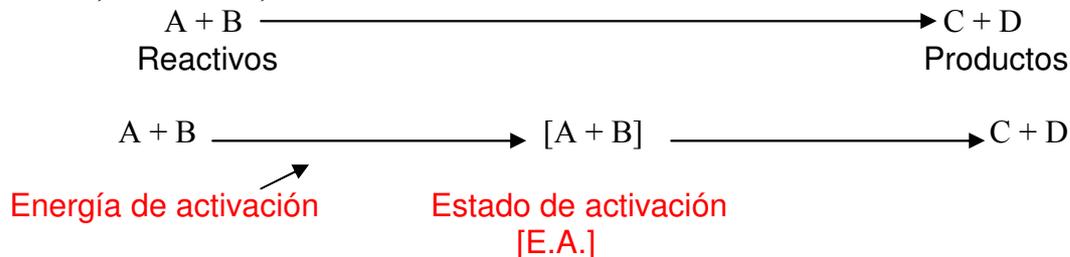


## TEMA 5: ENZIMAS

### 1. Concepto de biocatalizador

En toda reacción química, los reactivos (A + B) se unen para dar los productos (C + D). En toda reacción existe un paso intermedio llamado complejo o **estado de activación** en el que los enlaces de los reactivos se encuentran debilitados. Para que se produzca dicho complejo es necesario un aporte energético que se llama **energía de activación**. Dicha energía puede ser el calor, la luz, electricidad, radiaciones,...

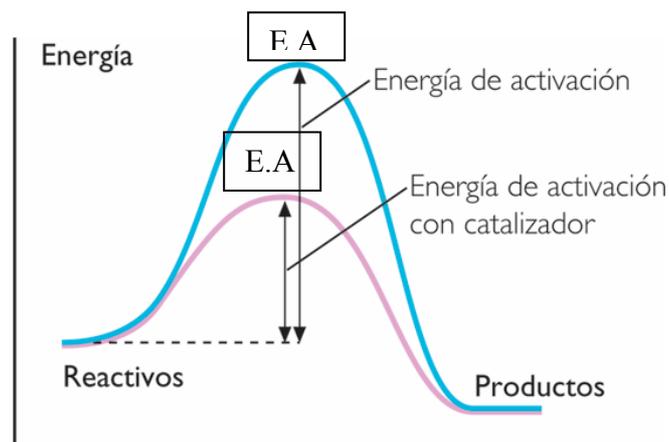


En los seres vivos, la energía procede del ATP. Para economizar el consumo de ATP existen unas sustancias llamadas **biocatalizadores**.

Los **biocatalizadores** son sustancias que reducen la cantidad de energía necesaria para que se pueda producir una reacción química en un ser vivo, también llamada energía de activación, acelerando la velocidad de reacción. No se alteran en el proceso.

Los biocatalizadores actúan de dos formas:

- Fijándose al sustrato, de modo que debilita sus enlaces lo cual facilita su ruptura.
- Atrayendo hacia su superficie a los reactivos, lo cual facilita su encuentro y por tanto la reacción.



Los principales biocatalizadores son: enzimas, vitaminas, hormonas y algunos oligoelementos (Fe, Cu, Zn, I, F,...).

### 2. Estructura de las enzimas

Son biocatalizadores ya que son moléculas orgánicas producidas por los seres vivos capaces de funcionar fuera de la célula u organismo que las produce; aceleran las reacciones químicas; no se consumen en las reacciones; se necesitan en muy poca cantidad; no modifican el sentido de la reacción.

Son proteínas globulares, excepto las ribozimas (ARN con actividad catalítica), solubles en agua.

Según su composición pueden ser de dos tipos:

- Enzimas: Formadas por una o varias cadenas proteínicas,
- Holoenzimas: Poseen una parte proteica llamada **apoenzima** y otra no proteica denominada **cofactor**.



El **cofactor** puede ser una molécula inorgánica, (iones metálicos como Fe, Cu, Zn, Mn, Mg,...) o puede ser una molécula orgánica. En este caso, si la unión al apoenzima es covalente se denomina **grupo prostético** y si no es covalente **coenzima**.

COFACTOR	Molécula inorgánica		Metal
	Molécula orgánica	Enlace covalente	Grupo prostético
		Enlace no covalente	Coenzima

## 2.1. Apoenzima

Es una proteína globular formada exclusivamente por secuencias de aminoácidos. Determinan la especificidad de la reacción enzimática. Se pueden distinguir 4 tipos de aminoácidos según la función que desempeñen en la actividad enzimática.

- No esenciales:** No intervienen en el proceso catalítico. Si se eliminan de la cadena, la enzima no pierde la actividad enzimática.
- Estructurales:** Mantienen la estructura tridimensional de la proteína. No intervienen directamente en la actividad enzimática, pero si se alteran pueden cambiar la posición del grupo activo.
- De unión o de fijación:** Establecen enlaces débiles con el sustrato orientándolo para aproximar la parte del mismo que ha de ser atacada por la enzima.
- Catalíticos:** Se unen al sustrato mediante un enlace covalente debilitando su estructura y favoreciendo su ruptura.

Estos dos últimos tipos de aminoácidos constituyen el **centro activo de un enzima** que, generalmente, es una pequeña parte de enzima. Es el lugar del enzima donde encaja específicamente el sustrato. Tiene una estructura tridimensional en forma de hueco, generalmente hidrófoba y es donde actúan las cadenas laterales de los aminoácidos con poder catalítico. El centro activo se une al sustrato y, si lo hay, al coenzima.

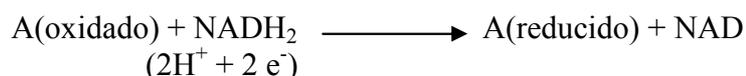
## 2.2. Coenzimas

Son cofactores enzimáticos orgánicos que se unen al apoenzima mediante enlaces débiles. La unión apoenzima-coenzima no es específica ya que un mismo coenzima puede unirse a diferentes apoenzimas y esta unión suele ser temporal. Si la unión es covalente el coenzima se llama grupo prostético.

Los principales coenzimas son:

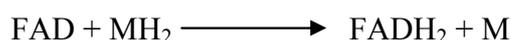
- **Adenosín-fosfatos** (AMP, ADP, ATP): Sus enlaces acumulan gran cantidad de energía que liberan al romperse.
- **Piridín-nucleótidos:** NAD y NADP.
  - NAD: Nicotinamín-adenín-dinucleótido.
  - NADP: Nicotinamín-adenín-dinucleótido-fosfato.

Transfieren protones y electrones pasando fácilmente de forma oxidada a reducida y viceversa.



- **Flavín-nucleótidos:** FMN y FAD
  - FMN: Flavín-mononucleótido
  - FAD: Flavín-adenín-dinucleótido

Al igual que los anteriores, catalizan reacciones de oxidación-reducción.



- **Coenzima A:** CoA (adenosín-difosfato-vitamina B5). Transfiere grupos de dos carbonos. Lleva en su extremo un grupo -SH. CoA-SH y transfiere grupos acilo. Actúa como transportador de radicales -acil (CH<sub>3</sub> - COOH) (acetil- CoA).
- **Vitaminas hidrosolubles:** Las vitaminas han de ser ingeridas en la dieta ya que no somos capaces de sintetizarlas. Muchas vitaminas actúan como coenzimas y otras como precursoras de coenzimas.
  - Vitamina C (ácido ascórbico): Coenzima de algunas peptidasas intracelulares y es fundamental para la síntesis del colágeno.
  - Riboflavina (B<sub>2</sub>): Forma parte del FAD.
  - Ácido nicotínico (B<sub>3</sub>): Forma parte del NAD y NADP.
  - Piridoxina (B<sub>6</sub>): Coenzima en el metabolismo de los aminoácidos.
  - Ácido pantoténico (B<sub>5</sub>): Forma parte del CoA.
  - Ácido fólico (B<sub>9</sub>): Interviene en la síntesis de purinas y pirimidinas (bases nitrogenadas).

### 3. **Propiedades de las enzimas**

Son proteínas y por tanto cumplen sus propiedades. La más importante es la especificidad.

- **Especificidad:** Existen dos tipos:
  - a) **Especificidad de acción o de clase:** La enzima actúa sobre un determinado tipo de reacción y depende del tipo de enlace y no del tipo de molécula. Por ejemplo, las fosfatasas, que separan los grupos fosfato de cualquier tipo de molécula, deshidrogenasas, oxidasas,...
  - b) **Especificidad de sustrato:** Indica el sustrato sobre el que actúa la enzima. Puede ser:
    - *Absoluta:* La enzima tan solo actúa sobre un determinado sustrato. Ej. Maltasa.
    - *De grupo:* La enzima actúa sobre un grupo de moléculas que presentan un determinado enlace. Ej. Peptidasas
- **Reversibilidad:** Una enzima actúa igual sobre una reacción química sea cual sea el sentido de la reacción. No modifican el sentido de la reacción.
 
$$\text{Sacarosa} + \text{H}_2\text{O} \xrightleftharpoons{\text{Sacarasa}} \text{glucosa} + \text{fructosa}$$
- **Eficacia:** Se necesitan en muy poca cantidad. Una sola molécula de enzima puede catalizar la reacción de miles de moléculas de sustrato ya que la enzima no se consume en el proceso sino que se recupera al final.
- **Gran poder catalítico:** Multiplican la velocidad de las reacciones por un millón de veces o más.
- **No se consumen en las reacciones.**

### 4. **Actividad o acción enzimática**

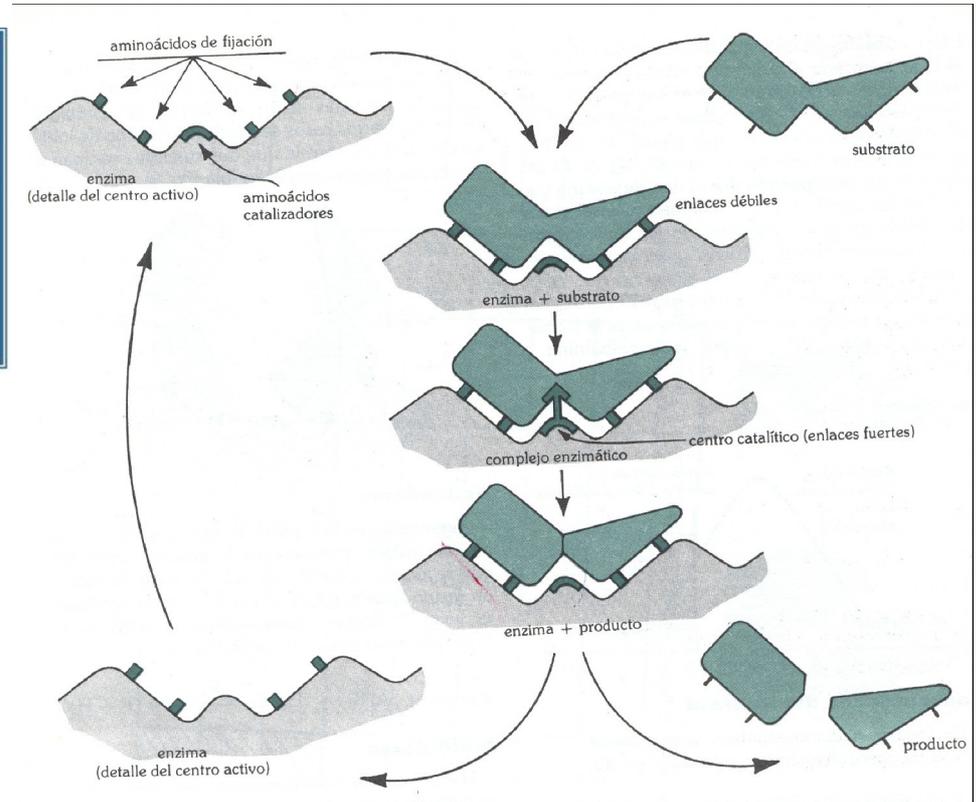
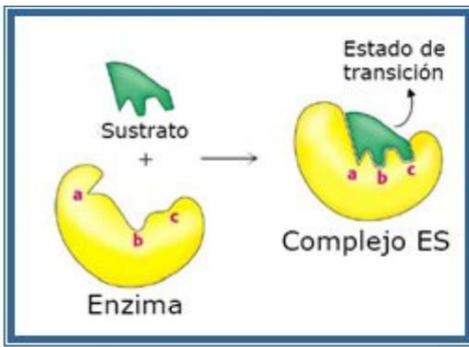
En toda reacción enzimática el sustrato es transformado en producto para lo cual la enzima se une al sustrato formando un complejo enzima-sustrato. Luego la enzima permanece inalterado y el sustrato transformado en producto.



El sustrato debe poseer un grupo funcional que le permita situarse de forma precisa en el centro activo y debe poseer un enlace específico que pueda ser atacado por el enzima.

Sólo se produce actividad enzimática cuando los radicales de los aminoácidos de fijación coinciden con los radicales del sustrato. De ahí que las enzimas sean específicas.

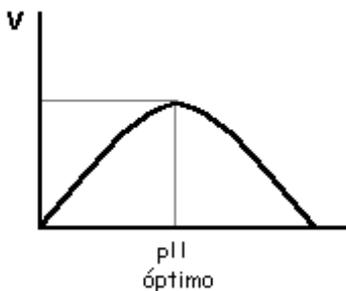
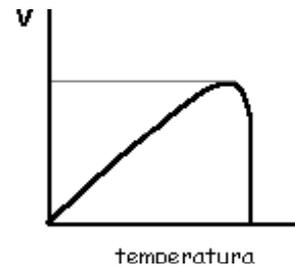
Según la hipótesis de Koshland o ajuste inducido, la enzima se ajusta a la forma del sustrato como lo haría un guante en una mano. El centro activo se adaptaría exactamente al sustrato como un guante de goma se adapta a la mano. Si el guante tuviera sólo 4 dedos o fuese demasiado grande o pequeño, no podría adaptarse. Pero, por otro lado, el guante vacío, no tiene aún la forma exacta de quien se lo va a poner.



## 5. Cinética enzimática

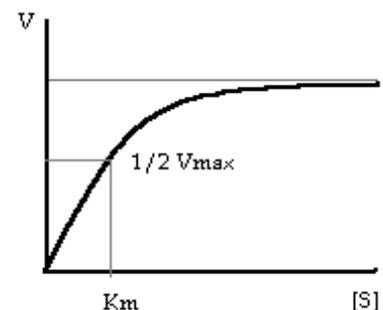
### 5.1. Factores que regulan la actividad enzimática

a) **Temperatura:** Cada enzima tiene una temperatura óptima en la cual la velocidad de reacción es máxima. Suele ser 40°C. Si aumenta mucho, la enzima se desnaturaliza. El calor aumenta la energía cinética con lo que aumenta la movilidad de las moléculas facilitando su encuentro.



b) **p<sup>H</sup>:** Cada enzima presenta unos valores de p<sup>H</sup> entre los que son efectivos. Entre ambos existe un p<sup>H</sup> óptimo en el que la velocidad de la reacción es máxima. Fuera de los límites la enzima se desnaturaliza.

c) **Concentración de sustrato:** Al aumentar la concentración del sustrato se aumenta la velocidad de reacción ya que, al haber más moléculas de sustrato, se facilita el encuentro de estas con el enzima, hasta alcanzar la velocidad máxima (V<sub>máx</sub>), a partir de ese momento se mantiene constante ya que todas las enzimas se encuentran en forma de complejo enzima-sustrato. La V<sub>máx</sub> se alcanza cuando toda la enzima está ocupada por el sustrato.



Este hecho hizo que **Michaelis y Menten** enunciaran la siguiente ecuación.

$$V = V_{máx} \frac{[S]}{[S] + K_m}$$

Se conoce como ecuación de Michaelis-Menten y según ella, la velocidad de una reacción depende de la concentración del sustrato, de la velocidad máxima y de la **K<sub>m</sub>**.

**Constante de Michaelis-Menten (K<sub>m</sub>)**: Concentración de sustrato necesaria para alcanzar la mitad de la V<sub>máx</sub>. Mide la afinidad de la enzima por el sustrato.

Resulta muy complicado conocer cual es la concentración de sustrato necesaria para alcanzar la velocidad máxima y por esta razón para expresar la eficacia de una enzima se utiliza la K<sub>m</sub>.

Cada enzima posee una K<sub>m</sub> específica.

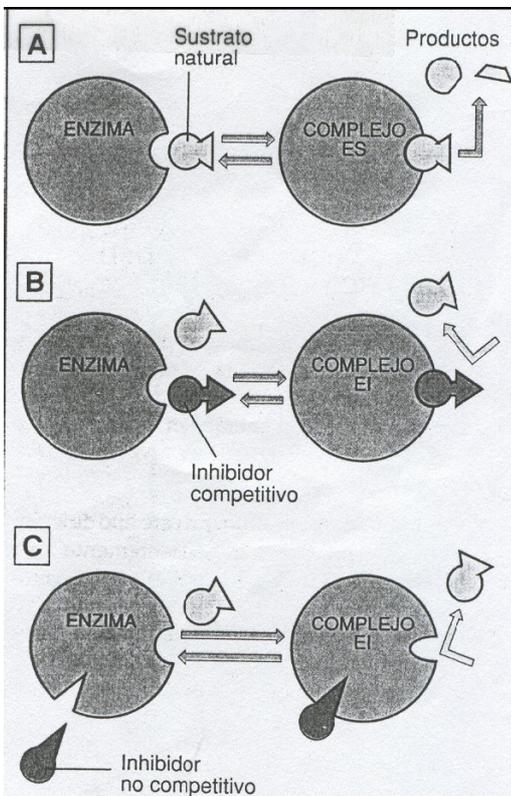
d) **Activadores**: Algunos enzimas necesitan activadores para desarrollar su acción, que suelen ser iones. Actúan como cofactor.



e) **Inhibidores**: Son moléculas que impiden el normal funcionamiento de las enzimas o las inutilizan, ya que disminuyen o anulan la actividad enzimática.

Constituyen un mecanismo de control de las reacciones metabólicas.

La inhibición puede ser:



a) **Inhibición irreversible**: Envenenamiento del enzima. El inhibidor se une al centro activo de la enzima de forma permanente mediante un enlace covalente, con lo que la enzima queda inutilizada. Ej: fármacos y tóxicos. El ión cianuro se une a la citocromo-oxidasa que es clave en la respiración.

b) **Inhibición reversible**: No se inutiliza el centro activo sino que impide temporalmente su normal funcionamiento. No se une mediante enlaces covalentes. Puede ser de dos tipos:

- **Inhibición reversible competitiva**: El inhibidor es una sustancia semejante al sustrato y compite con él para unirse al centro activo. Sin embargo la enzima no puede romperlo y no podrá actuar hasta que se libere de él. Disminuye la velocidad de reacción. Se puede anular su inhibición aumentando la concentración de sustrato.
- **Inhibición reversible no competitiva**: El inhibidor se une a la enzima en un lugar distinto al centro activo, pero lo modifica e impide el acoplamiento del sustrato o bien hace fijo al complejo enzima-sustrato.

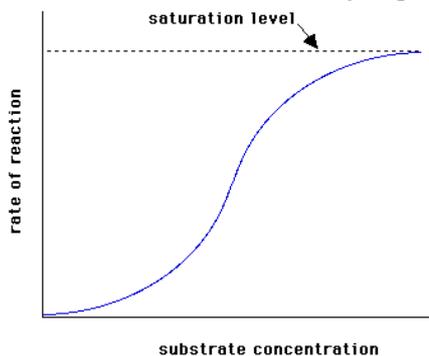
Tipos de inhibición			
<p><b>Irreversible.</b> El inhibidor se fija de forma permanente al centro activo de la enzima y lo inutiliza.</p>	<p><b>Irreversible competitiva.</b> El inhibidor se une temporalmente a la enzima.</p>	<p><b>Irreversible no competitiva.</b> El inhibidor se une a la enzima y no permite la fijación del sustrato.</p>	<p><b>Bloqueo complejo enzima-sustrato.</b> El inhibidor se fija al complejo enzima-sustrato e impide la formación de los productos.</p>

## 5.2. Regulación de la actividad enzimática: Alostерismo

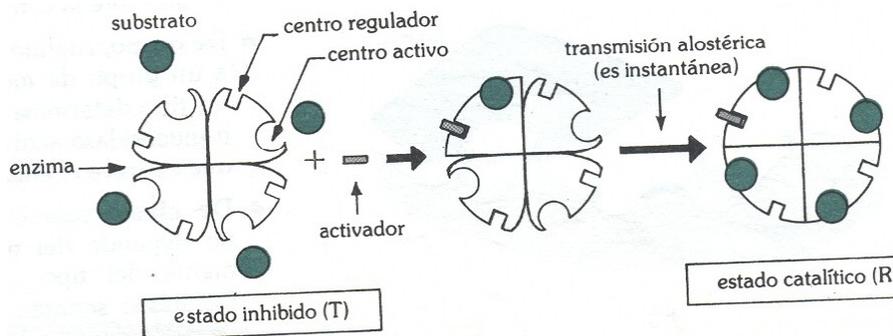
La actividad catalítica puede ser regulada por ciertos mecanismos de las células que permiten adecuar la velocidad de las reacciones del metabolismo, adaptándola a las necesidades de cada momento, de manera que resulten ordenadas, tanto en el tiempo como en el espacio, ya que se suceden en determinados compartimentos celulares.

**Alostерismo:** consiste en la existencia de uno o más centros reguladores, a los que se unen moléculas efectoras o moduladoras, distintas al centro activo. Alostérico: ALLO+STEREO; ALLO = otro; STEREO = sitio. Los enzimas alostéricos tienen “otro sitio” además del centro activo.

**Enzimas alostéricos:** Son aquellos cuyo comportamiento no se puede explicar mediante el modelo de Michaelis-Menten ya que presentan curvas sigmoideas cuando se representa la concentración del sustrato en función de la velocidad de reacción.

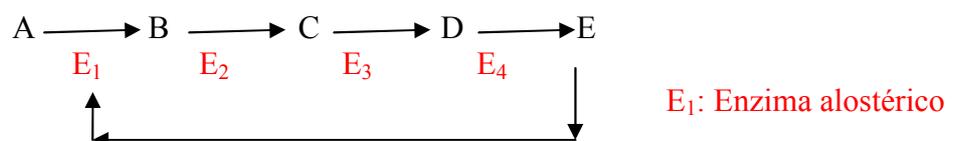


Las enzimas están constituidas por varias subunidades o protómeros. Cada protómero tiene un centro activo y un **centro regulador** al que se unirá el **activador** o **modulador**. Cuando se produce esta unión varía la configuración del protómero y hace funcionar el centro activo y así la enzima pasa del estado T inhibido al estado R activo. Cuando varía la conformación de un protómero, esto se transmite a los otros protómeros asociados haciéndolos activos: Transmisión alostérica instantánea.



Algunos enzimas alostéricos se encuentran en estado inhibido y requieren un activador (que puede ser el sustrato) para pasar al estado catalítico. Otras se encuentran en este estado y requieren un inhibidor, generalmente el producto, y en este caso el proceso se llama **retroinhibición o feed-back** y supone un ahorro de energía.

Existen enzimas que actúan en cadena constituyendo **sistemas multienzimáticos**. Actúan en las reacciones en las que el producto de una reacción constituye el sustrato de la reacción siguiente. La enzima de la primera reacción es alostérica y actúa como regulador del sistema. A este proceso se le llama retroalimentación o feed-back. El metabolito final actúa como inhibidor fijándose al centro regulador de la primera enzima.



Si la concentración de E es excesiva, este actúa como inhibidor uniéndose al enzima E<sub>1</sub> paralizando el sistema.

## 6. Clasificación de las enzimas

Las enzimas se pueden nombrar de diferentes formas.

- Nombres arbitrarios pero anticuados, vulgares: tripsina, pepsina,...
- Nombre del sustrato sobre el que actúa terminado en -asa. Ej: maltasa
- Nombre del sustrato sobre el que actúa – coenzima (si lo hay) – nombre de la reacción sobre la que actúa terminada en -asa. Ej: pirúvico – NaD – deshidrogenasa.  
Glucosa fosfotransferasa. (hexoquinasas).

Las enzimas se clasifican en 6 clases principales:

- Oxidoreductasas: Catalizan reacciones de oxidación o reducción del sustrato, es decir, de transferencia de electrones. Las principales son oxidasas y deshidrogenasas.
- Transferasas: Intervienen en reacciones en las que se transfiere un grupo funcional de un sustrato a otro. Las principales son las quinasas, que transfieren grupos fosfato facilitando la formación de ATP.
- Hidrolasas: Intervienen en reacciones de hidrólisis en las que se rompe una molécula por introducción de una molécula de agua disociada en sus componentes:  $\text{OH}^-$  y  $\text{H}^+$ . Las principales son: esterasas (rompen enlaces tipos éster), peptidasas, glucosidasas.
- Liasas: Intervienen en reacciones en las que se rompen enlaces C – C; C – O; C – N, dando lugar a la aparición de moléculas que poseen dobles enlaces o liberación de grupos químicos. Desaminasas y descarboxilasas.
- Isomerasas: Intervienen en reacciones en las que una molécula se transforma en su isómero.
- Ligasas: Intervienen en reacciones en las que dos o más moléculas se unen para dar otra más compleja. Catalizan la formación de enlaces y precisan energía que procede del ATP.

## 7. Actividades

- Explica por qué el aumento de temperatura acelera la velocidad de una reacción.
- ¿Qué tipos de enlaces forman el complejo enzima-sustrato?
- ¿Cuándo se dice que un enzima está saturado? ¿Por qué no sigue aumentando la velocidad de reacción a medida que aumenta la concentración de sustrato?