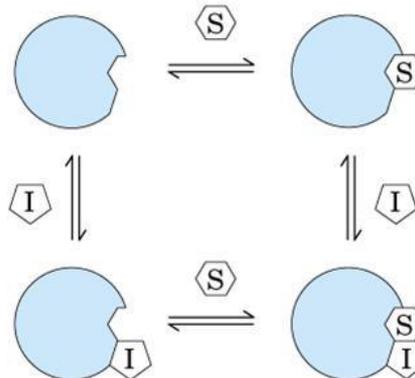
+

I



+

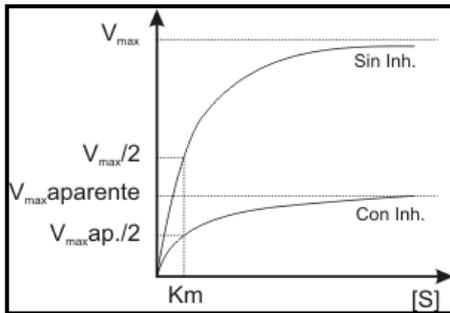
I



Cátedra de Bioquímica - FOUBA

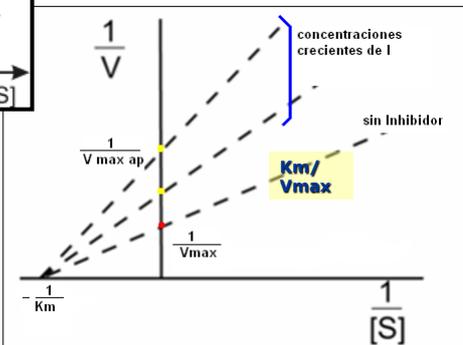
Inhibición no competitiva

**Representación de  $V_r$  en función de la  $[S]$  para una reacción enzimática en presencia de Inhibidor NO COMPETITIVO**

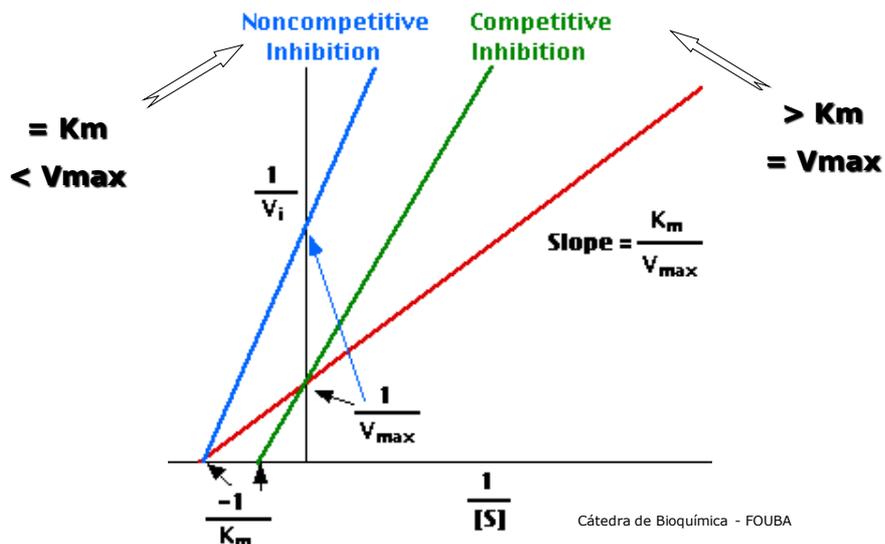


**$K_m$  cte**  
 **$\downarrow V_{max}$**

Cátedra de Bioquímica - FOUBA



**INHIBICIÓN COMPETITIVA Y NO COMPETITIVA: gráfico comparativo**



Cátedra de Bioquímica - FOUBA

# *REGULACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA*

**Múltiples procesos metabólicos celulares**



**relacionados entre sí**



**están controlados en forma precisa**



**MECANISMOS DE CONTROL  
ESTRICTOS Y ADECUADOS**

Cátedra de Bioquímica - FOUBA

## **MECANISMOS REGULATORIOS DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA**

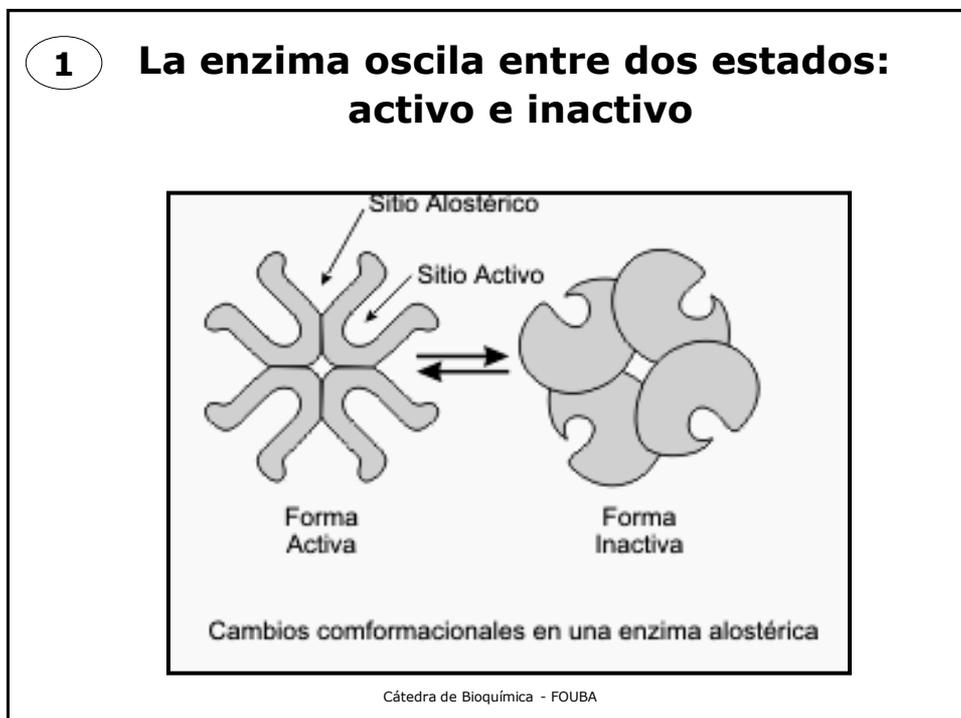
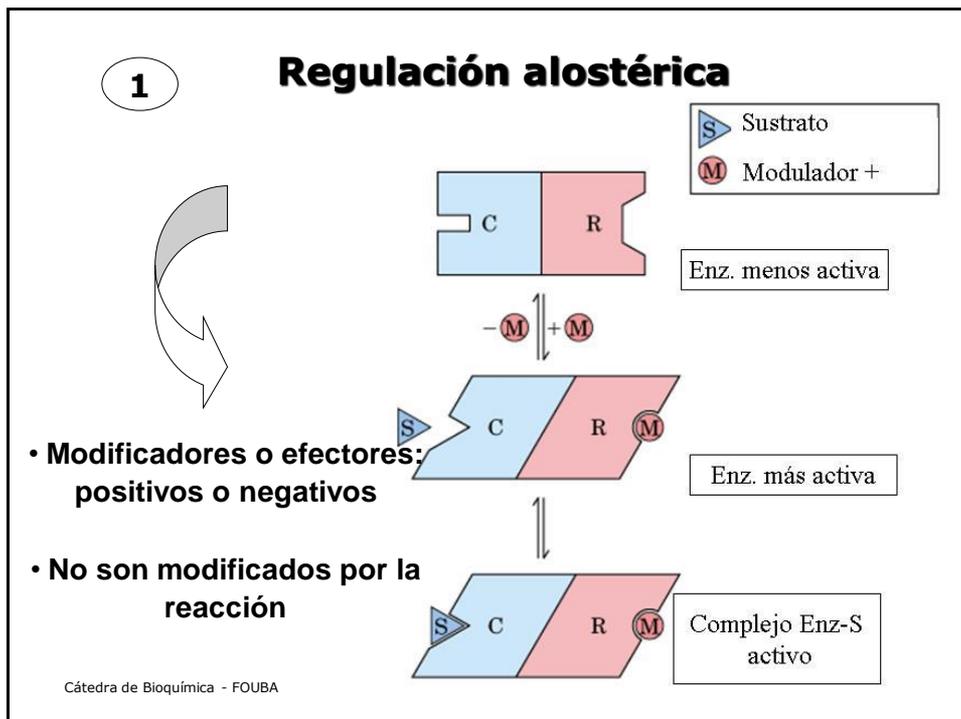
✱ **REGULACIÓN A CORTO PLAZO: se modifica la actividad enzimática**

- 1. Regulación alostérica**
- 2. Inhibición por producto final**
- 3. Regulación por modificación covalente**
- 4. Regulación por zimógenos**

✱ **REGULACIÓN A LARGO PLAZO: se modifica la cantidad de moléculas enzimáticas**

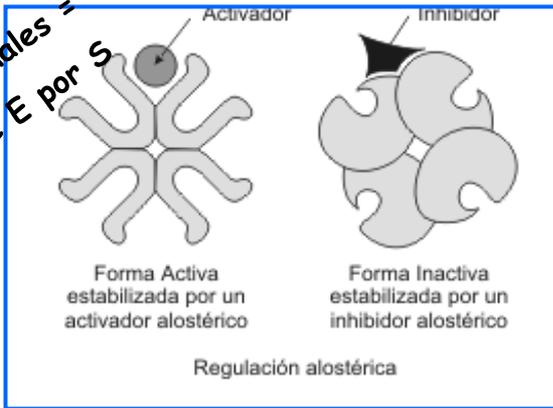
- 5. Regulación genética**

Cátedra de Bioquímica - FOUBA



**1** La actividad enzimática se regula por acción de efectores o moduladores alostéricos

Modificaciones conformacionales = Cambios en la afinidad de E por S



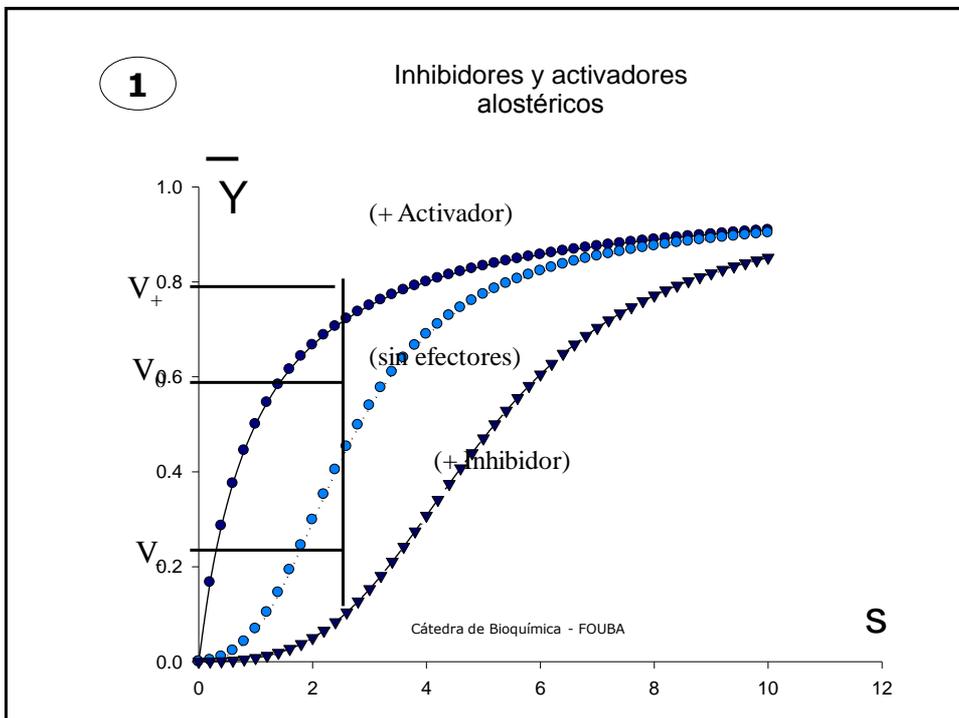
Forma Activa estabilizada por un activador alostérico

Forma Inactiva estabilizada por un inhibidor alostérico

Regulación alostérica

**Efecto opuesto de un activador y un inhibidor sobre las cuatro subunidades de la enzima**

Cátedra de Bioquímica - FOUBA



## COOPERATIVIDAD: de las enzimas oligoméricas

INFLUENCIA de la fijación de un ligando a un protómero



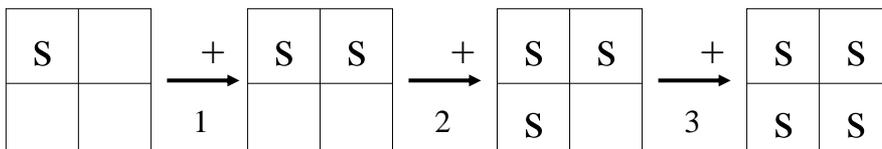
sobre la fijación de un ligando a un segundo protómero de una proteína oligomérica

EL CAMBIO CONFORMACIONAL PUEDE SER INDUCIDO POR:

- ❖ UN EFECTOR ALOSTÉRICO
- ❖ POR EL MISMO SUSTRATO

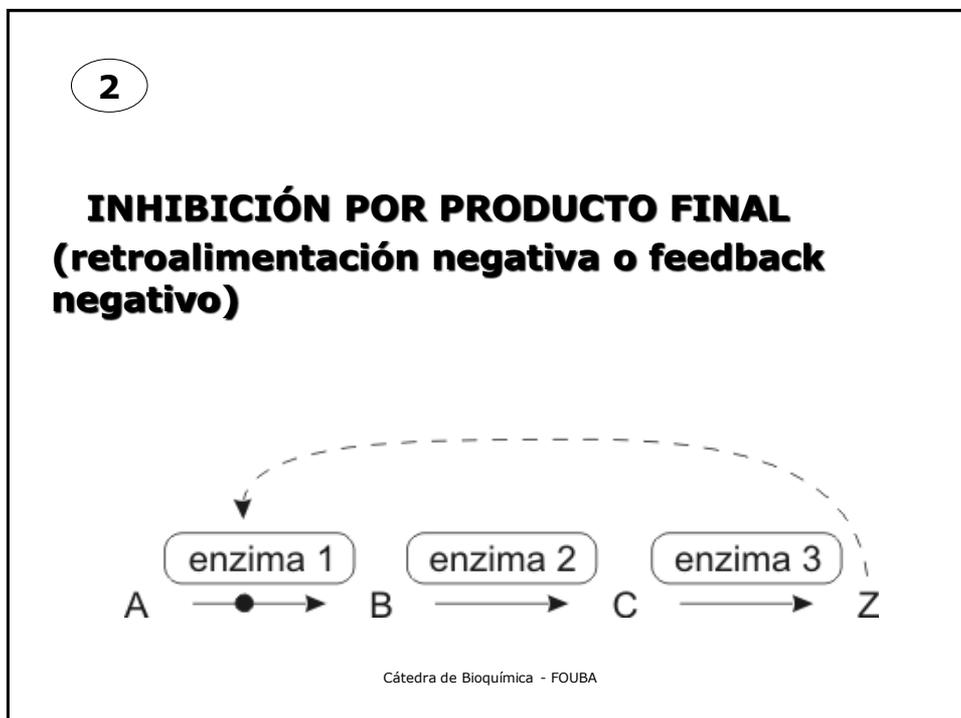
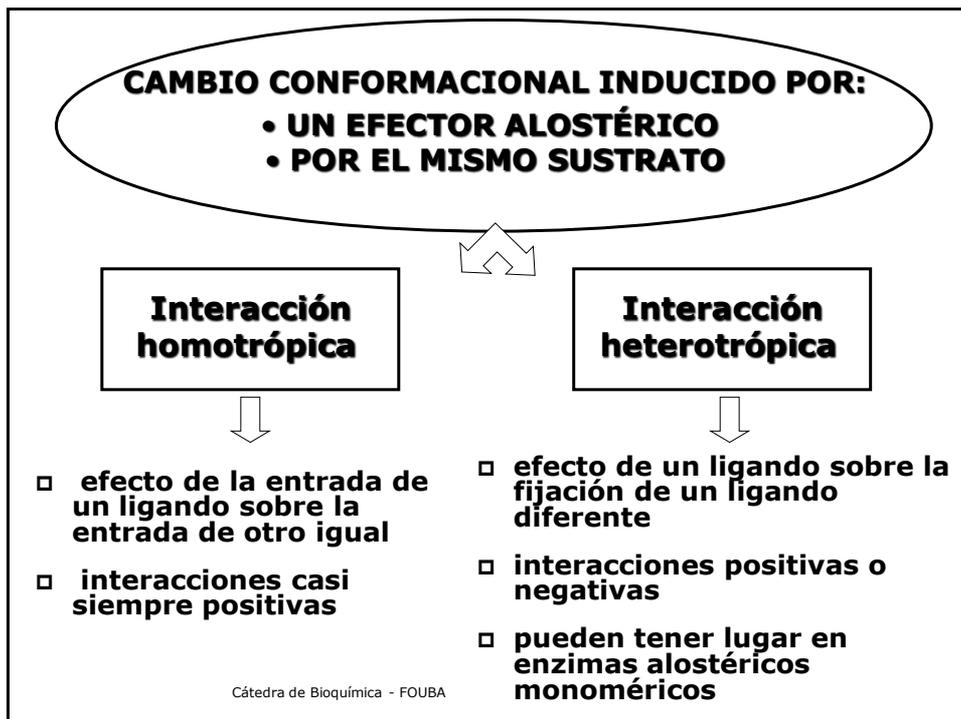
Cátedra de Bioquímica - FOUBA

**+** La cooperatividad (positiva) consiste en que la fijación de una molécula de sustrato favorece la fijación del siguiente, y así hasta ocuparse toda la molécula



**-** Existe también cooperatividad negativa, cuando la fijación de una molécula de sustrato dificulta la fijación del siguiente.

Cátedra de Bioquímica - FOUBA



3

## REGULACIÓN POR MODIFICACIÓN COVALENTE

algún AMINOÁCIDO de la enzima



Unión covalente a algún grupo químico



ACTIVACIÓN O INACTIVACIÓN DE LA ENZIMA

grupo químico más frecuente:  
**grupo fosfato (P)**



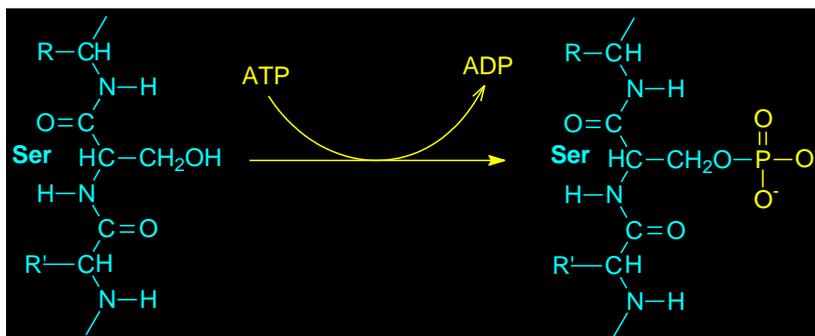
aa enzimáticos intervinientes:  
**Ser y Trh**

Cátedra de Bioquímica - FOUBA

3

## Ejemplo de modificación covalente, 1

Fosforilación: Protein kinasas



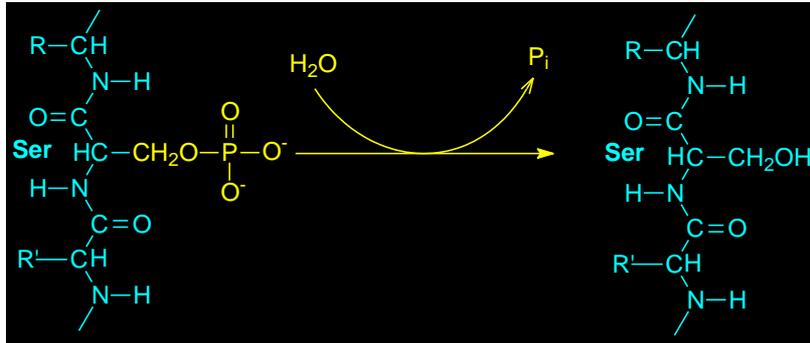
Sobre residuos de Ser, Thr y Tyr

Cátedra de Bioquímica - FOUBA

3

## Ejemplo de modificación covalente, 2

### Defosforilación: Protein fosfatasas



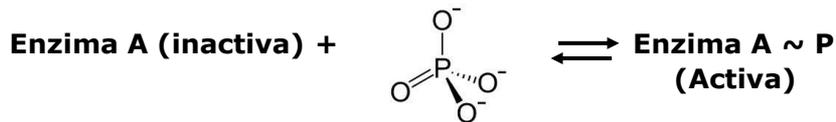
Sobre residuos previamente fosforilados:

**Ser-P, Thr-P, Tyr-P**

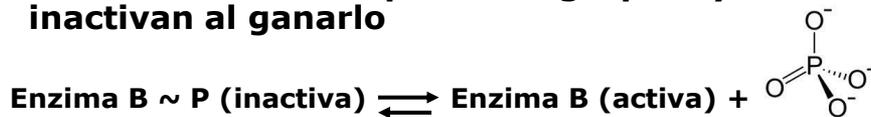
Cátedra de Bioquímica - FCUBA

3

Algunas enzimas se activan al unirse al grupo **PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>** y se inactivan si lo pierden



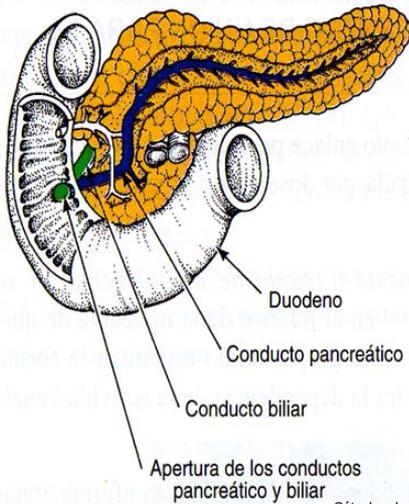
Otras se activan al perder el grupo P y se inactivan al ganarlo



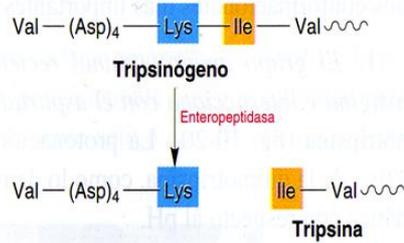
Cátedra de Bioquímica - FOUBA

4

## REGULACION POR ZIMÓGENOS

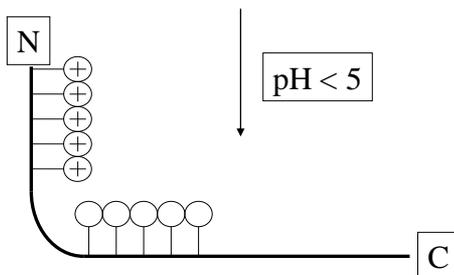
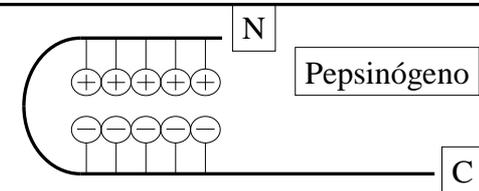


### Activación proteolítica del tripsinógeno



Cátedra de Bioquímica - FOUBA

4



### Activación del pepsinógeno



Pepsina

Cátedra de Bioquímica - FOUBA

5

**Regulación genética****control a nivel del ADN**

ADN → ARN → Proteínas (enzimas)

Un metabolito impide la transcripción de una enzima

↓  
disminuye la síntesis de la enzima

↓  
no se catalizará la reacción

Cátedra de Bioquímica - FOUBA

**VALOR DIAGNÓSTICO DE LAS ENZIMAS SÉRICAS****Enzimas presentes en el plasma**

↓  
**ENZIMAS PLASMÁTICAS  
FUNCIONALES o ESPECÍFICAS**

↓  
**ENZIMAS NO  
FUNCIONALES**

↓  
Ej. lipoproteinlipasa,  
seudocolinesterasa  
proenzimas de la  
coagulación sanguínea, etc

↓  
Ej. amilasa pancreática,  
fosfatasa alcalina biliar,  
fosfatasa ácida  
prostática, etc

Cátedra de Bioquímica - FOUBA

### Enzimas séricas de uso clínico más frecuente

ENZIMA	ORGANO O ENFERMEDAD DE INTERES
Fosfatasa ácida	Carcinoma de próstata
Fosfatasa alcalina	Enfermedades hepáticas y óseas
Amilasa	Enfermedades pancreáticas
transaminasa glutámico-pirúvico (GPT o ALAT)	Enfermedades hepáticas
transaminasa glutámico-oxalacético (GOT o ASAT)	Hepatopatías y cardiopatías
lactato deshidrogenada (LDH)	Hígado, corazón y eritrocito
creatín quinasa (CK)	Corazón, musculo y cerebro
5' nucleotidasa y aldolasa (ALS)	hepatopatías
$\gamma$ -glutamyltranspeptidasa ( $\gamma$ -GT),	hepatopatías
Aldolasa	Musculo, corazón
Arginasa	hepatopatías
Elastasa	Enfermedades del colágeno
Seudocolinesterasa	Hígado (intoxicaciones)
Plasmina	cuagulopatías
Lipasa	páncreas

Cátedra de Bioquímica - FOUBA