

TEMA Nº 5.- ENZIMAS Y VITAMINAS**INTRODUCCIÓN**

En los seres vivos se producen continuamente infinidad de reacciones químicas que, para que se realicen con normalidad, es necesario que ocurran de una manera ordenada y rápida.

Existen unos compuestos, llamados **biocatalizadores**, que son los encargados de llevar a cabo dichas reacciones. Los **biocatalizadores** son las **enzimas**, las **vitaminas** y las **hormonas**. Dichas sustancias intervienen en las reacciones biológicas regulándolas de manera significativa. En algunos casos su actuación se realiza sin que dichas sustancias se modifiquen, **enzimas**, en otros sufren pequeñas modificaciones, **vitaminas y hormonas**.

En este tema trataremos exclusivamente sobre las **enzimas** y las **vitaminas**, ya que las hormonas no son objeto de estudio en este curso.

1.- ENZIMAS

Constituyen la clase de proteínas más amplia y más altamente especializada. Catalizan los millares de reacciones químicas que, colectivamente, constituyen el metabolismo intermediario de las células. Gran parte de la historia de la bioquímica es la historia de la investigación enzimática.

La actividad de las enzimas fue ya reconocida en los estudios iniciales de la digestión en el estómago, durante el período de 1780 a 1825.

En 1860 **L. Pasteur** fue el primero en hablar de las enzimas ya que descubrió que el proceso de fermentación alcohólica se realizaba gracias a la actuación de unos compuestos a los que llamó **fermentos** en referencia a la acción que ejercían. **Pasteur** postuló que dichos **fermentos** se hallaban ligados con la estructura y la vida de las células de levadura.

Posteriormente esta misma acción se describió también en diversos órganos y tejidos, y en 1877 **Friedrich Wilhem Kühne** propuso el nombre actual de **enzimas** para designar a estas sustancias.

En 1897 **E. Büchner** consiguió aislar, a partir de las células de levadura, esos fermentos descubiertos por **Pasteur**. Puso de manifiesto que estas importantes enzimas podían actuar independientemente de la estructura celular.

En 1926 **J. B. Sumner** aísla, en forma cristalina, una enzima, llamada **ureasa**, que interviene en la degradación de la urea. **Sumner** sugiere que todas las enzimas eran proteínas.

En 1930 **J. Northrop** aísla e identifica varias enzimas digestivas, **pepsina**, **tripsina** y **quimiotripsina**, estableciendo firmemente la naturaleza proteica de las enzimas.

A partir de esa fecha se han aislado multitud de enzimas y en la actualidad se conoce un número enorme de ellas.

2.- PROPIEDADES GENERALES DE LAS ENZIMAS

Catalizan reacciones químicas que, de otra manera, no se producirían o lo harían de forma muy lenta. Este proceso de catálisis lo efectúan sin alterar el punto de equilibrio de dichas reacciones. Se les considera como verdaderos catalizadores ya que no se consumen ni se alteran, de modo permanente, durante la catálisis.

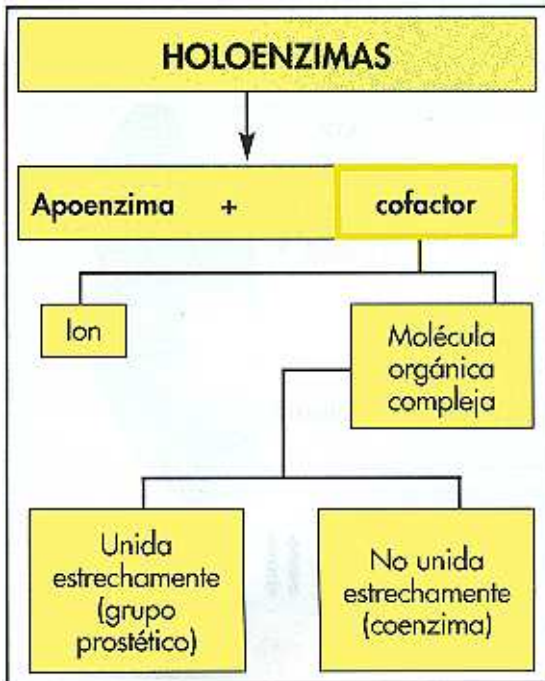


Figura 5.1.- Estructura de una holoenzima.

Todas las enzimas son proteínas de conformación globular y, por esta razón, van a presentar las características de éstas. En este sentido las enzimas pueden cristalizar o pueden verse alteradas por los cambios de pH, temperatura, etc.

Existen enzimas que están constituidas exclusivamente por una o varias cadenas peptídicas, son estrictamente proteicas, pero la mayoría son heteroproteínas y reciben el nombre de **holoenzimas**. En su constitución coexisten una fracción proteica denominada **apoenzima** y otra no proteica, denominada **cofactor**. El **cofactor**, en sentido estricto, es un simple **catión metálico**. Cuando el **cofactor** es una **molécula orgánica compleja** recibe el nombre de **coenzima**, y cuando la **coenzima** está estrechamente ligada a la **apoenzima** se le da el nombre de **grupo prostético** (figura 5.1).

3.- NOMENCLATURA Y CLASIFICACIÓN DE LAS ENZIMAS

Durante algún tiempo, para nombrar a las enzimas se añadía la terminación **-asa** al nombre del sustrato sobre el que actuaba (urea, ureasa). Con el paso del tiempo y al ir descubriéndose un número elevado de enzimas se hizo necesario establecer una clasificación sistemática. Para ello se crea la **I. E. C. (Comisión Internacional de las Enzimas)**, que las clasifican en 6 clases (figura 5.2).

CLASIFICACIÓN DE LAS ENZIMAS		
Clase	Nombre	Tipo de reacción que catalizan
I	Óxido-reductasas	Reacciones de óxido-reducción
II	Transferasas	Transferencia de grupos funcionales
III	Hidrolasas	Reacciones de hidrólisis
IV	Liasas	Rotura o soldadura de compuestos sin que intervenga el agua
V	Isomerasas	Reacciones de isomerización
VI	Ligasas	Formación de enlaces por hidrólisis del ATP

Figura 5.2.- Clasificación de las enzimas según la I. E. C.

3.1.- Clase I. Óxido-reductasas

En esta clase se agrupan todas las enzimas que intervienen en reacciones de transferencia electrónica, en las que un compuesto gana electrones y otro los pierde. A su vez se subdividen en:

3.1.1.- Oxidasas o reductasas. Que intervienen transfiriendo electrones desde un dador electrónico (el agente reductor) a un aceptor electrónico (el agente oxidante). Son enzimas que llevan a cabo reacciones de óxido-reducción. Ejemplo la reacción de la figura 5.4.

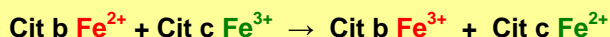


Figura 5.4.- Reacción de óxido-reducción de la cadena respiratoria.

3.1.2.- Deshidrogenasas. Son enzimas oxidantes que separan átomos de hidrógeno del sustrato y que suelen actuar ligadas al NAD^+ , NADP^+ y FAD^+ , (coenzimas de carácter vitamínico). Un ejemplo lo tenemos en la reacción de la figura 5.3.

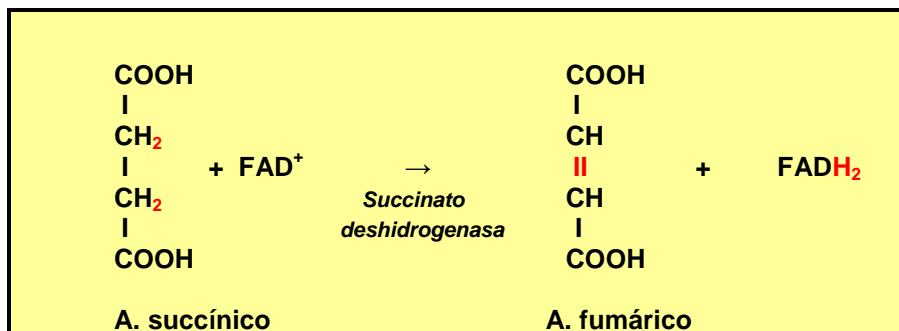


Figura 5.3.- Reacción de deshidrogenación catalizada por la *Succinato deshidrogenasa*.

3.2.- Clase II. Transferasas

Catalizan reacciones en las que se transfiere un grupo funcional, distintos del hidrógeno, desde un sustrato a otro. Un ejemplo lo tenemos en la reacción de la figura 5.5.



Figura 5.5.- Se transfiere un resto fosfato desde el ATP hasta la glucosa.

3.3.- Clase III. Hidrolasas

Catalizan reacciones de hidrólisis, es decir, de ruptura de algún tipo de enlace introduciendo grupos OH^- e H^+ . Actúan ligadas al agua. Un ejemplo lo tenemos en la reacción de la figura 5.6.



Figura 5.6.- Reacción de hidrólisis de la urea.

Dependiendo del tipo de enlace que rompan, las enzimas hidrolíticas reciben distintos nombres: *Esterasas*, si rompen enlaces de tipo éster; *glucosidasas*, si rompen enlaces glucosídicos; *peptidasas*, si rompen enlaces peptídicos; *lipasas*, si rompen moléculas lipídicas, etc..

3.4.- Clase IV. Liasas

Catalizan reacciones de ruptura o de formación de compuestos sin que intervenga el agua. Un ejemplo lo tenemos en la reacción de la figura 5.7.

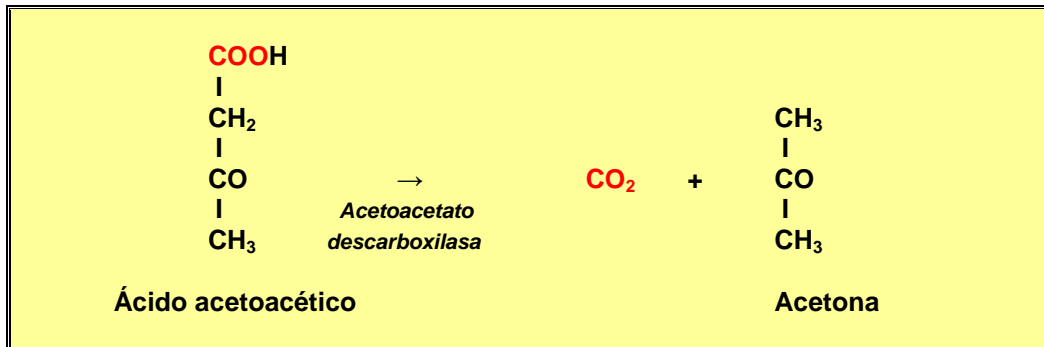


Figura 5.7.- Rotura de un sustrato por acción de una liasa.

3.5.- Clase V. Isomerasas

Catalizan reacciones en las que se produce una reconstrucción espacial de un compuesto sin que cambie su fórmula empírica. Un ejemplo lo tenemos en la reacción de la figura 5.8.

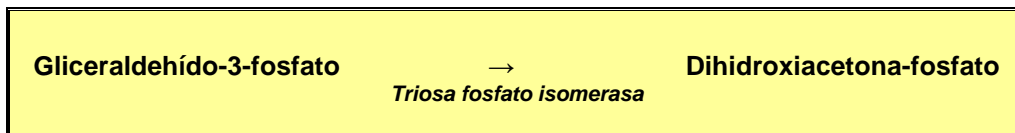


Figura 5.8.- Transformación de un compuesto en otro sin que cambie su fórmula empírica.

3.6.- Clase VI. Ligasas

Catalizan reacciones en las que se forman o rompen compuestos gracias a la energía liberada al romperse una molécula de **ATP**. Un ejemplo lo tenemos en la reacción de la figura 5.9.

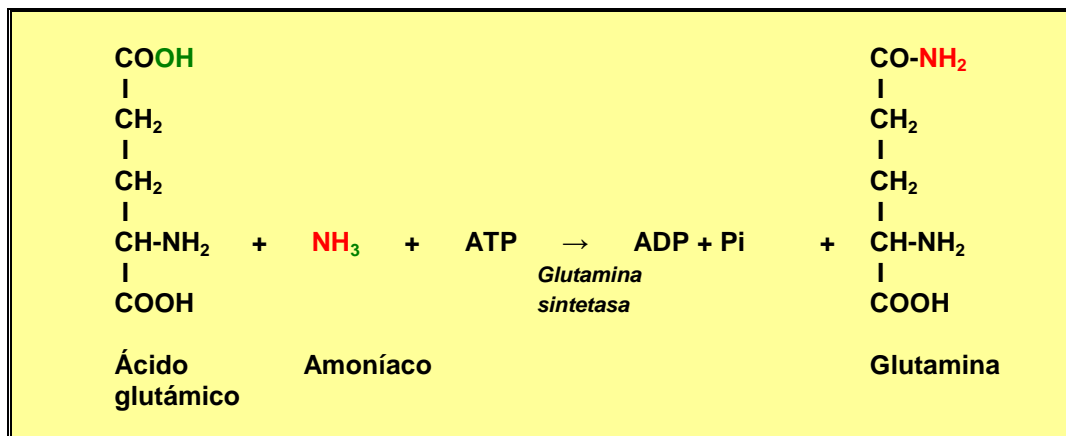


Figura 5.9.- La energía utilizada en la reacción es la que se desprende al romper la molécula de ATP. Uno de los átomos de hidrógeno del amoníaco junto con el -OH del grupo carboxilo del A. glutámico, forman agua que se utiliza para hidrolizar la molécula de ATP que desprenderá energía necesaria para unir el grupo -NH₂ al grupo CO terminal del A. glutámico.

4.- MECANISMO DE ACCIÓN ENZIMÁTICA

4.1.- Energía libre de activación

Una reacción química en la que un compuesto **A** se transforma en un producto **P**, ocurre porque, en un momento determinado, cierta fracción de las moléculas del compuesto **A** adquieren un estado de transición, llamado estado activado, en el que es muy probable que se

formen o se rompan enlaces para originar el producto **P**. Dicho estado activado se encuentra en la cima de una barrera de energía que separa al sustrato **A** del producto **P**.

Entendemos por energía libre de activación, ΔG^\ddagger (el símbolo \ddagger se emplea para representar el proceso de activación), la cantidad de energía necesaria para llevar todas las moléculas de un mol de una sustancia, a una temperatura determinada, hasta el estado de transición, en la cima de la barrera de activación. La energía libre de activación se expresa en **Kcal/mol**. En la figura 5.10, se muestran los diagramas de energía para una reacción no catalizada y catalizada enzimáticamente.

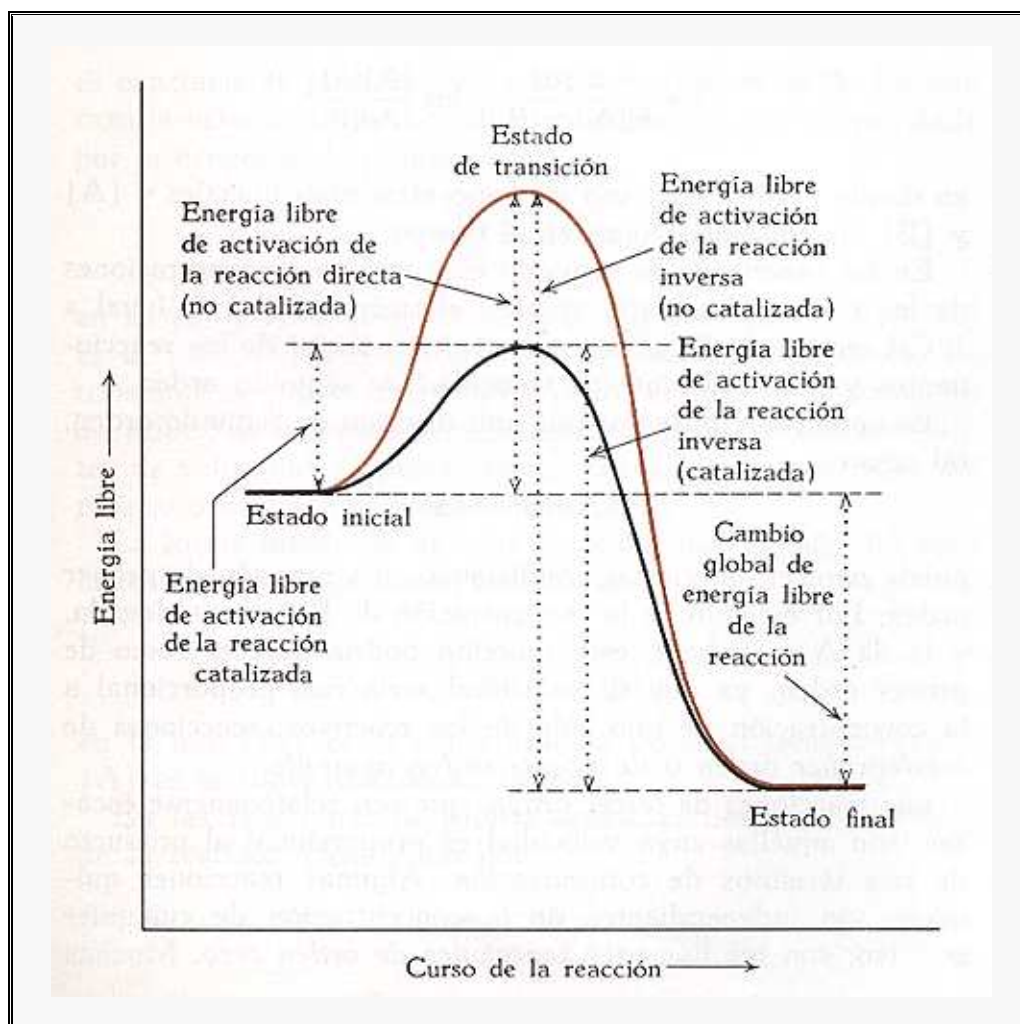


Figura 5.10.- Diagrama de energía para una reacción química no catalizada y catalizada.

Hay dos métodos generales mediante los cuales puede acelerarse la velocidad de una reacción química. El primero consiste en aumentar la temperatura, lo que provoca un incremento del movimiento térmico y de la energía que, a su vez, induce a un mayor número de moléculas para que alcancen el estado de activación, acelerando, de este modo, la velocidad de la reacción. En este sentido, se ha comprobado que, en muchas reacciones, la velocidad se duplica por cada 10°C de aumento en la temperatura. El segundo método consiste en aumentar la velocidad de la reacción adicionando un catalizador que se combina con los reaccionantes de modo transitorio, produciéndose, como consecuencia de esa unión, un estado de transición de menor energía de activación que el correspondiente a la reacción no catalizada. Los catalizadores, pues, aceleran las reacciones químicas porque disminuyen la energía de activación. Cuando la reacción termina se recupera el catalizador libre. En la tabla de la figura 5.11, se muestra la energía de activación para la descomposición del peróxido de hidrógeno en ausencia o presencia de un catalizador.

Condiciones	ΔG^\ddagger Kcal/mol
Sin catalizar	18
Catalizada con platino coloidal	13
Catalizada por catalasa	7

Figura 5.11.- Energía libre de activación para la descomposición del peróxido de hidrógeno a 20°C. La catalasa acelera la velocidad más de 10 veces.

4.2.- Cinética enzimática

El rasgo característico de estos procesos es el efecto de saturación de la enzima por el sustrato. Ese efecto ocurre porque la cantidad de sustrato es mucho mayor que la cantidad de enzima, de manera que llega un momento, en el curso de la reacción, en que todas las moléculas de la enzima están unidas al sustrato por lo que dicha enzima está saturada.

En la figura 5.12, se muestra una gráfica en la que se observa el efecto de la concentración de sustrato sobre la velocidad de una reacción catalizada enzimáticamente. En dicha reacción se observan tres tramos claramente diferenciados. En el primero la velocidad aumenta proporcionalmente a la concentración de sustrato, en este tramo la reacción es de primer orden. En el segundo tramo se observa que, a medida que la concentración de sustrato aumenta, el aumento de velocidad deja de ser proporcional a dicha concentración, en este caso la reacción es de orden mixto. En el tercer tramo la concentración de sustrato aumenta pero la velocidad se mantiene constante, cuando ocurre esto la reacción ha alcanzado su velocidad máxima (V_{\max}) y se comporta como una reacción de orden cero, se dice entonces que la enzima se halla saturada por el sustrato. Definimos velocidad máxima como aquella que tiene la reacción cuando todas las moléculas de la enzima están unidas al sustrato, es decir, cuando la enzima está saturada por el sustrato.

La concentración de sustrato, para cual la velocidad de la reacción es la mitad de la velocidad máxima, recibe el nombre de K_M o constante de **Michaelis-Menten**.

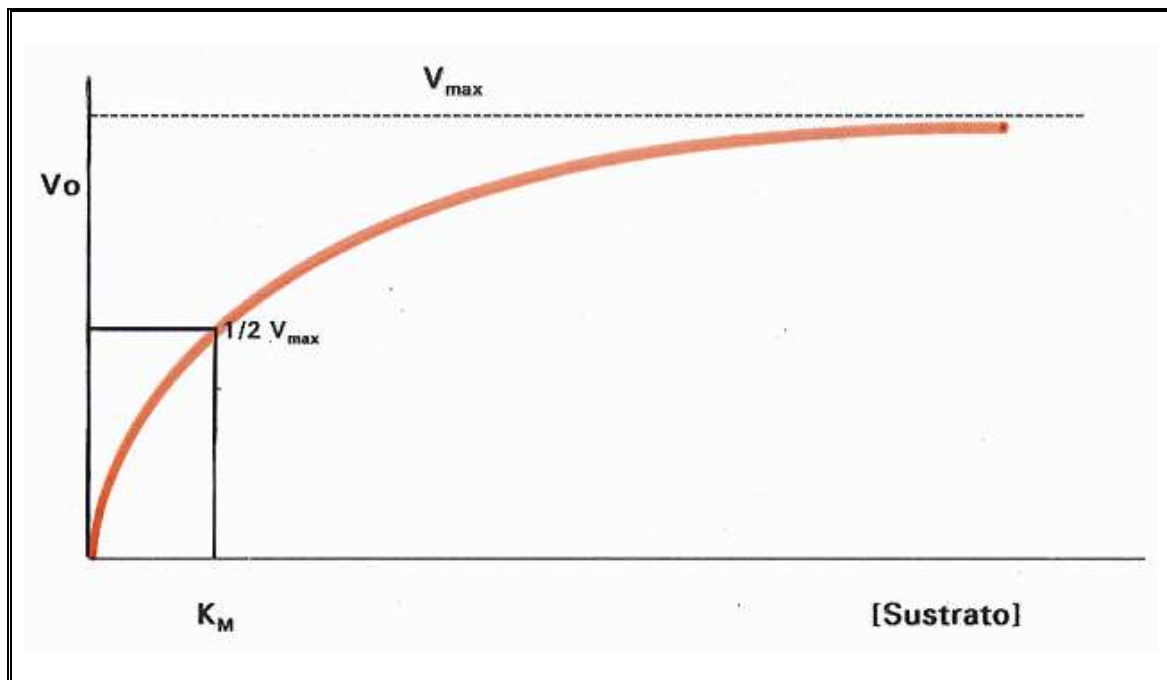


Figura 5.12.- Efecto de la concentración de sustrato sobre la velocidad de una reacción catalizada enzimáticamente.

El efecto de saturación de la enzima por el sustrato condujo a dos investigadores, **Brown** y **Henry**, a formular la hipótesis de que la enzima y el sustrato reaccionan

reversiblemente, para formar un complejo enzima-sustrato, como etapa esencial de la reacción catalizada. En 1913 otros dos investigadores, **Michaelis** y **Menten**, desarrollaron una teoría general sobre la cinética enzimática que es fundamental para el análisis cuantitativo de todos los aspectos de la dicha cinética. Esta supone que una enzima se une con un sustrato para formar un complejo enzima-sustrato y que este se rompe dando enzima libre más un producto. La reacción total podemos representarla como la suma de cuatro reacciones, cada una de las cuales presenta una constante de equilibrio (figura 5.13). Las constantes de equilibrio se denominan K_1 , K_2 , K_{-1} , K_{-2} y son las constantes de la velocidad de esas reacciones.

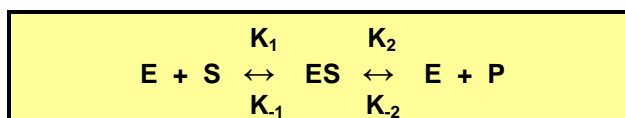


Figura 5.13.- Esquema general de una reacción enzimática.

A partir de la reacción anterior se desarrolla la teoría de la cinética enzimática de **Michaelis y Menten**.

Llamamos $[E]$ a la concentración de enzima libre, $[ES]$ a la concentración del complejo enzima-sustrato, $[E_T]$ a la concentración de enzima total y $[S]$ a la concentración de sustrato. Esta última es mucho mayor que la de la enzima, es decir que en cualquier momento la cantidad de sustrato unida a la enzima es despreciable con respecto a la que no lo está.

Suponemos que el proceso ocurre en su totalidad y tenemos en cuenta que la K_{-2} es despreciable porque la energía final del sistema es mucho menor que la energía inicial y porque el producto sirve de sustrato para otras reacciones coordinadas con esta y, por lo tanto, va a ser transformado rápidamente por lo que la reacción inversa, $E + P \rightarrow ES$, no va a realizarse.

En la reacción anterior la velocidad de formación V_f del complejo enzima-sustrato viene dada por la siguiente expresión:

$$V_f = K_1 [E] [S] \quad [1], \text{ como}$$

$$[E] = [E_T] - [ES] \quad [2], \text{ si sustituimos tenemos}$$

$$V_f = K_1 ([E_T] - [ES]) [S] \quad [3]$$

Por otro lado, la velocidad a la que se destruye el complejo enzima-sustrato V_d vendrá dada por la siguiente expresión:

$$V_d = (K_{-1} + K_2) [ES] \quad [4]$$

Cuando la reacción esté en equilibrio, las velocidades de formación y de destrucción, del complejo enzima-sustrato, serán iguales:

$$V_f = V_d, \text{ es decir}$$

$$K_1 ([E_T] - [ES]) [S] = (K_{-1} + K_2) [ES] \quad [5]$$

Si ordenamos los términos obtenemos:

$$K_M = \frac{K_{-1} + K_2}{K_1} = \frac{([E_T] - [ES]) [S]}{[ES]} \quad [6]$$

El resultado es la constante **Michaelis-Menten**, K_M , que relaciona globalmente a las tres constantes de velocidad de esa reacción.

Si en la ecuación anterior despejamos la $[ES]$ obtenemos:

$$K_M [ES] = [E_T] [S] - [ES] [S]$$

$$K_M [ES] + [S] [ES] = [E_T] [S]$$

$$[ES] (K_M + [S]) = [E_T] [S]$$

$$[ES] = \frac{[E_T] [S]}{K_M + [S]} \quad [7]$$

La velocidad inicial de formación de los productos será proporcional a la velocidad de ruptura del complejo enzima-sustrato:

$$V_i = K_2 [ES] \quad [8]$$

Si, en esta ecuación, sustituimos el valor de la concentración de enzima-sustrato de la ecuación [7] obtenemos:

$$V_i = K_2 \frac{[E_T] [S]}{K_M + [S]} \quad [9]$$

La velocidad máxima se alcanzará cuando se sature la enzima por el sustrato, es decir, cuando todas las moléculas de la enzima estén unidas al sustrato, por lo que la velocidad máxima será:

$$V_{\max} = K_2 [E_T] \quad [10]$$

Si sustituimos en la fórmula de la velocidad inicial de la ecuación [9] obtenemos la ecuación de **Michaelis-Menten** (figura 5.14).

$$V_i = \frac{V_{\max} [S]}{K_M + [S]} \quad [11]$$

Figura 5.14.- Ecuación de Michaelis-Menten.

La ecuación de **Michaelis-Menten**, es la ecuación de la velocidad para una reacción de un sólo sustrato, catalizada enzimáticamente. Dicha ecuación relaciona la velocidad inicial, la velocidad máxima y la concentración de sustrato por medio de la K_M .

Cuando la velocidad inicial sea la mitad de la velocidad máxima, la constante de **Michaelis-Menten** será igual a la concentración de sustrato.

$$V_i = \frac{V_{\max}}{2}; \text{ sustituimos en la ecuación [11] y queda:}$$

$$\frac{V_{\max}}{2} = \frac{V_{\max} [S]}{K_M + [S]} ; \text{ resolvemos y..}$$

$$K_M + [S] = 2 [S]$$

$$K_M = [S]$$

La K_M nos va a indicar **la afinidad que tiene la enzima por el sustrato**, de forma que si la K_M es baja la afinidad será alta y viceversa.

La ecuación de **Michaelis-Menten** es poco útil si queremos determinar la velocidad máxima de una reacción ya que ésta nunca se va a alcanzar. Por la misma razón es difícil determinar la K_M . Para evitar esto, **Lineweaver y Burk** transformaron la ecuación de **Michaelis-Menten** utilizando los inversos de ambos términos, consiguiendo, de esta manera, una ecuación similar a la de una recta. Al representar gráficamente dicha ecuación se pueden hallar los valores de la velocidad máxima y la K_M .

$$\frac{1}{V} = \frac{K_M + [S]}{V_{\max} [S]}$$

Resolvemos y nos queda la ecuación de Lineweaver-Burk (figura 5.15); ecuación matemática explícita del tipo $y = ax + b$, cuya representación se muestra en la figura 5.16.

$$\frac{1}{V} = \frac{K_M}{V_{\max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

Figura 5.15.- Ecuación de Lineweaver-Burk.

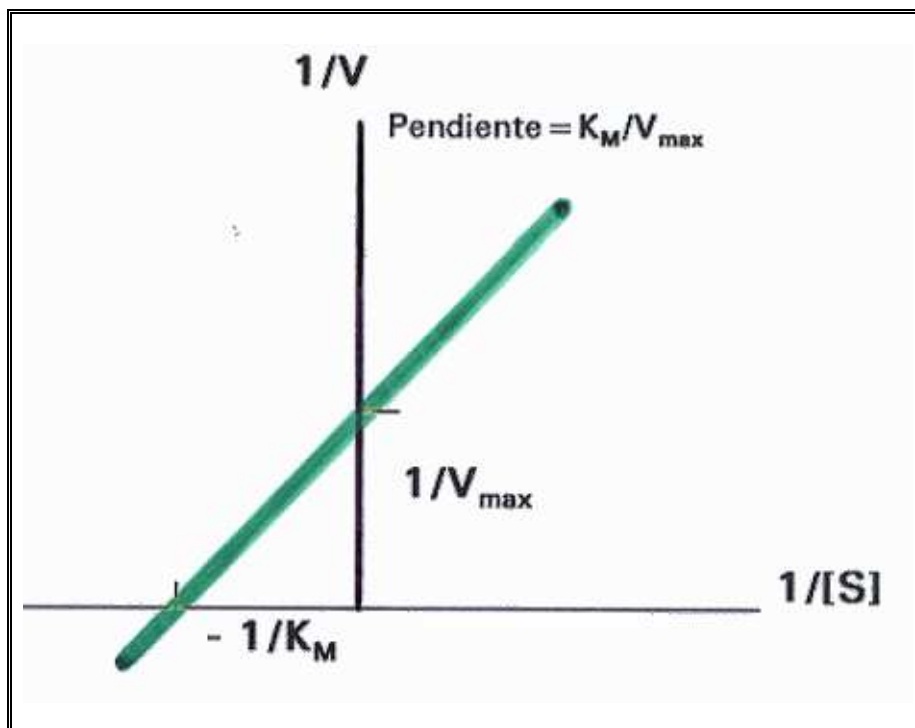


Figura 5.16.- Representación gráfica de la ecuación de Lineweaver-Burk.

En 1894 **E. Fisher** propuso un mecanismo de acción de las enzimas que es conocido como el **mecanismo llave-cerradura**. Estudios sobre la especificidad de las enzimas muestran que las moléculas de sustrato reflejan en general, por el principio de complementariedad, la estructura del centro activo de la enzima. El sustrato posee un **enlace químico susceptible** que puede ser atacado por la enzima y, generalmente, posee otro grupo específico por el cual

realiza su unión al centro activo de la enzima. Este último grupo es el **grupo determinante de la posición**. Por otro lado la enzima, en su centro activo, posee un **centro orientador** y un **centro catalítico**. Cuando se forma el complejo enzima-sustrato el **centro orientador** se une con el **grupo determinante de la posición** del sustrato y permite que el **centro catalítico** ataque al **enlace susceptible** (figura 5.17).

Enzima	Sustrato
Centro orientador	Grupo determinante de la posición
Centro catalítico	Enlace susceptible

Figura 5.17.- Complementariedad entre enzima y sustrato.

El acoplamiento entre la enzima y el sustrato es tan específico como el de una llave y su cerradura (Figura 5.18).

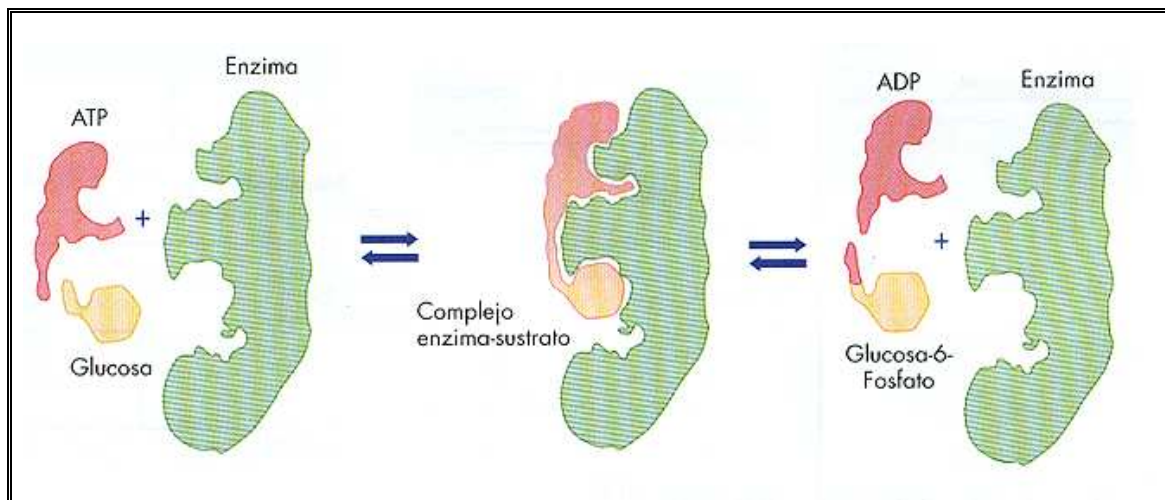


Figura 5.18.- Mecanismo llave-cerradura.

Sin embargo, realmente el centro activo, aunque de antemano posee una cierta complementariedad con el centro reactivo del sustrato, sólo se adapta totalmente a él al ponerse en contacto. El proceso sería comparable a como se adapta un guante de látex de cirujano a la mano. El guante vacío tiene una forma parecida a la de la mano, pero no la forma exacta de la mano de la persona que va a usarlo, la cual se adquiere una vez puesto en la mano.

Esta complementariedad entre el centro activo de la enzima y el centro reactivo del sustrato determina la especificidad de la enzima, ya que la actividad de la enzima sólo será posible cuando el sustrato se pueda unir con ella y lo haga con una orientación óptima para que se produzca la acción catalítica.

4.3.- Factores que influyen en la velocidad de las reacciones enzimáticas

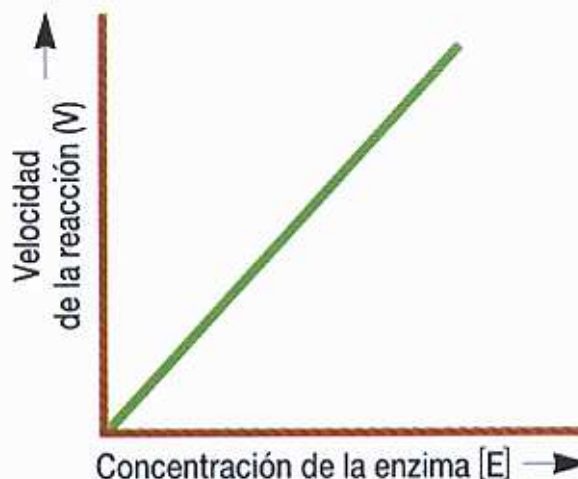
La acción de las enzimas en las reacciones catalizadas por ellas está influida por la actuación de distintos factores que afectan a las relaciones entre enzima y sustrato, así como a las condiciones del medio en el que se desarrollan (pH y temperatura).

La velocidad de una reacción enzimática varía al variar la concentración de la enzima y del sustrato, y es modificada por las condiciones del medio.

4.3.1.- Influencia de la concentración de la enzima

La actividad de una enzima es directamente proporcional a su concentración, siempre que exista cantidad suficiente de sustrato. La velocidad de la reacción, por tanto, aumenta conforme aumenta la concentración de la enzima (figura 5.19).

Figura 5.19.- Gráfica en la que se aprecia una variación de la velocidad de la reacción proporcional al aumento de la concentración de enzima.



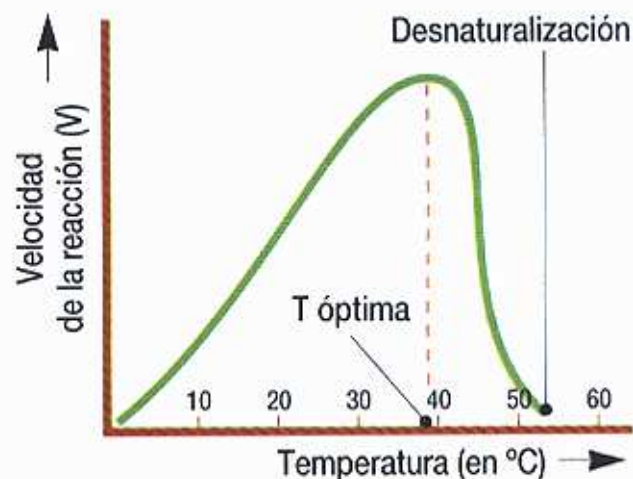
Cuando lo que se modifica es la concentración de sustrato, la actividad de la enzima crece hasta alcanzar un valor máximo, a partir del cual la velocidad de la reacción no varía aunque siga aumentando la concentración de sustrato, ya que se produce un **efecto de saturación de la enzima por el sustrato**. El número de moléculas de enzima siempre va a ser menor que el número de moléculas de sustrato, por lo que llegará un momento, en el curso de la reacción, en que todas las moléculas de la enzima estén unidas al sustrato, ese momento representará la velocidad máxima. Este fenómeno se conoce como **inhibición por sustrato**.

Como las reacciones enzimáticas son reacciones de equilibrio, una elevada concentración de producto va a producir un efecto de reducción de la actividad de la enzima, es lo que se conoce como **inhibición por producto**.

4.3.2.- Influencia de la temperatura

Las enzimas por el hecho de ser proteínas van a actuar en función de la temperatura, de manera que presentan una **temperatura mínima**, por debajo de la cual no muestran actividad; una **temperatura óptima**, a la cual la actividad es máxima, y una **temperatura máxima** por encima de la cual tampoco muestran actividad ya que se produce la denominada **desnaturalización** que conlleva la desorganización de los centros activos y la pérdida de funcionalidad (figura 5.20).

Figura 5.20.- Gráfica en la que se representa la variación de la velocidad de una reacción en función de la variación de la temperatura.



Como se observa en la gráfica, la temperatura óptima está más próxima a la temperatura máxima.

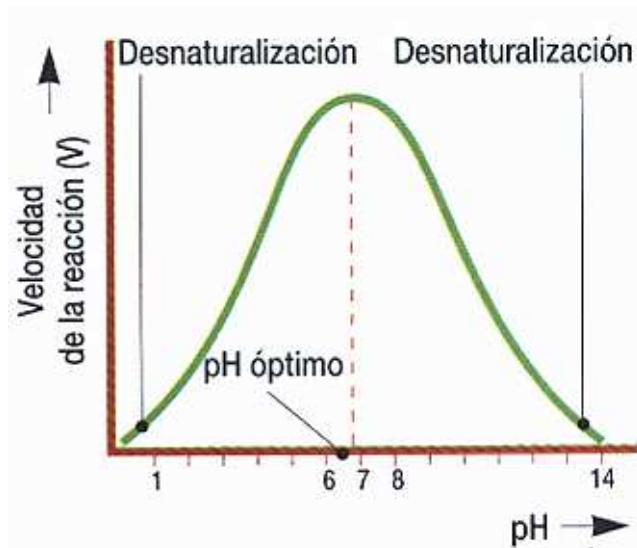
Sabemos que un aumento de temperatura produce una elevación de la velocidad de las reacciones químicas, y las reacciones enzimáticas no son una excepción. Por otro lado son proteínas que se desnaturalizan a temperaturas altas.

La temperatura óptima de cada enzima resultará de la conjugación de ambos factores, y eso varía según los organismos. En la especie humana, la temperatura óptima suele ser la temperatura corporal.

4.3.3.- Influencia del pH

Igualmente existe un **pH mínimo**, por debajo del cual la enzima no muestra actividad; un **pH óptimo**, al cual la actividad es máxima; y un **pH máximo**, por encima del cual también se produce la desnaturalización. En este caso, nos saldrá una gráfica similar a la de la variación de la temperatura, pero debemos tener en cuenta que el **pH óptimo** es prácticamente el intermedio entre el **pH mínimo** y el **pH máximo** (figura 5.21).

Figura 5.21.- Gráfica en la que se representa la variación de la velocidad de una reacción en función de la variación del pH.



5.- ENZIMAS ALOSTÉRICAS

La mayor parte de las enzimas no actúan individualmente sino que lo hacen en cadenas secuenciales que se conocen como **sistemas multienzimáticos**, en los que el producto de una reacción sirve como sustrato para la siguiente. En la mayor parte de estos **sistemas** la enzima que regula la primera reacción actúa como regulador de la velocidad de todo el sistema y recibe el nombre de **enzima alostérica**. Normalmente la **enzima alostérica** de un **sistema multienzimático** es inhibida por el producto final de dicho **sistema**, de forma que cuando ese producto final sobrepasa una concentración, llamada crítica, se une a la enzima alostérica impidiendo que esta realice su función, con lo que paraliza todo el **sistema multienzimático**. Este fenómeno se conoce como **retroinhibición o inhibición feed-back**. El ejemplo clásico es la secuencia multienzimática que cataliza la transformación de L-Treonina en L-Isoleucina (figura 5.22).

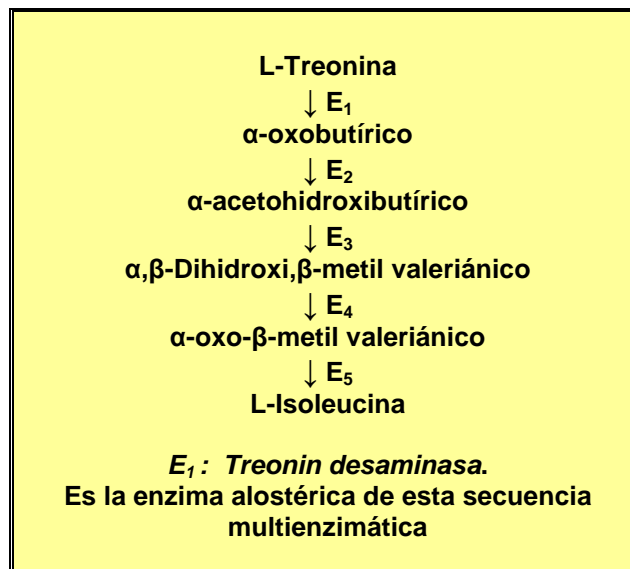


Figura 5.22.- Retroinhibición de la formación de isoleucina a partir de treonina.

Las **enzimas alostéricas**, generalmente, son de elevado peso molecular y están constituidas por varias subunidades. En sus estructuras existen centros de unión específicos para el sustrato normal y otros específicos para el regulador, a estos últimos se les denomina **centros alostéricos**. Cuando el **centro alostérico** está vacío, la enzima actúa con su velocidad catalítica normal, pero cuando dicho centro está ocupado por el regulador, la enzima

modifica su velocidad, aumentándola o disminuyéndola, dependiendo de que el regulador sea un **inhibidor** o un **efector** respectivamente.

La velocidad de una enzima alostérica puede modificarse por dos motivos diferentes. El primero consiste en que se produzca un cambio de la velocidad máxima sin que haya cambio de la K_M , en este caso la afinidad de la enzima por el sustrato no se modifica, ya que la afinidad depende de la K_M . El segundo consiste en que se modifique la K_M sin que se modifique la velocidad máxima de la reacción, en este caso si se modifica la afinidad de la enzima por el sustrato.

6.- INHIBICIÓN ENZIMÁTICA

Las enzimas pueden verse inhibidas o envenenadas por la acción de ciertos compuestos químicos específicos que reciben el nombre de inhibidores. La inhibición puede ser:

6.1.- Inhibición irreversible

Ocurre cuando el inhibidor se une covalentemente con la enzima de manera que se modifica, **de un modo permanente**, un grupo funcional necesario para la catálisis. Esta modificación **conlleva la inactivación funcional** de la molécula enzimática, es decir el inhibidor provoca una alteración estructural de la enzima.

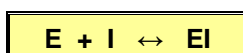
6.2.- Inhibición reversible.

Puede ocurrir que el inhibidor se una a la enzima **inactivándola temporalmente**. Se produce, en este caso, una inactivación funcional sin que se altere la estructura de la enzima, de modo que, cuando el inhibidor se separe de ella, esta quedará de nuevo libre para realizar su función catalítica.

Este tipo de inhibición se lleva a cabo por tres mecanismos diferentes que reciben respectivamente los nombres de **inhibición competitiva, acompetitiva y no competitiva**. Estos tres mecanismos de inhibición pueden distinguirse experimentalmente por los efectos que produce el inhibidor sobre la cinética de la reacción, cinética que puede analizarse mediante la ecuación de la velocidad enzimática, propuesta por **Michaelis-Menten**, y la representación gráfica de esta, propuesta por **Lineweaver-Burk**.

6.2.1.- Inhibición competitiva

La característica básica de este tipo de inhibición es que el inhibidor puede unirse a la enzima libre de tal modo que compite con el sustrato normal por unirse al centro activo. Un inhibidor competitivo reacciona reversiblemente con la enzima para formar el complejo enzima-inhibidor, análogo al complejo enzima-sustrato. La molécula del inhibidor no resulta químicamente alterada por la enzima.



Siguiendo el esquema de **Michaelis** y **Menten** podemos definir la constante del inhibidor K_I de la siguiente manera

$$K_I = \frac{[E][I]}{[EI]}$$

La inhibición competitiva se reconoce experimentalmente con facilidad, debido a que el porcentaje de inhibición, para una concentración de inhibidor constante, disminuye al incrementarse la concentración de sustrato

La presencia de un inhibidor competitivo aumenta la K_M de la reacción, es decir provoca que sean necesarias concentraciones de sustrato superiores para que se alcance la

V_{\max} (figura 5.23). El ejemplo clásico de este tipo de inhibición lo constituye la inhibición de la enzima succinato deshidrogenasa por acción del malonato o del oxalacetato (figura 5.24).

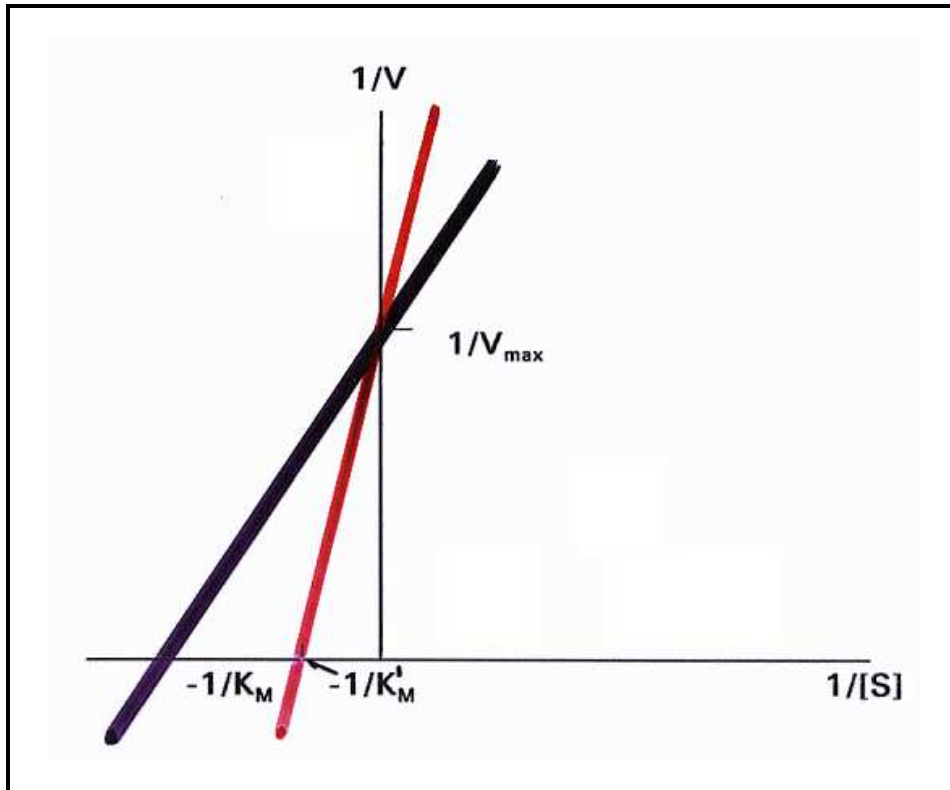


Figura 5.23.- Inhibición competitiva. En trazo negro la gráfica de la reacción en ausencia de inhibidor. En trazo rojo la gráfica de la reacción en presencia de inhibidor. Obsérvese que en ambos casos la V_{\max} permanece constante, lo que varía es la K_M .

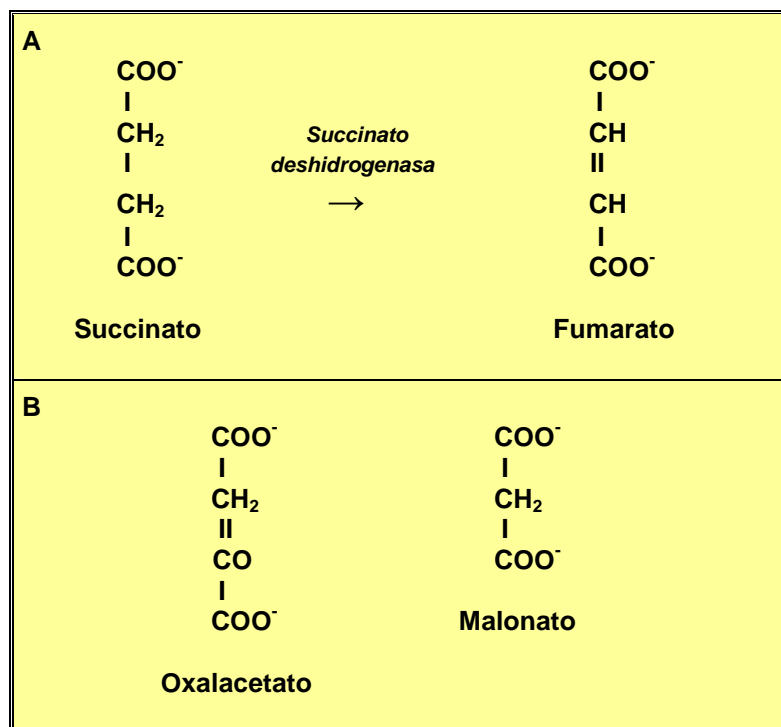
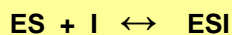


Figura 5.24.- a) Reacción de la *Succinato deshidrogenasa*. **b)** Inhibidores competitivos de dicha enzima. Obsérvese el parecido estructural de los inhibidores oxalacetato y malonato con el sustrato normal de la reacción. Al igual que el succinato ambos inhibidores presentan dos grupos carboxilos terminales.

6.2.2.- Inhibición acompetitiva

En este tipo de inhibición el inhibidor no se combina con la enzima libre ni afecta a su reacción con el sustrato normal, sino que se combina con el complejo enzima-sustrato para formar un complejo inactivo enzima-sustrato-inhibidor, el cual no experimenta su transformación posterior en el producto natural de la reacción.



La constante del inhibidor es, por tanto:

$$K_i = \frac{[\text{ES}] [\text{I}]}{[\text{ESI}]}$$

La característica de este tipo de inhibición es que se modifican K_M y V_{\max} , pero sin que se modifique la pendiente de la ecuación, al aumentar la $[\text{I}]$ (figura 5.25).

Este tipo de inhibición es poco frecuente en las reacciones de un sólo sustrato, pero es bastante corriente en las reacciones con dos sustratos. Como puede observarse en la figura 5.25, al aumentar la concentración del inhibidor, la V_{\max} decrece.

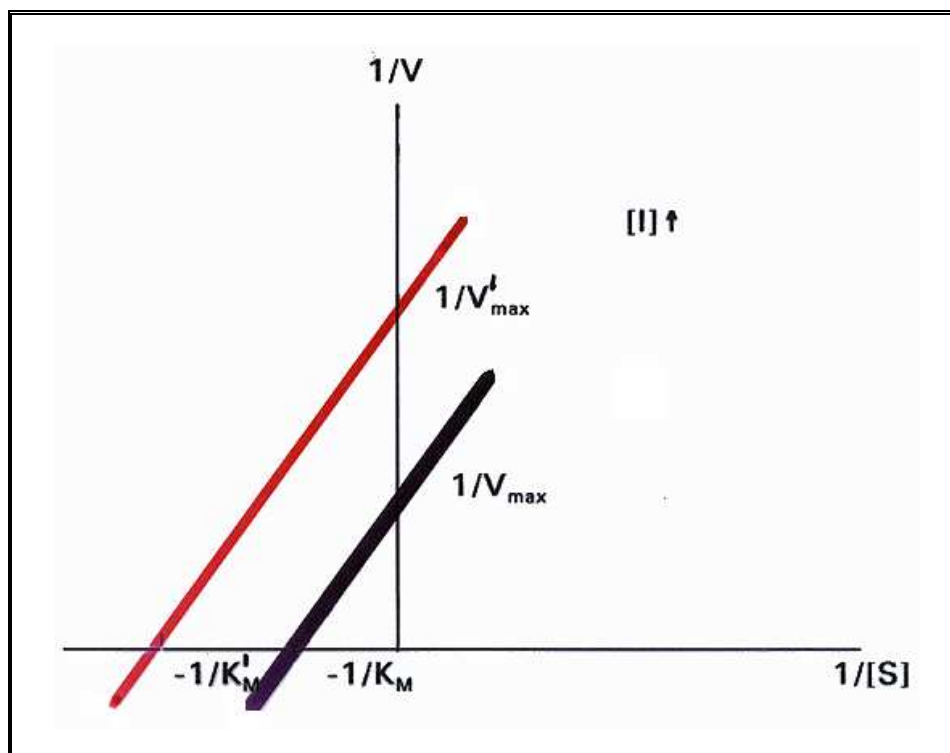


Figura 5.25.- Inhibición acompetitiva. En trazo negro la gráfica de la reacción en ausencia del inhibidor. En trazo rojo la gráfica de la reacción en presencia del inhibidor.

6.2.3.- Inhibición no competitiva

Un inhibidor no competitivo puede combinarse con la enzima libre o bien con el complejo enzima-sustrato, interfiriendo con la acción de ambos. Los inhibidores no competitivos se unen a un centro del enzima distinto del centro activo, a menudo para deformar a la enzima, de modo que no pueda formarse el complejo enzima-sustrato a su velocidad normal, y que una vez formado no se descomponga a su velocidad habitual para liberar los productos de reacción.

El tipo más normal es la inhibición producida por reactivos que pueden combinarse libremente con algún grupo funcional, situado fuera del centro activo de la enzima, que sea esencial para mantener la conformación tridimensional de la enzima, dicha conformación es la que permite la existencia del centro catalítico.

En este tipo de inhibición se modifica la V_{\max} sin que se modifique la K_M al aumentar la $[I]$ (figura 5.26).

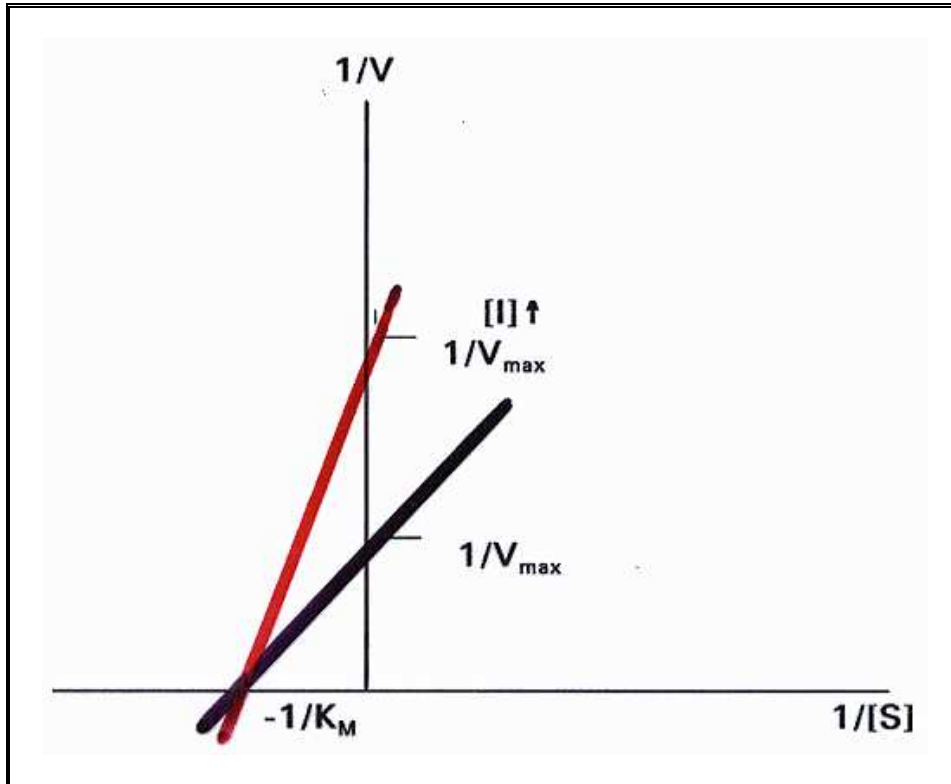


Figura 5.26.- Inhibición no competitiva. En trazo negro la gráfica de la reacción en ausencia del inhibidor. En trazo rojo la gráfica de la reacción en presencia del inhibidor.

Un ejemplo lo constituye la acción del ácido iodoacético. Se ha encontrado que ese inhibidor reacciona con un grupo $-SH$, esencial, de la enzima gliceraldehído-fosfato-deshidrogenasa, que designaremos por E , y produce una forma catalítica inactiva (figura 5.27)

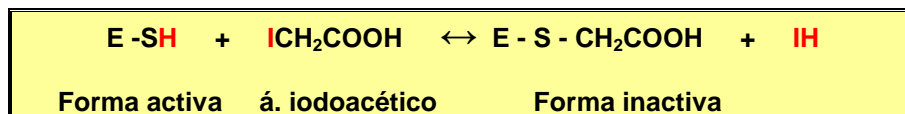


Figura 5.27.- Inhibición de la Gliceraldehído-P-deshidrogenasa, por acción del ácido iodoacético

Los efectos inhibitorios comparados de estos tres tipos de inhibición, sobre la representación gráfica de **Lineweaver-Burk**, se muestran en la tabla de la figura 5.28.

↓Tipos	Parámetros →	K_M	K_M/V_{\max}	V_{\max}
Competitiva		Modifica	Modifica	No modifica
Acompetitiva		Modifica	No modifica	Modifica
No competitiva		No modifica	Modifica	Modifica

Figura 5.28.- Efectos inhibitorios comparados.

7.- VITAMINAS

Los animales necesitan disponer de dos tipos de principios nutritivos, de carácter orgánico y de carácter inorgánico.

Los primeros se necesitan en cantidades grandes y son imprescindibles para cubrir sus necesidades energéticas y para ser utilizados como fuente de carbono. También se precisan aminoácidos, necesarios para la síntesis de proteínas y de otros compuestos nitrogenados.

Los segundos son necesarios para el adecuado crecimiento, funcionamiento y reproducción de los animales, a este grupo se les conoce como **vitaminas** y se diferencian del primer grupo en que se necesitan en muy pequeñas cantidades, si bien su falta produce trastornos fisiológicos que se conocen como enfermedades nutritivas carenciales y que son fácilmente previsibles y curables con la administración del principio ausente. Este tipo de enfermedades se conocen desde hace más de 200 años.

Un ejemplo es el escorbuto, enfermedad que atacaba, fundamentalmente, a los marineros ya que en su dieta no figuraban las frutas frescas ni las hortalizas. Esta enfermedad comenzó a curarse cuando los médicos de la armada británica descubrieron que desaparecía suministrando zumo de lima en la dieta. Después se descubrió que era producida por la falta de vitamina **C**, **ácido ascórbico**, aislada por primera vez en 1930.

Para que un compuesto sea considerado vitamina, para una especie determinada, no debe poder sintetizarse en su metabolismo, por lo que deben obtenerse a partir de los alimentos, a veces como provitaminas, es decir, moléculas que el metabolismo transforma posteriormente en vitaminas. Existen algunas excepciones como la vitamina C, que es necesaria en los humanos pero es sintetizada por la mayoría de los animales a partir de la glucosa.

Las vitaminas son sustancias lábiles, ya que se alteran con mucha facilidad por los cambios de temperatura y por los almacenamientos prolongados.

Actualmente se define vitamina como ***toda sustancia vital, necesaria en trazas para la función celular normal, que hay que tomar, previamente elaborada, en la dieta alimenticia.***

La palabra vitamina se debe a que la primera de ellas que se identificó fue la vitamina **B₁**, denominada **tiamina**, en cuya composición aparece un grupo funcional amino.

Aunque la mayoría de ellas no llevan grupos amino, el nombre se ha conservado genéricamente.

En la actualidad se conocen todas las vitaminas y se sabe también que realizan funciones como componentes de las enzimas y coenzimas, funciones que deberán ser encuadradas dentro de los procesos catalíticos de las células.

8.- CLASIFICACIÓN DE LAS VITAMINAS

8.1.- Vitaminas hidrosolubles

Reciben este nombre por ser solubles en agua y, por lo tanto, en los líquidos corporales. Presentan una elevada capacidad de difusión.

Su exceso no provoca trastornos ya que se disuelven en la sangre, la cual las transporta hasta el riñón, donde son filtradas y eliminadas por la orina. Sólo causan problemas por defecto.

Las principales, así como sus funciones en el metabolismo, se recogen en la tabla de la figura 5.29.

Vit. HIDROSOLUBLES	FORMA ACTIVA	TIPO DE REACCIÓN
Tiamina B ₁	Pirofosfato de tiamina (TPP)	Descarboxilaciones
Riboflavina B ₂	Flavín mononucleótido (FMN+) Flavín adenín dinucleótido (FAD ⁺)	Óxido-reducciones
Niacina PP	Nicotín adenín dinucleótido (NAD ⁺) Nicotín adenín dinucleótido fosfato (NADP ⁺)	Óxido-reducciones
Ácido pantoténico W	Coenzima-A	Transferencia de acilos (*)
Piridoxol B ₆	Fosfato de piridoxol	Transferencia de aminos
Biotina H	Biotina	Transferencia de CO ₂
Cobalamina B ₁₂	Desoxi adenosil cobalamina	Transferencia de alquilos (**)
Ácido ascórbico C	Ácido ascórbico	Hidroxilaciones

Figura 5.29.- Principales vitaminas hidrosolubles. (*) - CH₃ - COO⁻. (**) - CH (NH₂) - COO⁻.

8.2.- Vitaminas liposolubles

Reciben este nombre por ser solubles en lípidos e insolubles en agua. Causan problemas por defecto y por exceso ya que, al ser insolubles, se acumulan en los tejidos de los seres vivos

Las principales, así como sus funciones, se recogen en la tabla de la figura 5.30.

Vit. LIPOSOLUBLES	PROCESO EN EL QUE ACTÚAN
Vit. A	Ciclo visual
Vit. D	Transporte y regulación del Ca ²⁺
Vit. E	Antioxidante. Procesos de fertilidad
Vit. K	Síntesis de protrombina

Figura 5.30.- Principales vitaminas liposolubles.

EJERCICIOS PROPUESTOS EN LAS PRUEBAS DE ACCESO (P.A.U.)

ENZIMAS Y VITAMINAS

1ª.- Defina enzima, centro activo, coenzima, inhibidor y catálisis. [2]. (2004)

2ª.- Describa el proceso de catálisis enzimática [1'5]. (2001).

3ª.- Defina qué es una enzima [0'4]. Explique la influencia del pH [0'8] y de la temperatura [0'8] sobre la actividad enzimática. (2004, 2006).

4ª.- La catalasa es una enzima que transforma el peróxido de hidrógeno en oxígeno y agua. Si en un tubo de ensayo introducimos catalasa y le añadimos agua oxigenada se produce la emisión de burbujas de oxígeno. Si al mismo tubo de ensayo se le añaden unas gotas de ácido clorhídrico se interrumpe la emisión. Proponga una explicación razonada para este hecho [1].

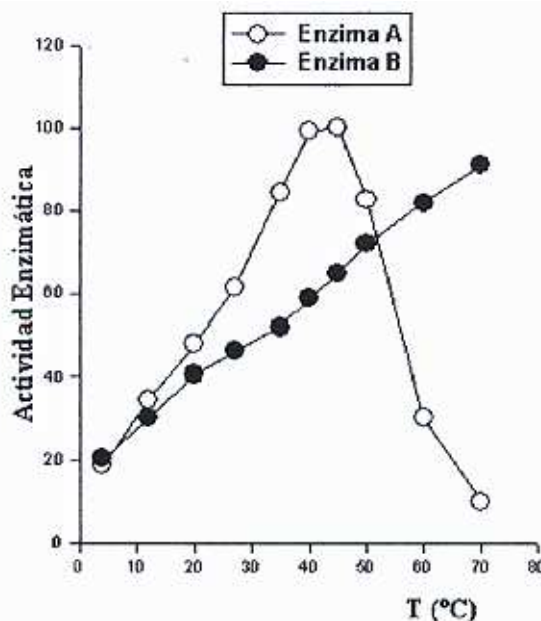
5ª.- En un ensayo enzimático se produjo, accidentalmente, una elevación brusca de la temperatura y se detuvo la actividad enzimática. Al bajar la temperatura se recuperó la actividad enzimática. Explique razonadamente este hecho. [1]. (2004).

6ª.- En una reacción química en la que una sustancia A se transforma en una sustancia B, se liberan 10 kcal/mol de sustrato. ¿Cuánta energía se liberaría si la reacción estuviese catalizada por una enzima? [1]. Razone la respuesta. (2003, 2005, 2006)

7ª.- En relación con la figura adjunta, conteste las siguientes cuestiones:

a) ¿Qué representa la gráfica? [0'2]. Describa el comportamiento de ambas enzimas [0'8].

b) La enzima A cataliza la transformación del sustrato X en el producto Y. La enzima B cataliza la transformación del sustrato X en el producto Z. ¿Cuál de los dos productos se formará en mayor cantidad a 40 °C? [0'5]. ¿Y a 70 °C? [0'5]. Razone ambas respuestas. (2005).



8ª.- Para preparar yogur casero se mezcla bien una cantidad de leche con un poco de yogur y se mantiene a 35-40 °C durante unas ocho horas. ¿Qué pasaría si por error se mantuviera la mezcla ocho horas a 0 °C? [0'3]. Obtendríamos yogur si empleamos leche previamente esterilizada? [0'4]. ¿Y si se esteriliza el yogur antes de añadirlo a la leche? [0'3]. Razone las respuestas. (2006).

9ª.- Al investigar el efecto de la temperatura sobre la velocidad de una reacción enzimática se obtuvo la siguiente tabla:

Temperatura en °C	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
Velocidad (mg producto/segundo)	0'5	0'9	1'4	2'0	2'7	3'3	3'7	3'6	2'3	0'9	0'0

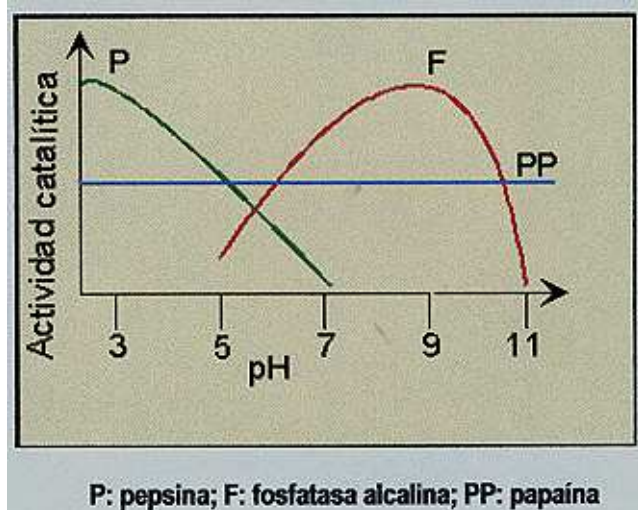
Proponga una explicación razonada de los resultados registrados en la misma [1]. (2006).

10ª.- Al medir, a una determinada temperatura y pH, la actividad de una reacción enzimática nos encontramos que durante la situación fisiológica A, esta actividad vale 250 μmoles x min⁻¹ x mg proteína⁻¹, mientras que durante la situación fisiológica B vale el doble midiéndola a la misma temperatura y pH. Explique las posibles razones que han podido ocasionar este cambio y justifique la respuesta [1]. (2001).

11ª.- Explique cuál es la función de las enzimas [0'6] y qué se entiende por apoenzima [0'3], coenzima [0'3] y centro activo [0'3]. (2001)

12ª.- La ingestión de metanol (HCH_2OH) es muy peligrosa porque el metanol, aunque en sí mismo no es tóxico, experimenta dentro del organismo una transformación enzimática. La intoxicación por metanol puede combatirse haciendo que la persona afectada tome mucho etanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$), una sustancia parecida al metanol. Indique una posible causa del efecto protector que el etanol ejerce sobre la intoxicación por metanol [1]. (2001)

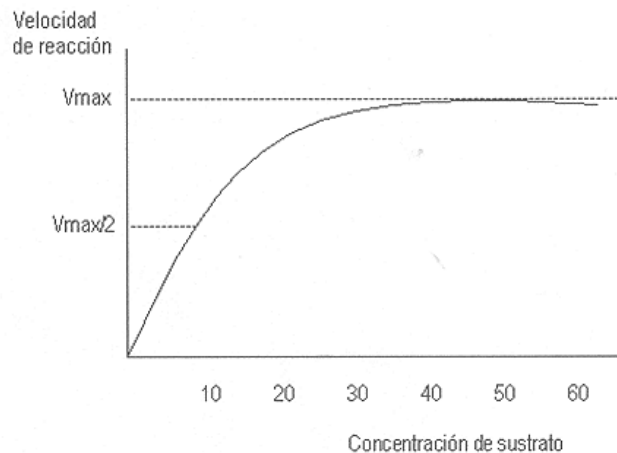
13ª.- La gráfica muestra la actividad de tres enzimas, pepsina, fosfatasa alcalina y papaína, con respecto a las variaciones de pH.. A la vista de la gráfica, conteste las siguientes cuestiones:



a) Explique qué representa esta gráfica (0'3). Indique los valores aproximados de pH para los cuales dos enzimas tienen la misma velocidad de reacción (0'4). Para valores de máxima acidez, ¿cuál es el enzima con mayor actividad catalítica? (0'3).

b) Si el pH de la sangre fuera de 7'5, indique qué enzimas podrían presentar actividad catalítica en el plasma sanguíneo (0'4). Explique el comportamiento de cada enzima en función del pH (0'6). (2002).

14ª.- A la vista de la gráfica, conteste las siguientes cuestiones: (la gráfica representa la velocidad de una reacción enzimática con respecto a la concentración de sustrato)



a) Explique qué representa esta gráfica (0'5). ¿Por qué la velocidad de la reacción aumenta al principio de la curva, al aumentar la concentración de sustrato? (0'5).

b) ¿Por qué la velocidad de la reacción permanece prácticamente constante a partir de una determinada concentración de sustrato? (0'5). ¿Qué ocurrirá si aumenta la concentración de enzima? (0'5). (2002)

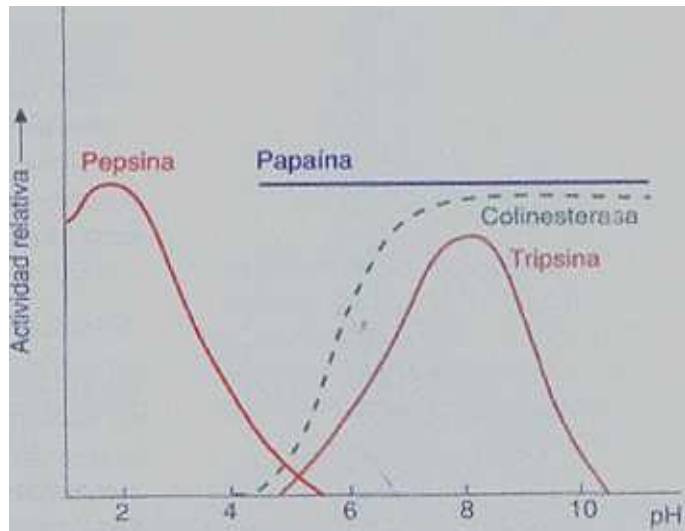
15ª.- Enumere tres factores que influyan en la actividad enzimática [0'3]. Explique detalladamente dos de ellos [1'2]. (2003, 2006, 2008 y 2010) **En el 2006, 2008 y 2010 se modifican las puntuaciones parciales, adjudicando [0'6] y [1'4] respectivamente.**

16ª.- Defina: enzima, centro activo, coenzima, inhibidor y energía de activación (2). (2007).

17ª.- Explique razonadamente cómo afectan la temperatura, el pH y la concentración de sustrato a la actividad de las enzimas (1'5). Describa los tipos de inhibición enzimática (0'5). (2007).

18ª.- En algunas ocasiones, cuando se almacenan patatas en condiciones de humedad, la parte del tubérculo que ha estado en contacto con el agua presenta cierto sabor dulce. Explique razonadamente el hecho describiendo el proceso bioquímico que podría haber ocurrido [1]. (2002).

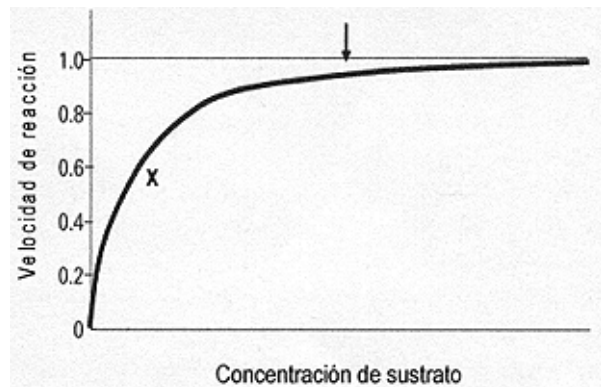
19ª.- La gráfica adjunta representa la evolución de la actividad de cuatro enzimas cuando se las somete a valores diferentes de pH. En relación con ella, conteste las siguientes cuestiones:



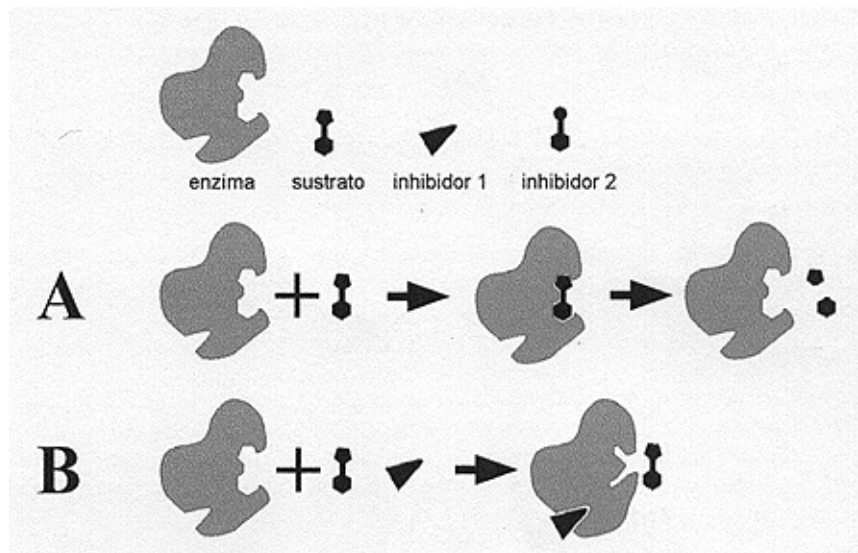
a) Compare e interprete de forma razonada el trazado de las distintas curvas de actividad [1].

b) Explique la diferencia existente entre los óptimos de actividad de la tripsina y de la pepsina teniendo en cuenta que una actúa en el estómago y otra en el intestino [0'5]. ¿Cómo influye el pH en la actividad enzimática de la papaína?. Razone la respuesta [0'5]. (2003).

20ª.- En la siguiente curva se representa una cinética enzimática mostrando la velocidad de reacción respecto a la cantidad de sustrato, con una concentración de enzima constante. ¿De qué manera se vería afectada la curva si se introdujese más cantidad de enzima en el punto indicado por la flecha? [0'5]. ¿Y si introdujéramos un inhibidor irreversible en el punto marcado con una X? [0'5]. Razone las respuestas. (2008).



21ª.- En relación con la figura adjunta en la que se representa un enzima, su sustrato y dos inhibidores, conteste las siguientes cuestiones:



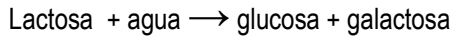
a).- Describa qué ocurre en los procesos A y B [1].

b).- Realice un dibujo y describa qué ocurriría en una reacción con el enzima en presencia de su sustrato y del inhibidor 2 [0'5]. Indique qué ocurre en el proceso A si se produce un cambio brusco en el pH o en la temperatura [0'5]. (2008).

22ª.- Defina enzima [0'4]. ¿Qué es el centro activo y qué relación existe entre el mismo y la especificidad enzimática? [0'5]. ¿Qué son los inhibidores enzimáticos? [0'3]. ¿En qué se diferencia la inhibición irreversible de la reversible y cuál es la causa de esta diferencia? [0'8]. (2009).

23ª.- La polifenoloxidasas es una enzima capaz de oxidar los polifenoles en presencia de oxígeno y así es responsable del pardeamiento (oscurecimiento) que sufren los frutos, como la manzana, a los pocos minutos de haberlos cortado. Este pardeamiento se puede evitar reduciendo el acceso de la enzima al sustrato, en este caso el oxígeno, o añadiendo compuestos ácidos, o calentando durante cinco minutos en agua hirviendo. Explique razonadamente por qué no se produce el pardeamiento en estos tres casos [1]. (2009).

24ª.- Explique qué acción desarrolla la enzima que cataliza la siguiente reacción [1]:



25ª.- En relación con la actividad enzimática, ¿qué se entiende por energía de activación? [0'4]. Indique qué es un coenzima [0'4]. Explique el efecto del pH [0'6] y de la temperatura [0'6] sobre la actividad enzimática. (2009).

26ª.- Un investigador ha descubierto que una reacción enzimática catalizada por una enzima (A) no se produce porque la solución que utiliza está contaminada con una enzima proteolítica (B) que hidroliza a la enzima (A). Proponga un tratamiento para la solución de sustrato que permita que la reacción de la enzima A se produzca. Razone la respuesta [1]. (2010).

27ª.- Al añadir una enzima proteolítica a un tubo de ensayo donde se está produciendo una reacción enzimática, la reacción se detiene inmediatamente. Dé una explicación razonada de la causa por la que se detiene la reacción [1]. (2010).

28ª.- Un investigador ha descubierto que una reacción enzimática en la que interviene una enzima (A) no se produce porque la solución que utiliza como sustrato está contaminada con una enzima proteolítica (B) que hidroliza a la enzima (A). Calentando previamente la solución de sustrato a más de 60 °C la reacción se desarrolló sin problemas. Explique razonadamente por qué tras calentar la solución de sustrato se produce la reacción enzimática [1]. (2011).

29ª.- La leche pasteurizada "se corta" cuando se deja a temperatura ambiente en una tarde de agosto. No ocurre lo mismo cuando se guarda en el interior de un frigorífico. De una explicación razonada a este hecho [1]. (2011).
