

Tema 6.1. Enzimas



Dudas en los:

Foros o



WhatsApp al **653 82 62 03**

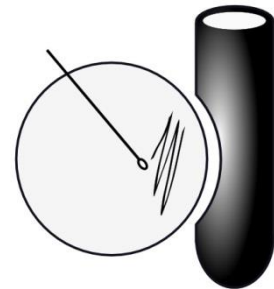
<http://formaciontecnicolaboratorio.com/>



[@Contraste Fases](#)



Contrastedefases



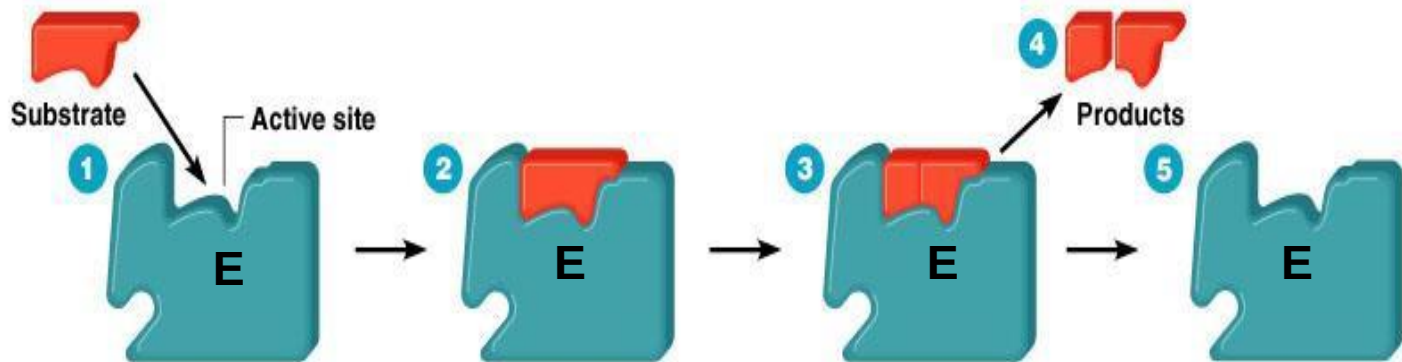
CONTRASTE DE FASES
Centro de formación de TEL

Las enzimas son proteínas



- **Catalizan reacciones químicas necesarias para la supervivencia celular**

Sin las enzimas los procesos biológicos serían tan lentos que las células no podrían existir. Permiten que las reacciones sean termodinámicamente favorables y tengan lugar sin necesidad de calor o fuentes de energía química.



Reacciones enzimáticas

Enzima

Características

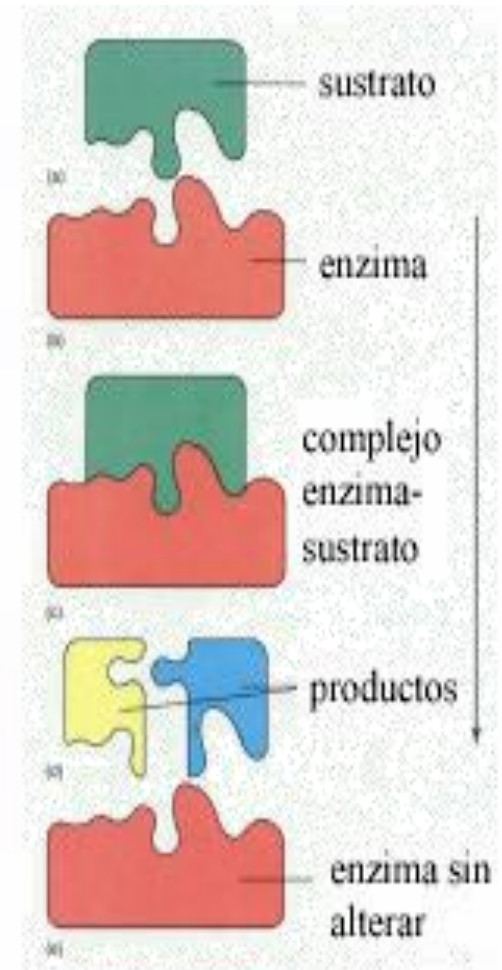


- Especificidad por el sustrato
- Se inactivan por desnaturación: pH, Temperatura, fuerza iónica Pueden ser reguladas
- Al final de la reacción permanecen inalteradas
- Bajas cantidades catalizan la reacción

Características cinéticas

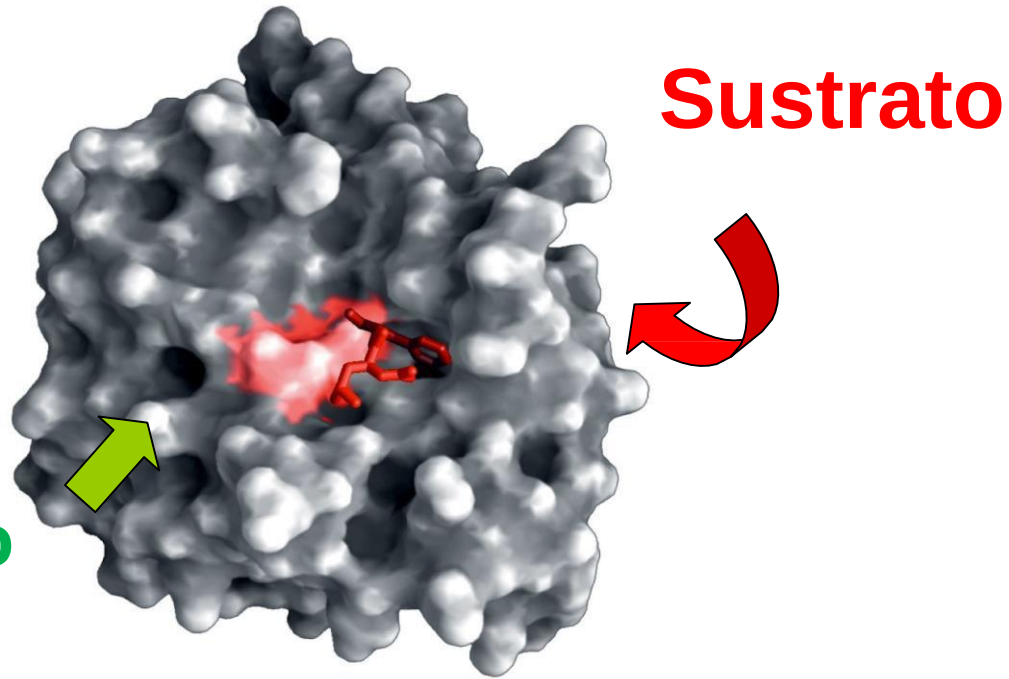
- Aumentan velocidad de reacción
- Disminuyen energía de activación
- **No modifican la constante de equilibrio (K).** La reacción avanza en la misma dirección en la que lo haría en ausencia de enzima, solo que más rápido.

- Las enzimas se unen a los reactivos (sustratos) reduciendo la energía de activación
- Cada enzima tiene una forma única con un sitio o centro activo en el que se une al sustrato
- Después de la reacción, enzimas y productos se separan.
- Las moléculas enzimáticas no han cambiado después de participar en la reacción



Enzima

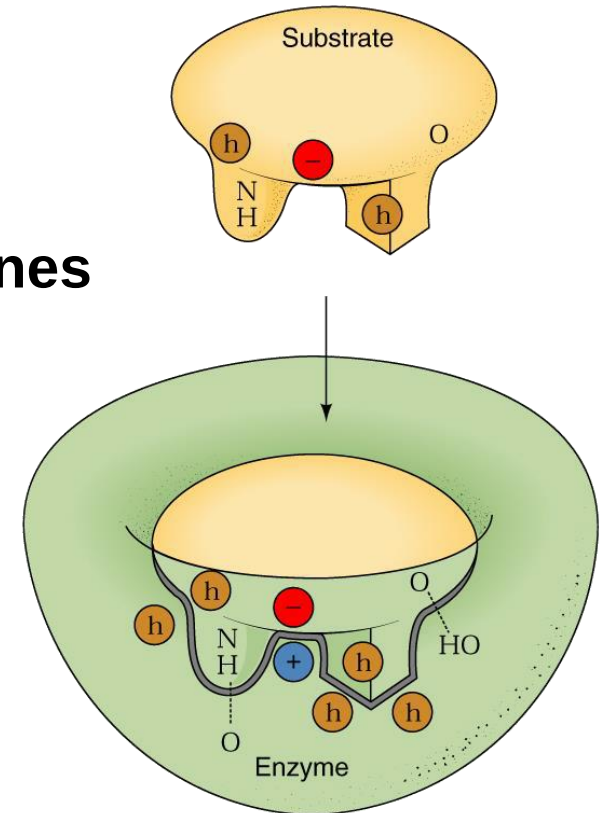
Sitio activo



- Las enzimas suelen ser muy **específicas** tanto del **tipo de reacción** que catalizan como del **sustrato** involucrado en la reacción.
- La forma, la carga y las características hidrofílicas/hidrofóbicas de las enzimas y los sustratos son los responsables de dicha especificidad.
- La **constante de especificidad**, es una medida de la eficiencia de una enzima

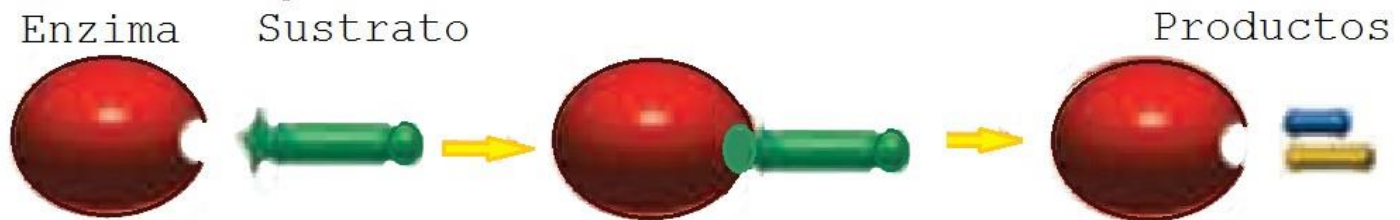
La unión enzima-sustrato es muy específica

- Complementariedad geométrica
- Complementariedad de cargas, uniones iónicas



- Modelos:

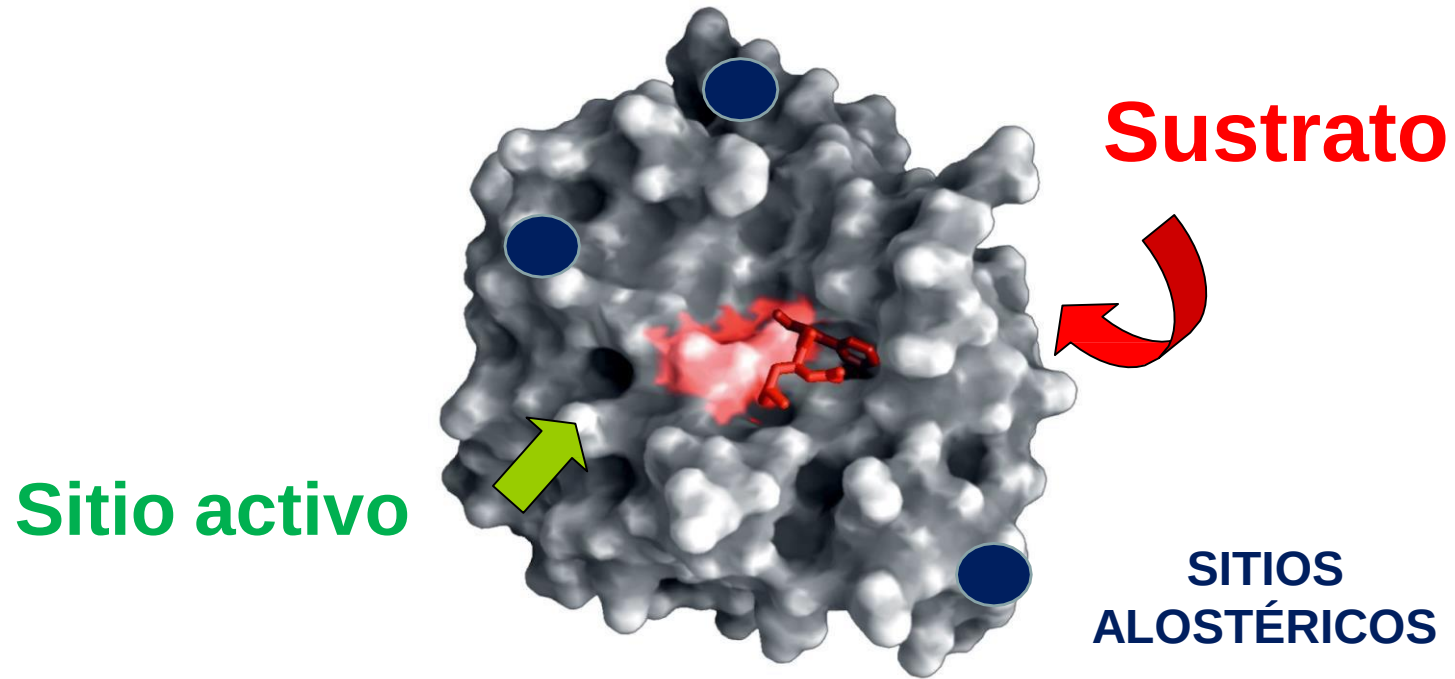
Modelo de ajuste inducido



Modelo llave - cerradura



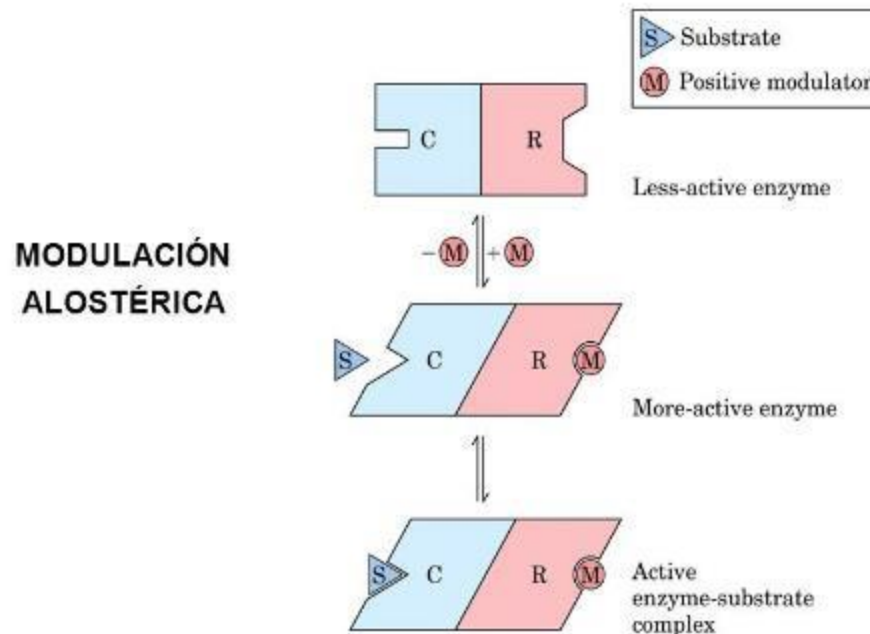
Estructura Enzima



Sitio activo: es la zona de la enzima en la que se une el sustrato para ser catalizado.

SITIOS ALOSTÉRICOS

- Los sitios alostéricos son zonas de la enzima con capacidad de reconocer y unir determinadas moléculas en la célula.
- Las uniones a las que dan lugar son débiles y no covalentes, y generan un cambio en la conformación estructural de la enzima que repercute en el sitio activo, afectando así a la velocidad de reacción.
- Pueden tanto inhibir como activar enzimas, y son una forma muy común de controlar las enzimas en las células.



Más conceptos:

Algunas enzimas no precisan ningún componente adicional para mostrar una total actividad. Sin embargo, otras enzimas requieren la unión de moléculas no proteicas denominadas **cofactores** para poder ejercer su actividad.



Apoenzimas (o apoproteínas): parte proteica de una holoenzima. Es la forma inactiva.



Holoenzima: Enzima que requiere de un cofactor para presentar actividad. Están constituidos por apoenzima + cofactor. Es la forma activa

Cofactores: son iones metálicos, moléculas inorgánicas o moléculas orgánicas (Ej: Fe^{2+} , Cu^{2+} , K^{+} , Mn^{2+} , Mg^{2+} , vitaminas)

-Moléculas orgánicas covalentemente (fuertemente) unidas a la apoenzima:

grupos prostéticos

-Moléculas orgánicas débilmente unidas que se separan de la apoenzima cuando la reacción termina: **coenzimas (ej. Vitamina)**.



Calcio cofactor de amilasa

Piridoxal fosfato cofactor de ALT

Magnesio cofactor de ALP

Más conceptos: ISOENZIMAS

Formas estructuralmente diferentes que catalizan la misma reacción. Son enzimas que difieren en la secuencia de aminoácidos, pero que catalizan la misma reacción química. Se suelen encontrar en órganos o tejidos específicos.

Ejemplos: LDH, CK, fosfatasa alcalina, fosfatasa ácida



Láctico Deshidrogenasa

Tipo	Composición	Localización
LDH ₁	HHHH	Miocardio, eritrocito, riñón, páncreas
LDH ₂	HHHM	Miocardio, eritrocito, riñón
LDH ₃	HHMM	Páncreas, pulmón, leucocitos
LDH ₄	HMMM	Hígado, músculo esquelético
LDH ₅	MMMM	Hígado, músculo esquelético

Forma 1: la isoenzima que migra más rápido hacia el ánodo, migración electroforética

Más conceptos:

Zimógeno o proenzima un precursor enzimático inactivo, que no cataliza ninguna reacción como hacen las enzimas. Para activarse necesita de un cambio bioquímico en su estructura.

Clasificación enzimas según reacción que catalizan

OXIDORREDUCTASAS. Catalizan reacciones de oxidorreducción, es decir, transferencia de hidrógeno (H) o electrones (e-) de un sustrato a otro

TRANSFERASAS. Catalizan la transferencia de un grupo químico (distinto del hidrógeno) de un sustrato a otro.

HIDROLASAS: Catalizan las reacciones de hidrólisis

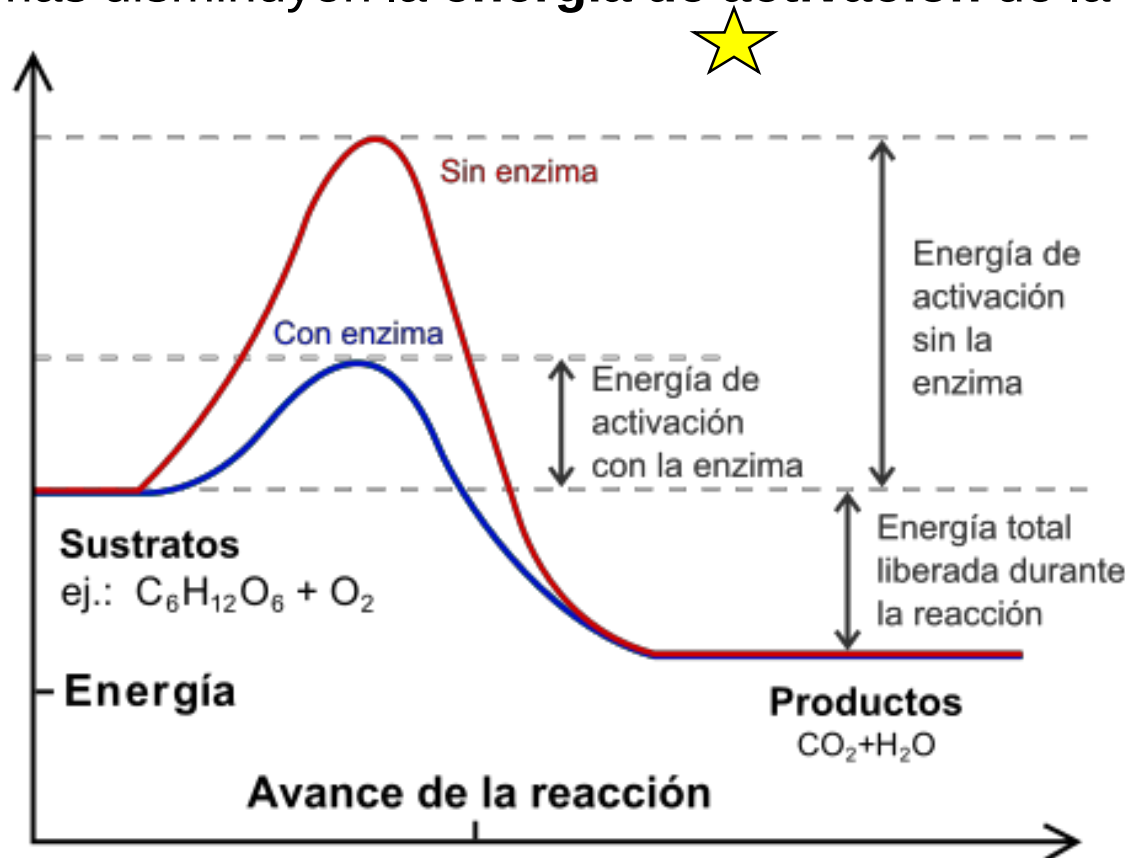
LIASAS: Catalizan reacciones de ruptura o soldadura de sustratos

ISOMERASAS. Catalizan la interconversión de isómeros

LIGASAS. Catalizan la unión de dos sustratos con hidrólisis simultánea de un nucleótido trifosfato (ATP, GTP, etc.)

Cinética Enzimática

- La cinética enzimática es el análisis cuantitativo del efecto de cada uno de los factores que intervienen en **la actividad enzimática**, que se evalúa a través de **la velocidad de la reacción catalizada**.
- Las enzimas disminuyen la **energía de activación** de la reacción



Cinética Enzimática

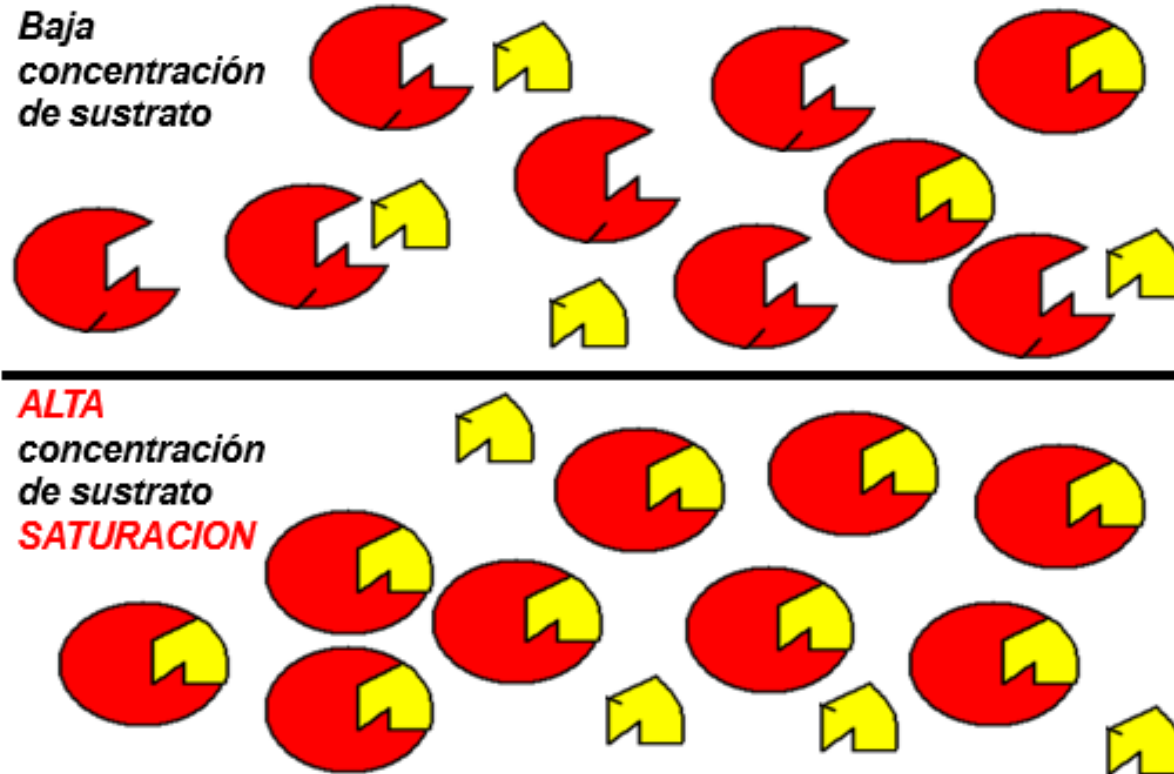
➤ Las variables más importantes son:



- Concentración de enzima, sustratos y productos (incluyendo inhibidores y/o activadores)
- pH
- Temperatura
- Fuerza iónica (*a mayor fuerza iónica, menor actividad*)

Se utiliza la **ecuación de Michaelis Menten**. Gráficamente, a veces, se utiliza el **gráfico de Lineweaver-Burk**

Cuando la concentración de sustrato es baja, la velocidad de la reacción es proporcional a la concentración de sustrato (a mayor concentración de sustrato, mayor velocidad de la reacción química) y entonces decimos que la reacción es de **PRIMER ORDEN**



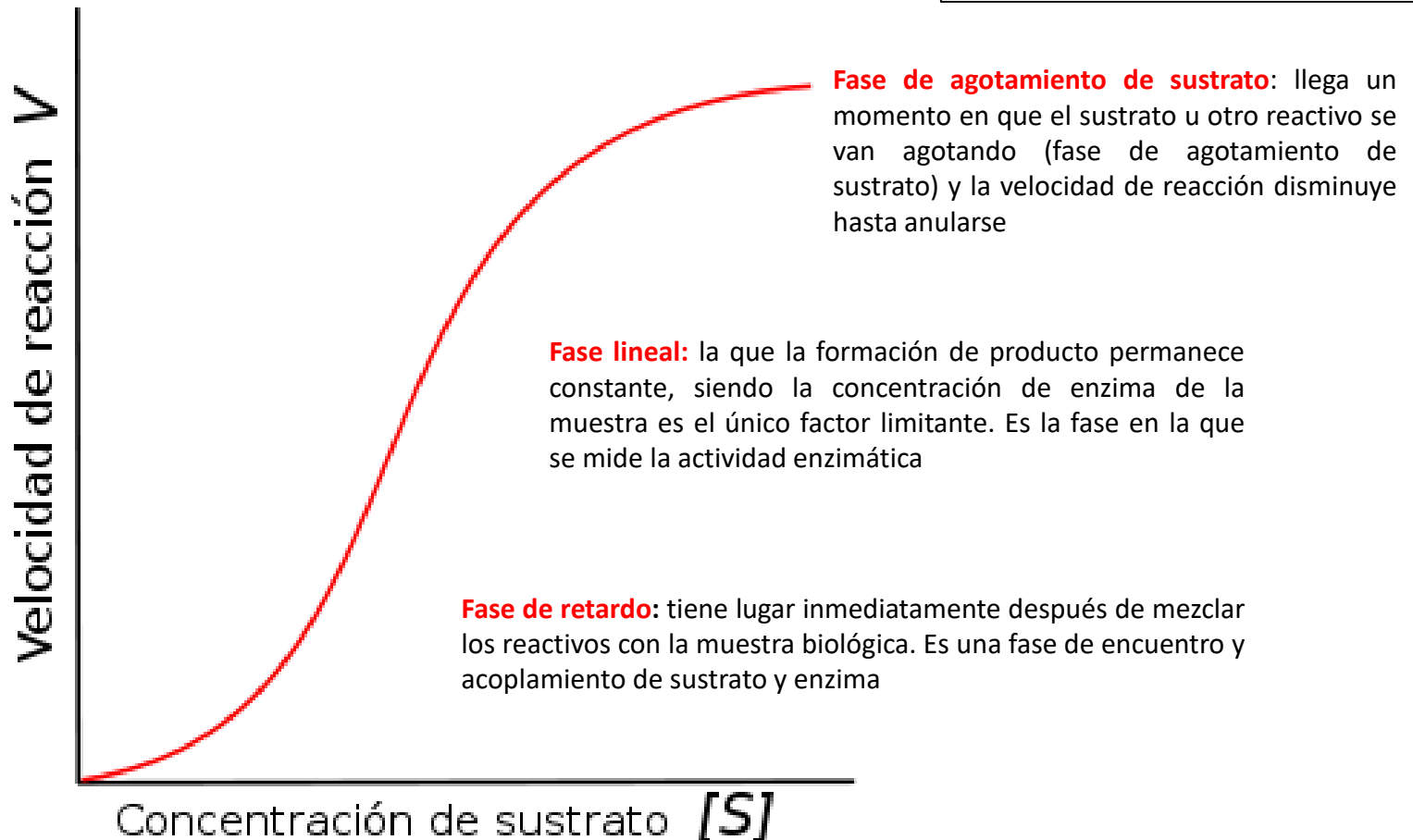
Cuando la concentración de sustrato es muy alta y la enzima se encuentra saturada, entonces la velocidad de la reacción ya no depende de la cantidad de sustrato, decimos que la **REACCIÓN ES DE ORDEN CERO**. Bajo estas condiciones, la velocidad de la reacción sólo depende de la enzima y estamos en su velocidad máxima.

Postulados

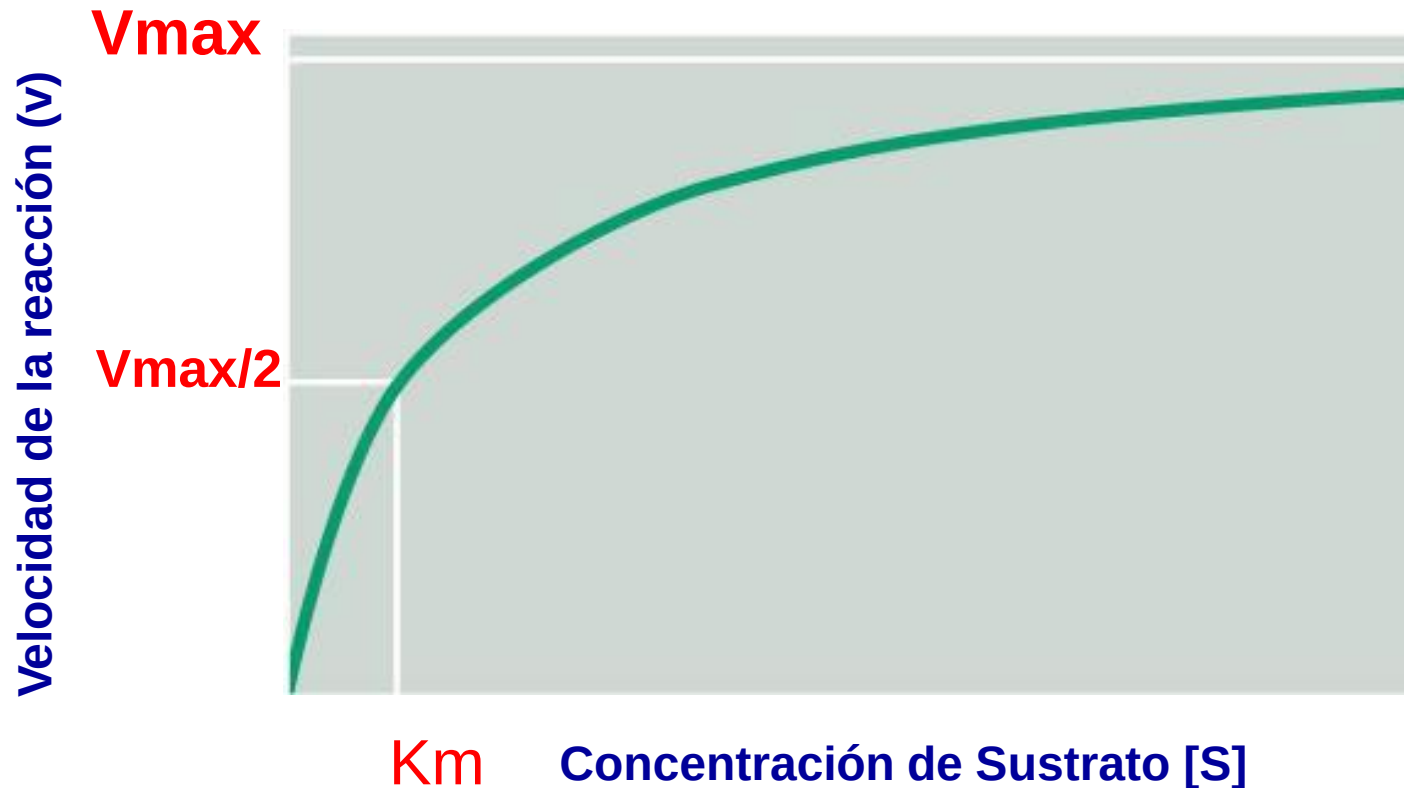
- Estado estacionario: ES constante
- Concentración de sustrato mayor que de enzima
- Velocidad máxima coincide con el momento de saturación

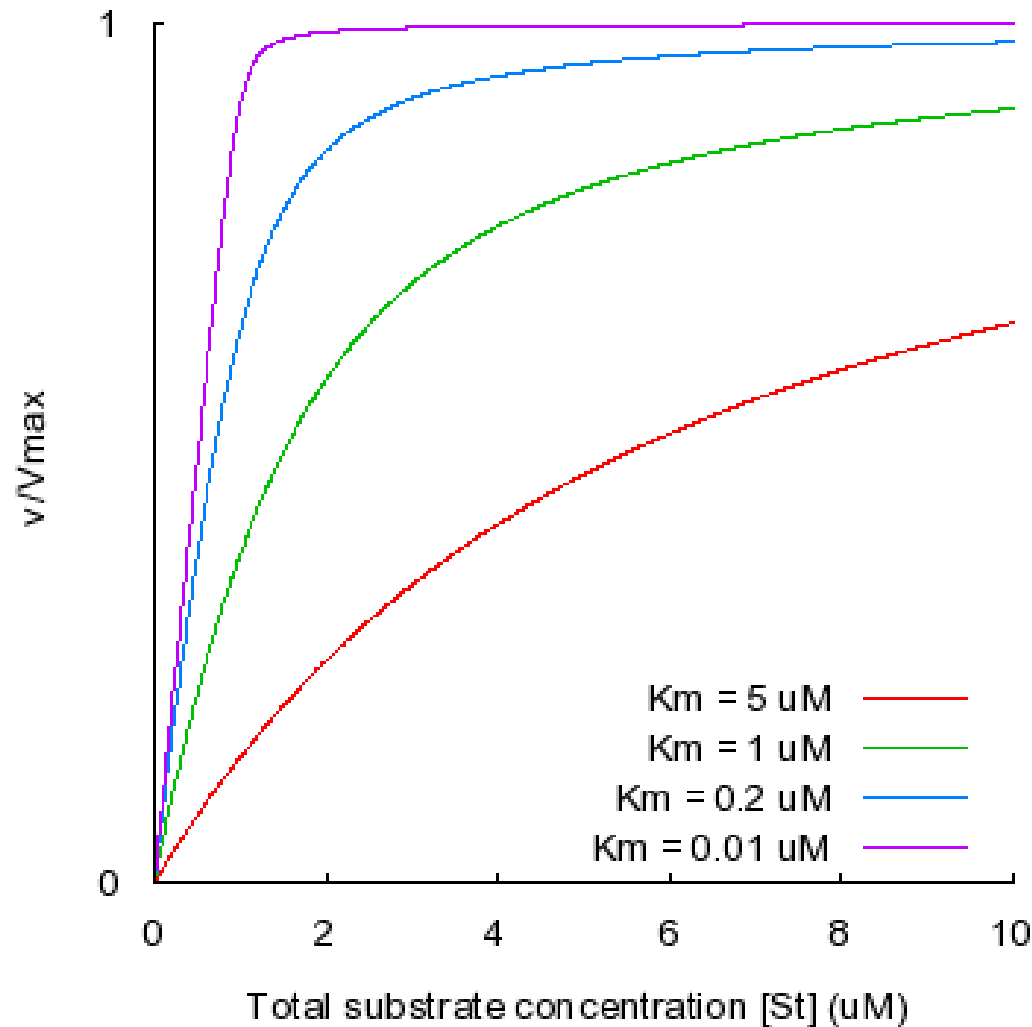
Efecto de la concentración de sustrato

La **VELOCIDAD** de reacción frente a la concentración de sustrato suele tener forma **SIGMOIDEA**.



- La cantidad de sustrato necesario para obtener una determinada velocidad de reacción también es importante.
- Este parámetro viene dado por la **constante de Michaelis-Menten (K_m)** -> la concentración de sustrato necesaria para que una enzima alcance la mitad de su velocidad máxima.





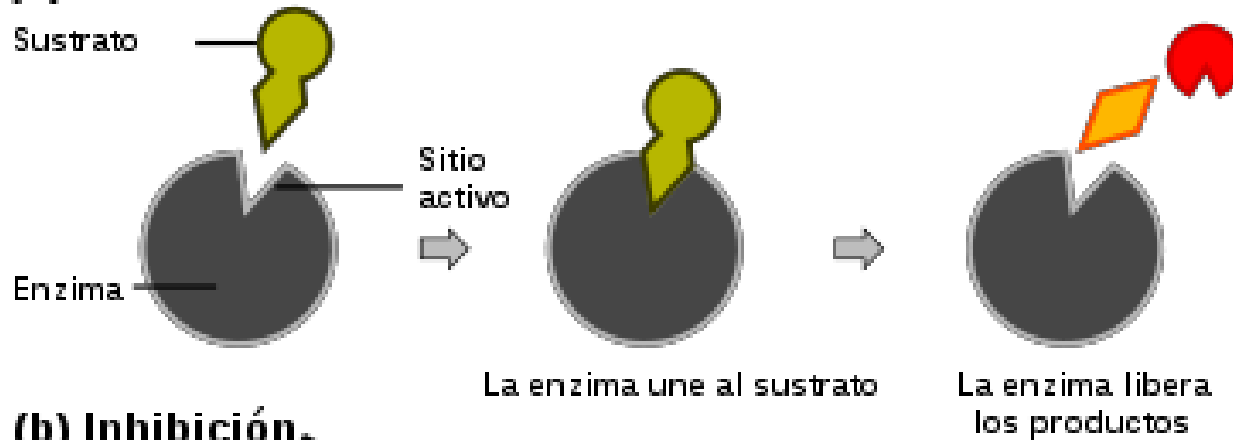
A **mayor** K_m , **menor** es la afinidad de la enzima por el sustrato



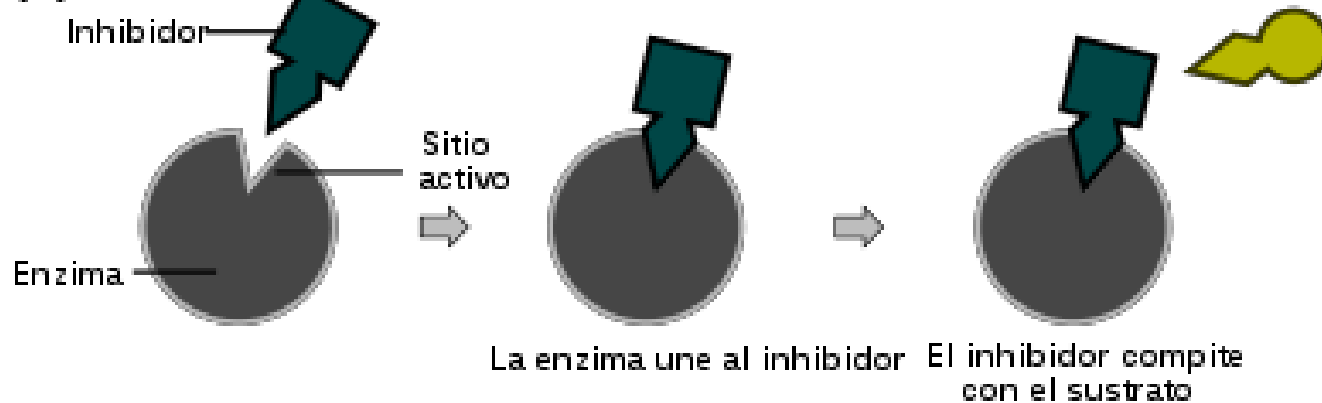
A **menor** K_m , **mayor** es la afinidad de la enzima por el sustrato

INHIBICIÓN ENZIMÁTICA

(a) Reacción



(b) Inhibición



INHIBICIÓN ENZIMÁTICA

CLASIFICACIÓN

SEGÚN LA POSIBILIDAD DE REVERTIR LA INHIBICIÓN

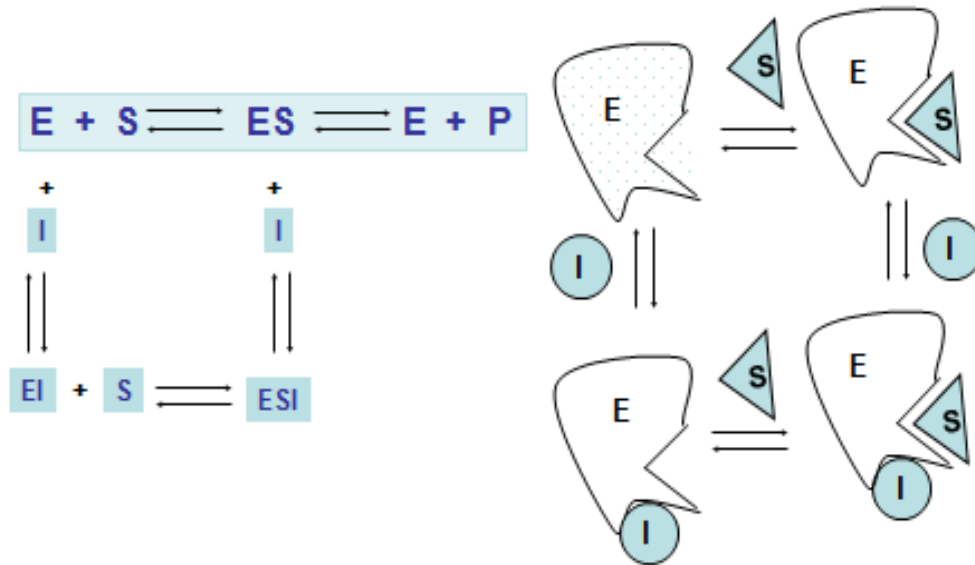
- **Irreversibles:** el inhibidor se une covalentemente a la enzima sin posibilidad de revertir la modificación
- **Reversibles:** unión más débil y posibilidad de revertir la modificación

SEGÚN LA FORMA EN LA QUE INTERVIENE EN LA REACCIÓN

1. **No competitiva**
2. **Competitiva**
3. **Acompetitiva**

Mixta: mezcla de las anteriores

INHIBICION NO COMPETITIVA

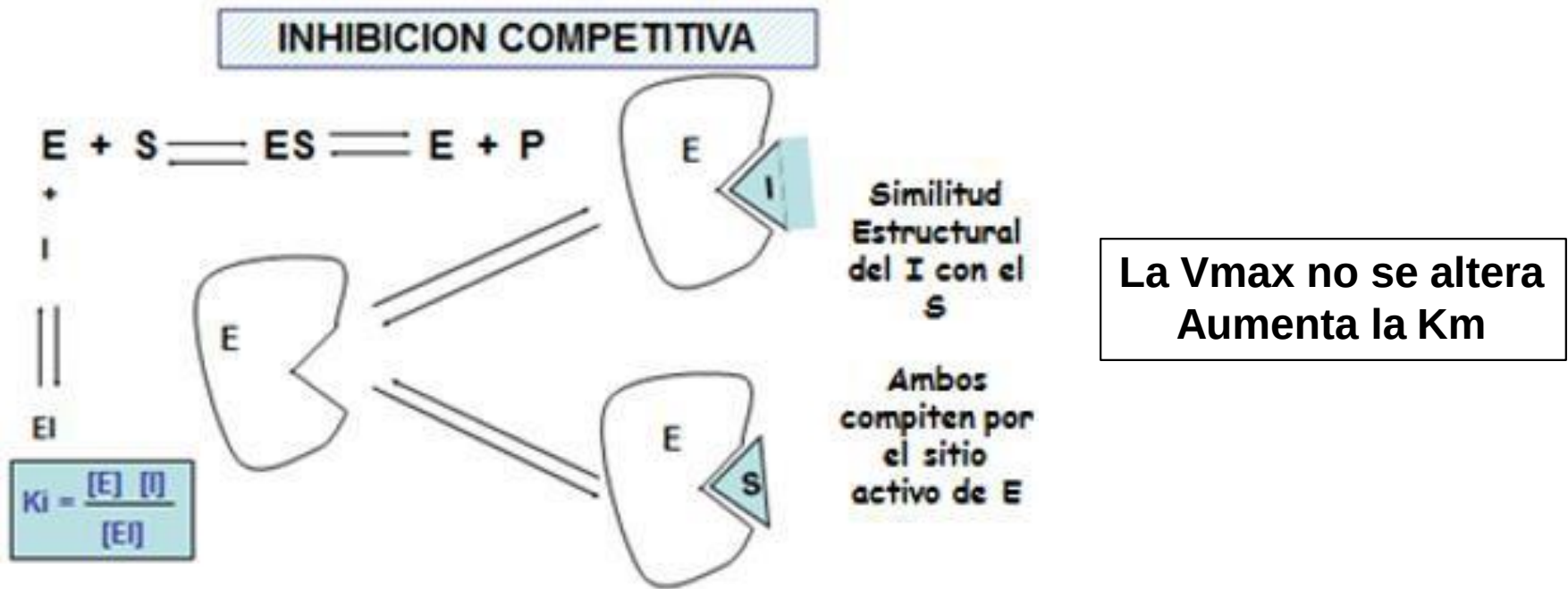


**La Vmax disminuye
Km constate**

Es una forma de inhibición mixta donde la unión del inhibidor con la enzima reduce su actividad pero no afecta la unión con el sustrato.

El grado de inhibición depende solamente de la concentración de inhibidor, independientemente de la concentración de sustrato, con lo que varía el valor de la $V_{\max}$ aparente.

Sin embargo, como el sustrato aún puede unirse a la enzima, el valor de K_m no varía.

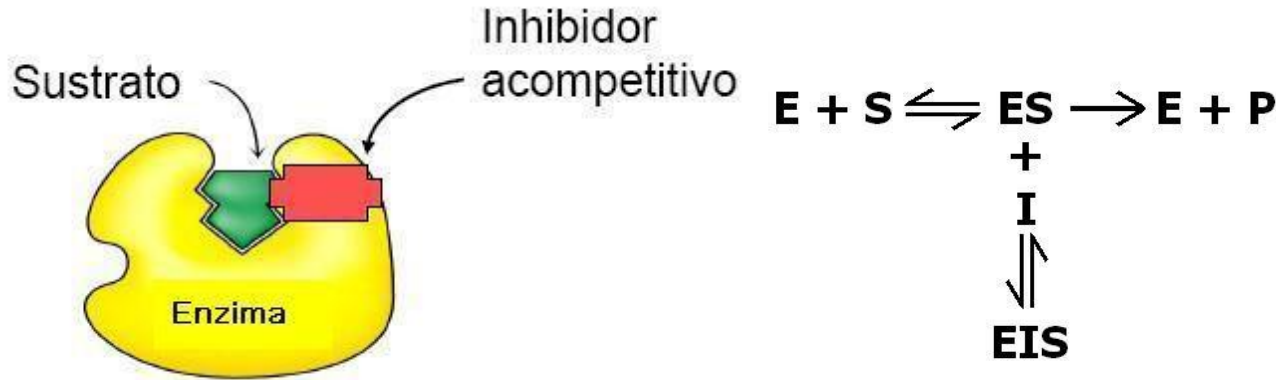


El sustrato y el inhibidor no se pueden unir a la misma enzima al mismo tiempo.

Este tipo de inhibición se puede superar con concentraciones suficientemente altas del sustrato, es decir, dejando fuera de competición al inhibidor.

La velocidad máxima de la reacción no varía, pero se necesitan concentraciones más elevadas de sustrato para alcanzar una determinada velocidad, incrementándose así la K_m aparente.

INHIBICIÓN ACOMPETITIVA



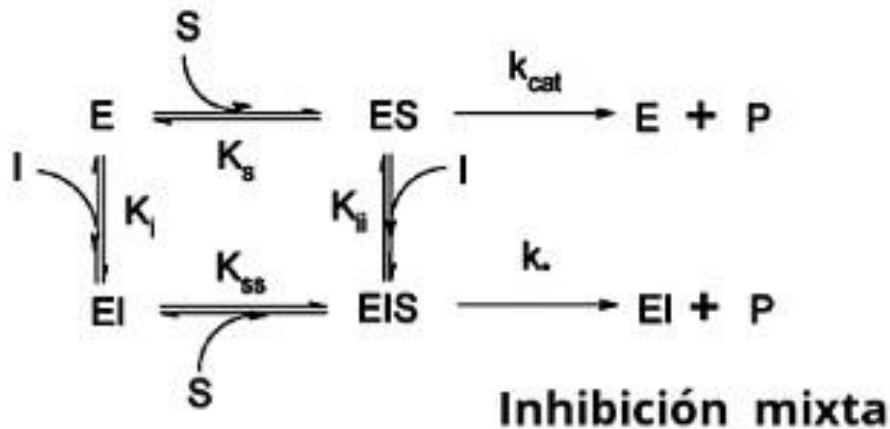
**La V_{max} disminuye
 K_m disminuye**

El inhibidor no puede unirse a la enzima libre, sino únicamente al complejo enzima-sustrato (ES).

Una vez formado el complejo con el inhibidor (EIS) la enzima queda inactiva.

Este tipo de inhibición es poco común, pero puede darse en enzimas multiméricas.

INHIBICIÓN MIXTA



**Variaciones de
Vmax y de Km
variables**

El inhibidor se puede unir a la enzima al mismo tiempo que el sustrato. Sin embargo, la unión del inhibidor afecta la unión del sustrato, y viceversa.

Este tipo de inhibición se puede reducir, pero no superar al aumentar las concentraciones del sustrato.

Aunque es posible que los inhibidores de tipo mixto se unan en el sitio activo, este tipo de inhibición resulta generalmente de un efecto alostérico donde el inhibidor se une a otro sitio que no es el sitio activo de la enzima

Análisis enzimáticos

1) Medida de actividad enzimática

- Tasa de desaparición del sustrato
- Tasa de aparición del producto
- Acoplarse a otra reacción para producir sustancia indicadora

REACCIÓN INDICADORA a la que utiliza o produce el compuesto medido, y **REACCIONES AUXILIARES** a las que permiten acoplar la reacción indicadora con la reacción principal, siendo esta última la reacción catalizada por la enzima objeto de medición.

Medición:

Medida punto final

Medida cinética (a varios tiempos) -> mide velocidad reacción

Métodos

Espectrofotometría: NADH (Absorbe 340 nm) Conductancia, turbidimetía, etc

En las determinaciones analíticas de actividad enzimática se trabaja en la zona en la que la actividad es independiente de la concentración de sustrato.

2) Medida como proteína: inmunoensayo, electroforesis, etc

Definición Actividad Enzimática

- Cantidad de enzima que cataliza la conversión de 1 μmol de sustrato en producto por minuto. Esto supone que la enzima está plenamente saturada con sustrato y por tanto que la reacción se efectúa con su máxima rapidez

Se expresa en UI/L internacional

★ UI = $\mu\text{mol} / \text{minuto}$

★ La unidad derivada del sistema internacional es el **katal (moles /segundo)**

Ejemplos de enzimas utilizadas en diagnóstico

- Fosfatasa ácida -> **Hidrolasa** ★
- Fosfatasa alcalina -> **Hidrolasa**, responsable de eliminar grupos de fosfato
- Lipasa -> **Hidrolasa**
- Amino transferasas o transaminasas (ALT, AST) -> **Transferasas**
- Enzima convertidora de angiotensina (ECA)
- Colinesterasa y pseudocolinesterasa -> **Hidrolasa**
- Creatin quinasa -> **Transferasa**
- GGT (gamma glutamil transferasa) -> **Transferasas** ★
- LDH (lactato deshidrogenasa) -> **oxidoreductasa**
- Leucina aminopeptidasa
- 5'Nucleotidasa

AUMENTO ENZIMAS DEBIDO A:

- Muerte celular. Ej: CK
- Inducción enzimática. Ej: GGT frente a tóxicos
- Disminución de su filtración glomerular. Ej. Macroenzimas

Nomenclatura enzimas (sólo leer)

- **Nombre sistemático.**

Consta de tres partes: sustrato preferente+ tipo de reacción + terminación asa

- **Nombre recomendado:** suele ser nombre común de uso habitual

- **Nº de clasificación**

establecido por la Unión Internacional de Bioquímica IUB.

Posee las siglas EC seguida de cuatro números:

- 1) tipo de reacción que cataliza
- 2) sustrato sobre el que actúa
- 3) aceptor
- 4) especificidad de la reacción