



# ENZIMAS

*Prof. Dr. Marcelo  Lucentini*

# ENZIMAS

# ENZIMAS:

## ■ *¿Qué son las enzimas?:*

E

Las **enzimas** son:

- *Proteínas;*
- *Catalíticas;*
- *Específicas;*

S

■ *Susceptibles de ser reguladas...*

# DIFERENCIAS ENTRE ENZIMAS Y CATALIZADORES:

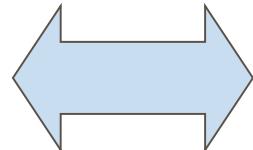
## **ENZIMAS: CATALIZADORES:**

■ <i>Química:</i>	<b>Proteínas</b>	<b>Inorgánicos</b>
■ <i>Termolabilidad:</i>	<b>Sí</b>	<b>No</b>
■ <i>Especificidad:</i>	<b>Sí</b>	<b>No</b>
■ <i>Regulación:</i>	<b>Sí</b>	<b>No</b>
■ <i>Eficiencia:</i>	<b>Alta</b>	<b>Baja</b>
■ <i>Se consumen:</i>	<b>No</b>	<b>Sí</b>

# ANALOGÍAS ENTRE ENZIMAS Y CATALIZADORES:



- Aceleran la velocidad de la reacción química por ellos catalizada...
- No modifican la constante de equilibrio (Keq) de la reacción catalizada...



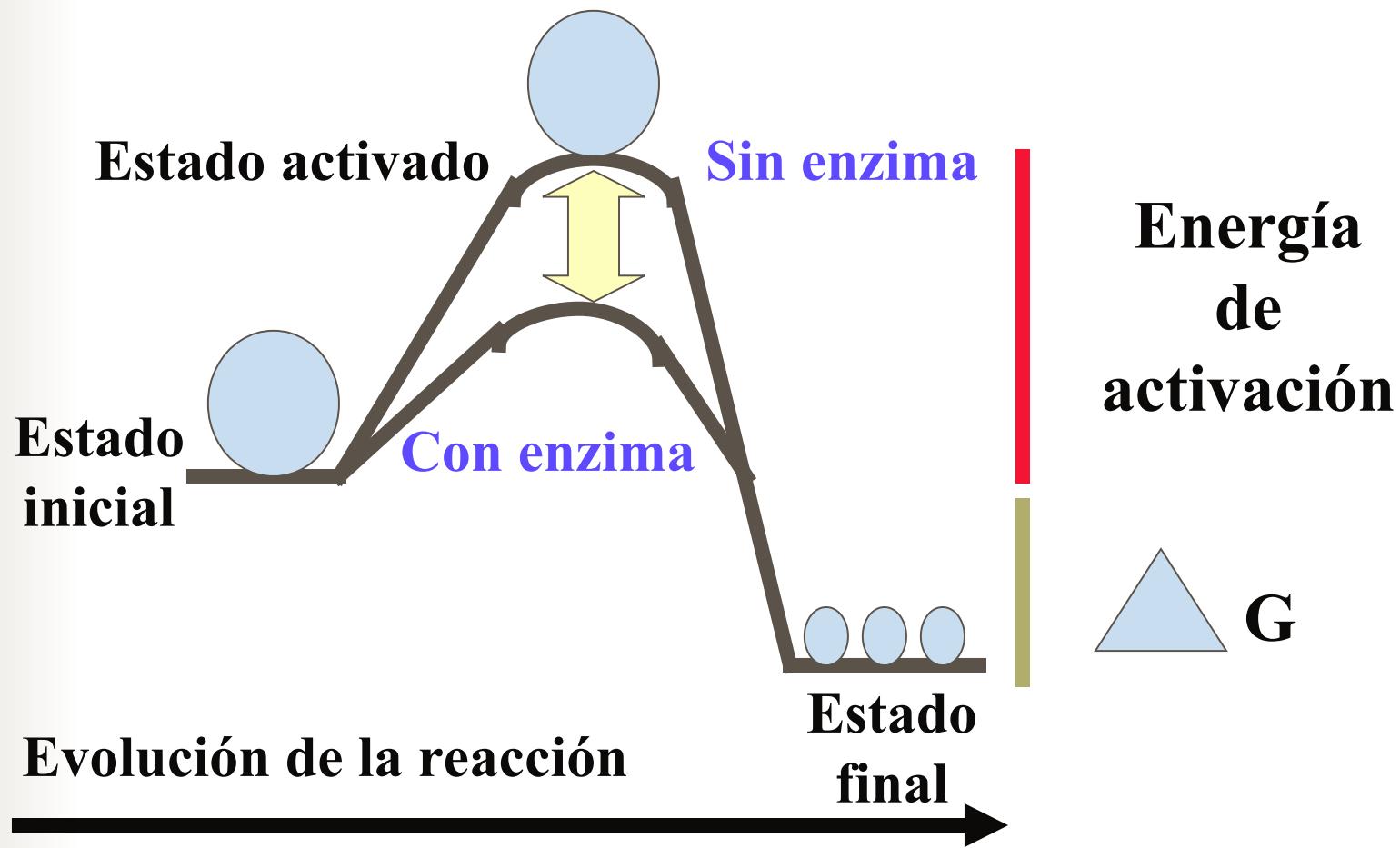


## ENZIMAS:

### *Características generales:*

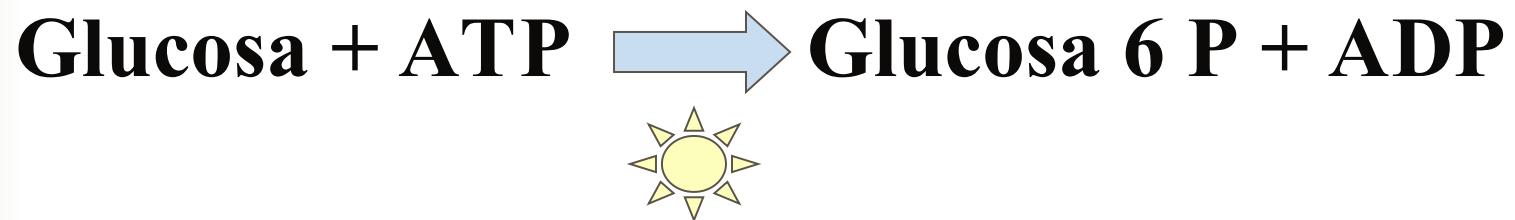
- Gracias a su *carácter proteico*, que les permite adoptar *estructura terciaria y cuaternaria*, las enzimas son las únicas moléculas que pueden adaptarse a la sustancia o sustrato al cual se unen y modifican...
- Por ser proteínas, son *termolábiles*...

# CATÁLISIS ENZIMÁTICA:



## ESPECIFICIDAD ENZIMÁTICA:

- La *especificidad enzimática* puede ser:
- A) De *sustrato* (Ej. Glucoquinasa):

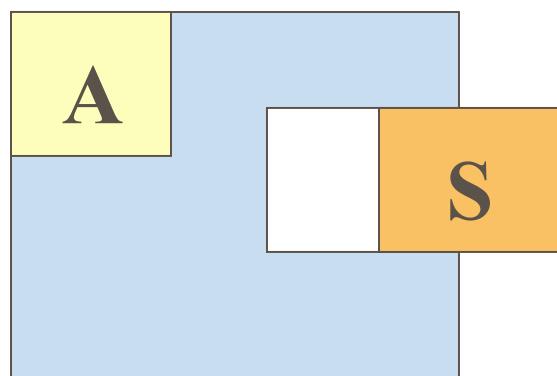


- B) De *reacción* (Ej. Fosfatasas):

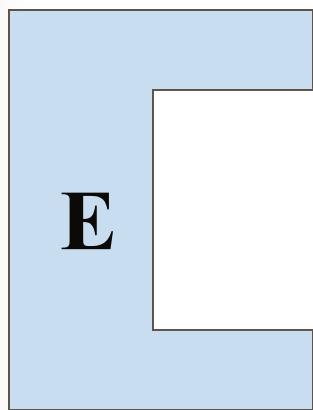


## ENZIMAS ALOSTÉRICAS:

- Las enzimas tienen un sitio específico de unión al sustrato (S) y algunas poseen un sitio de unión para moléculas reguladoras (A) (*enzimas allostéricas*)...

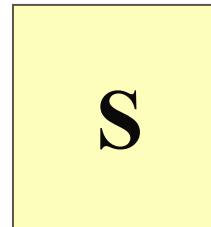


# MECANISMO DE ACCIÓN ENZIMÁTICA:

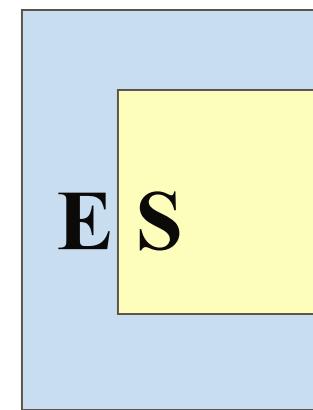


ENZIMA

+

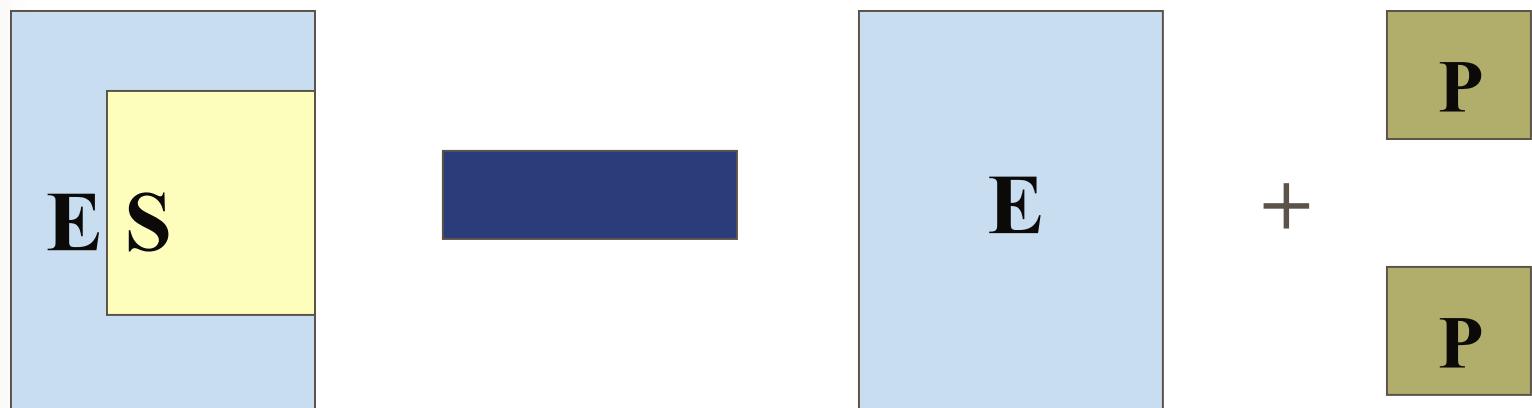


SUSTRATO



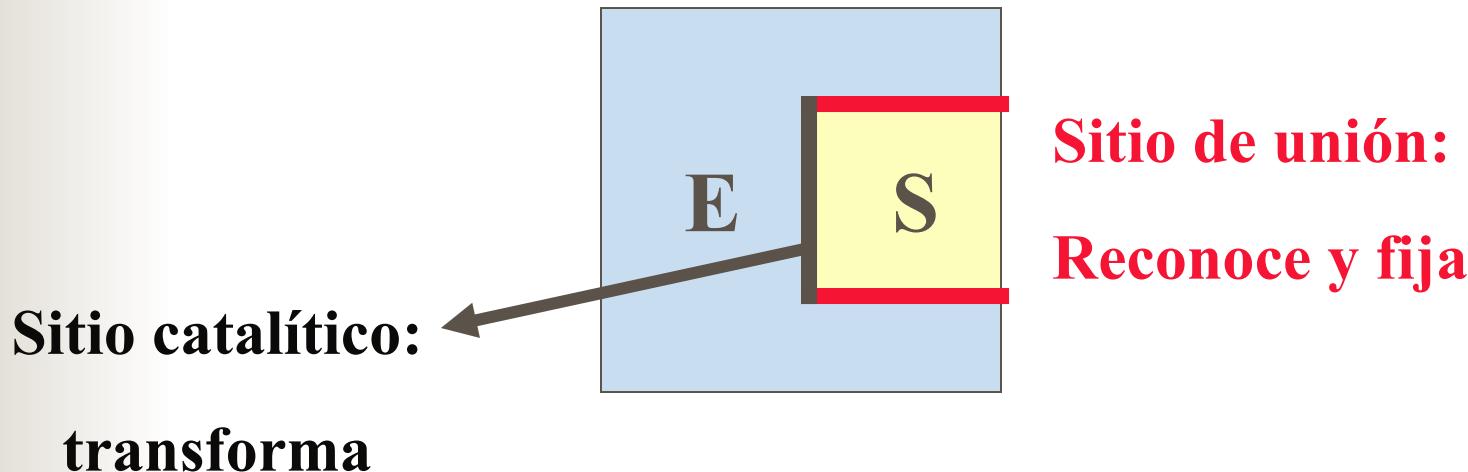
COMPLEJO  
ENZIMA-  
SUSTRATO

# MECANISMO DE ACCIÓN ENZIMÁTICA:

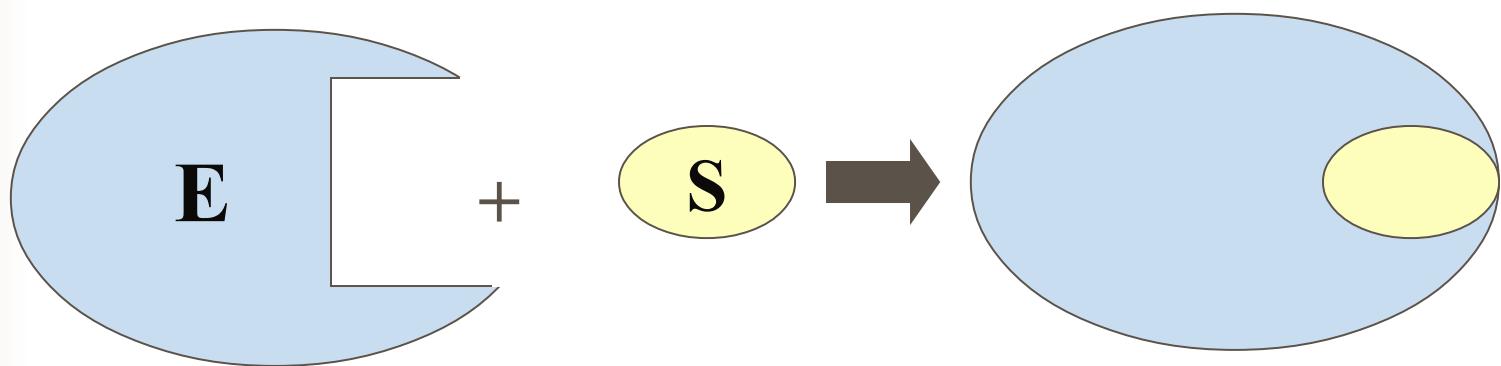


## LUGAR DE SUSTRATO:

- El lugar de sustrato posee dos sitios:
  - A) *de unión*;
  - B) *catalítico* (sitio o centro activo).



## UNIÓN ENZIMA-SUSTRATO:



**ADAPTABILIDAD INDUCIDA**

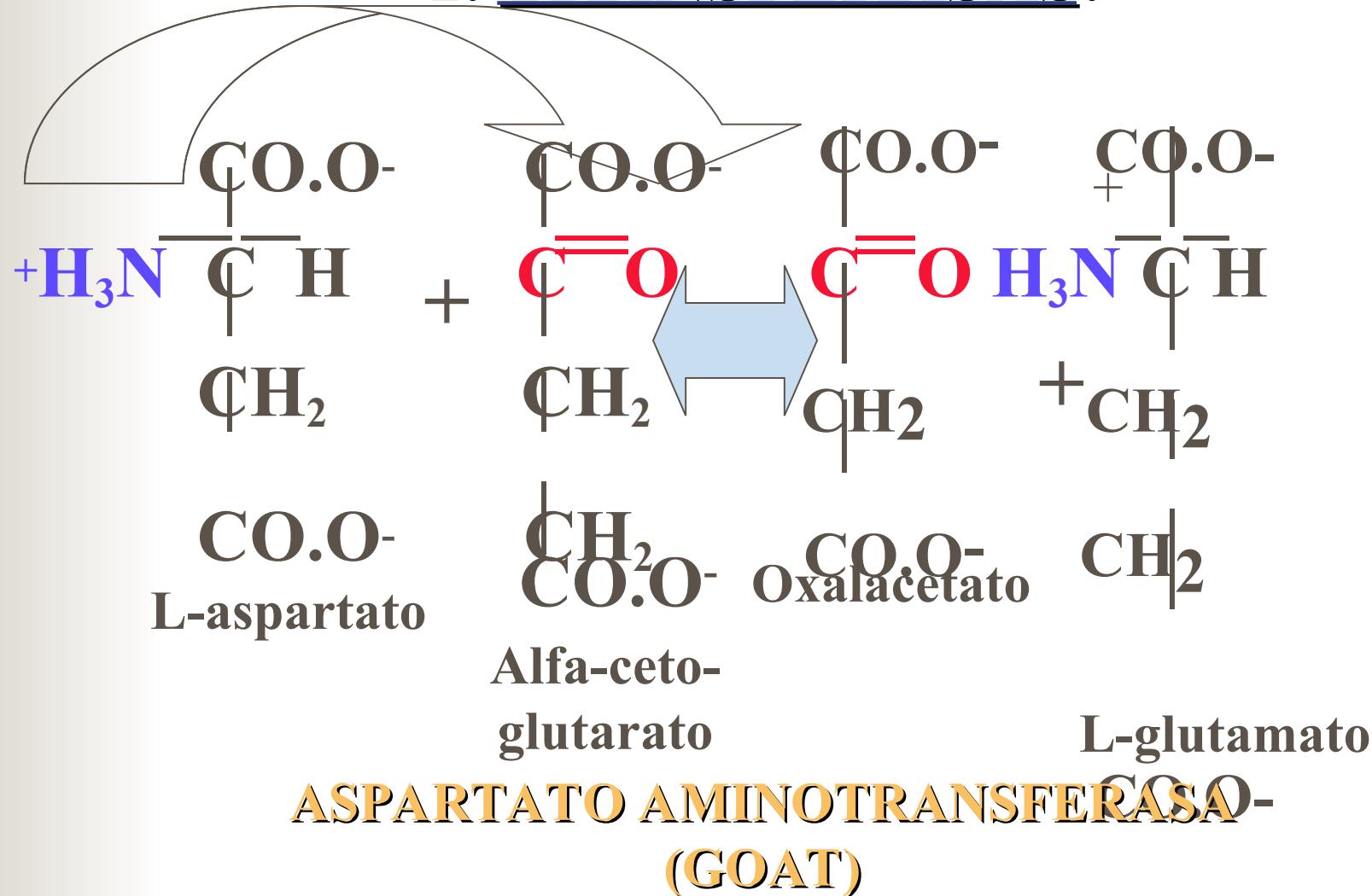
# CLASIFICACIÓN DE LAS ENZIMAS:

- **Transferasas;**
- **Hidrolasas;**
- **Oxido-reductasas;**
- **Isomerasas;**
- **Liasas;**
- **Ligasas...**

## TRANSFERASAS:

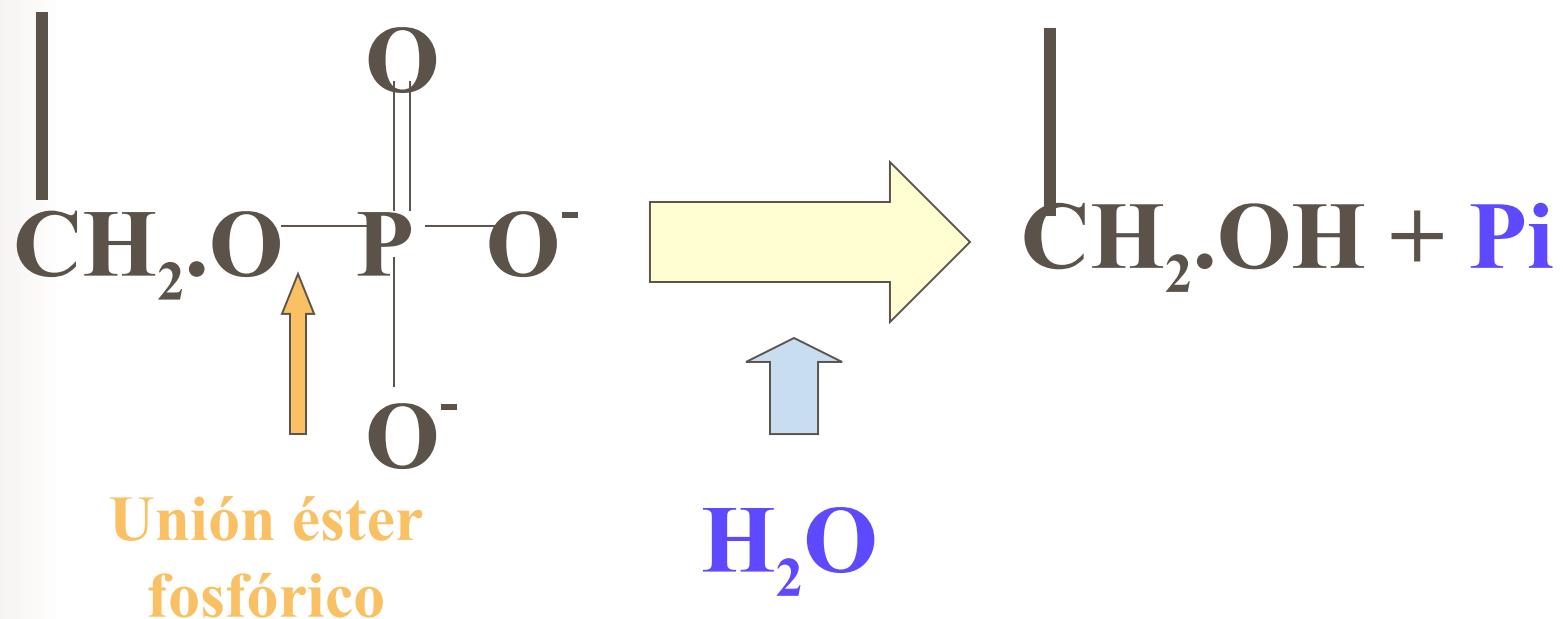
- Catalizan la transferencia de un grupo de átomos de un sustrato a otro.  
Ejemplos:
- Las *AMINOTRANSFERASAS*:  
(ó transaminasas)
  - transfieren grupos amino...
  - Las *QUINASAS*:
  - transfieren grupos fosfato...

## **1. TRANSFERASAS:**



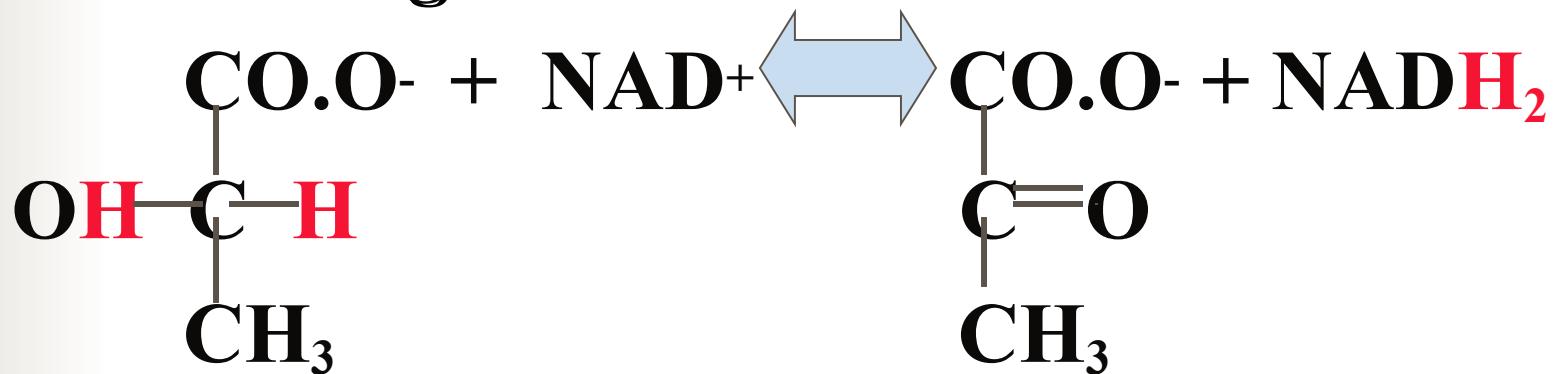
## 2. HIDROLASAS:

Catalizan la ruptura de un enlace químico mediante la adición de una molécula de agua.



### 3. ÓXIDO-REDUCTASAS:

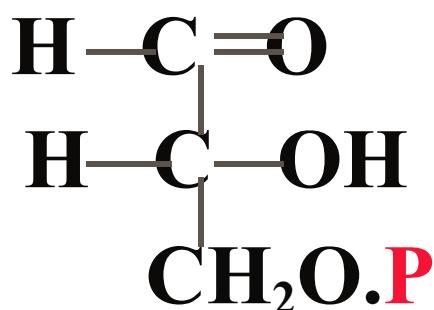
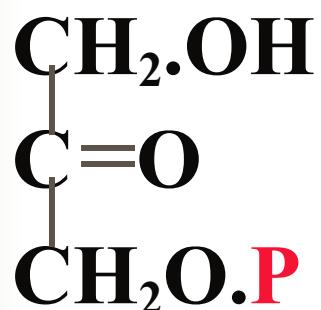
- Catalizan reacciones de transferencia de átomos de hidrógeno ó electrones. Ej: las *deshidrogenasas...*



**LACTATO DESHIDROGENASA**

## 4. ISOMERASAS:

- Son las que interconvierten isómeros de cualquier tipo, ópticos, geométricos o de posición...Ej: *triosasa fosfato isomerasa*:



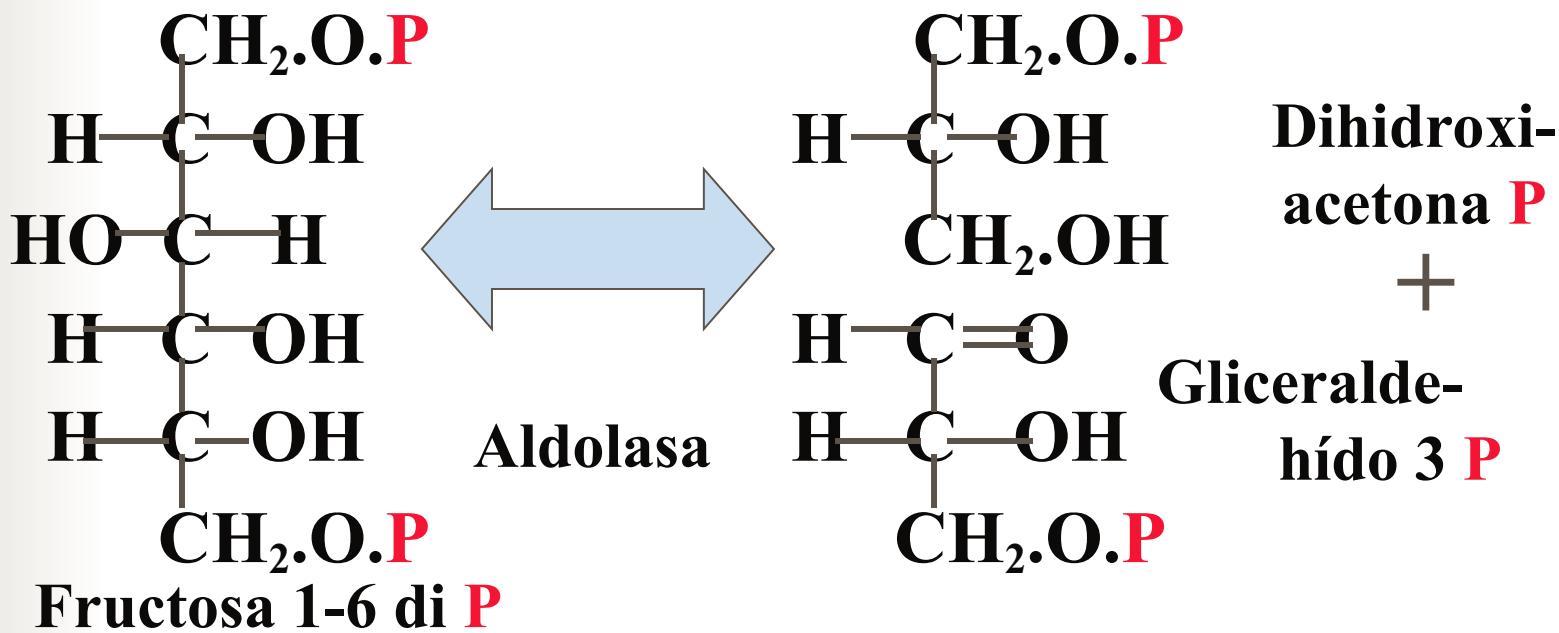
Dihidroxiacetona P

C3 H5 O6 P

Gliceraldehído 3 P

## 5. LIASAS:

- Catalizan la ruptura de enlaces químicos, excluyendo enlaces peptídicos, por un proceso distinto al de la hidrólisis. Ej: la aldolasa...



## 6. LIGASAS:

- Catalizan la formación de enlaces entre C y O, N, S ú otros átomos, generalmente, utilizando energía de hidrólisis del ATP...
  - Ej: Glutamina sintetasa
  - $\text{L-GLUTAMATO} + \text{NH}_4^+ + \text{ATP} + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\hspace{1cm}} \text{L-GLUTAMINA} + \text{ADP} + \text{Pi}$

## ACTIVIDAD ENZIMÁTICA:

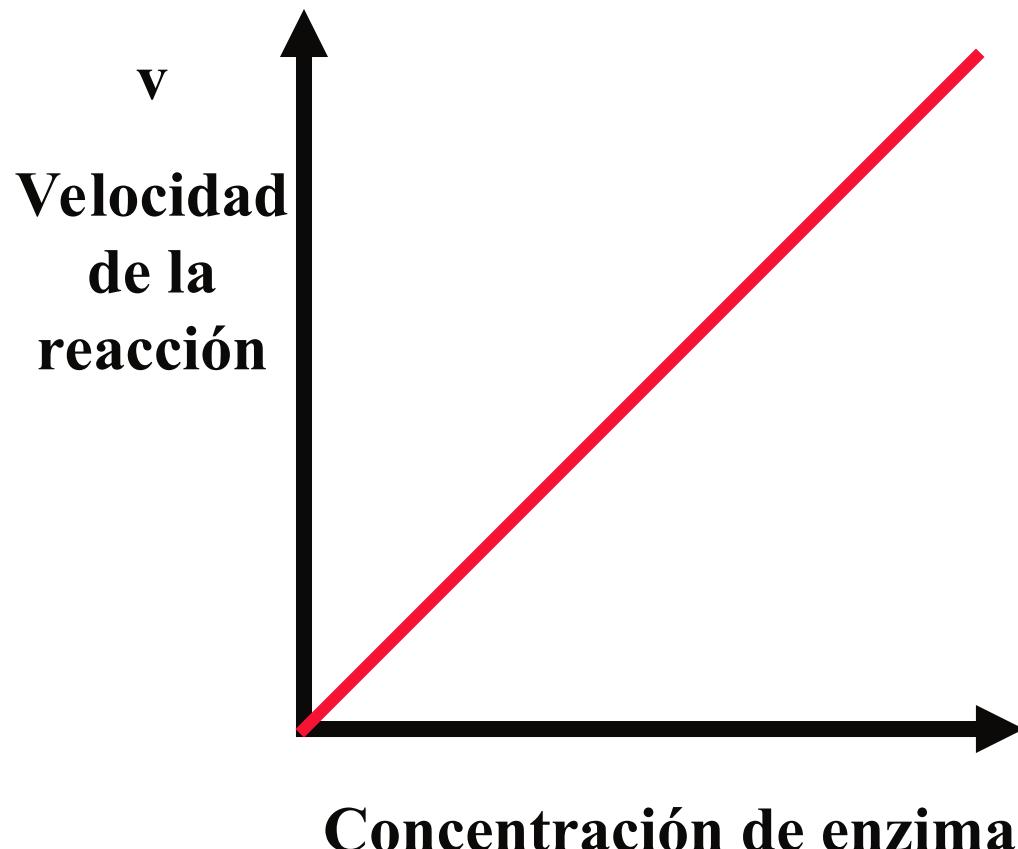
- Es la cantidad de sustrato transformado en la unidad de tiempo. La unidad de medida es la **Unidad Internacional**.
- Una **Unidad Internacional (UI)** es la cantidad de enzima capaz de transformar un *micromol* de sustrato en *un minuto*...

## **FACTORES QUE MODIFICAN LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA:**

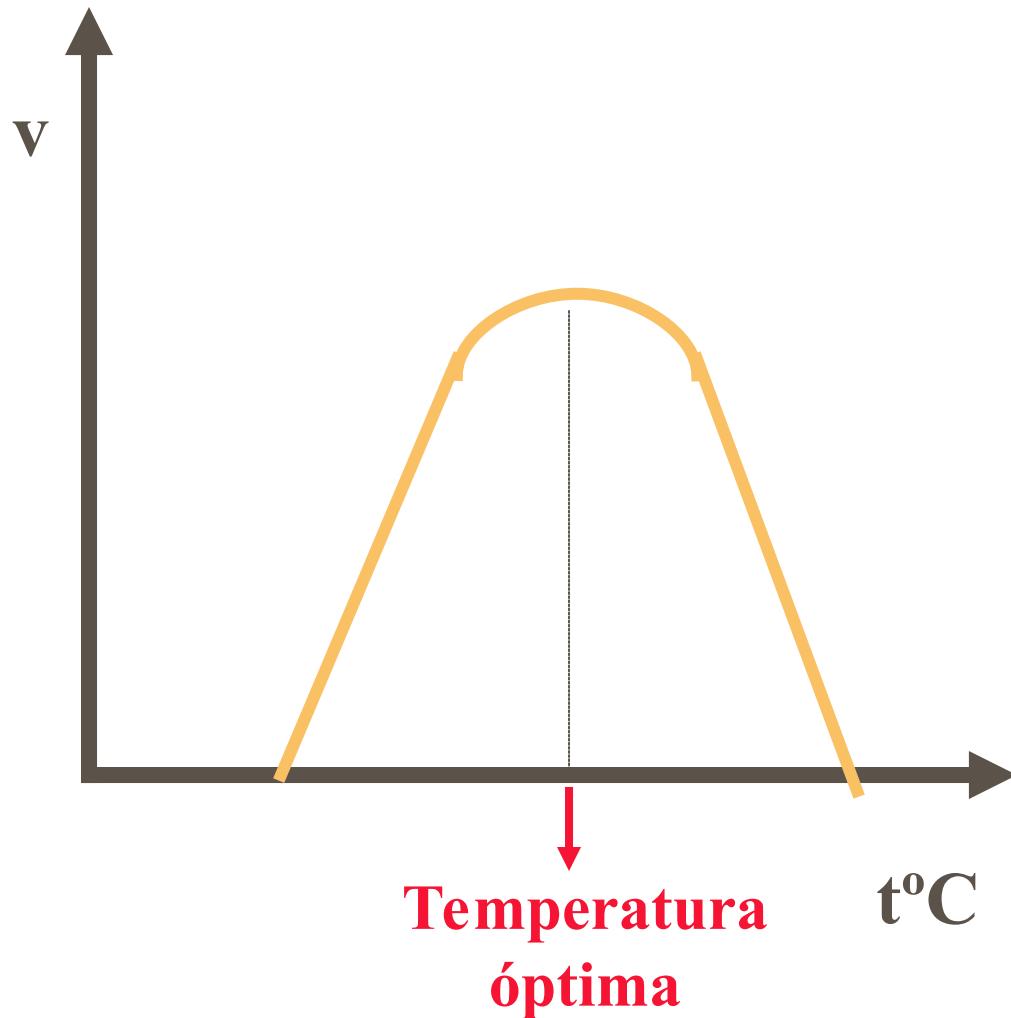
- Concentración de enzima;
- Temperatura;
- pH;
- Concentración de sustrato...



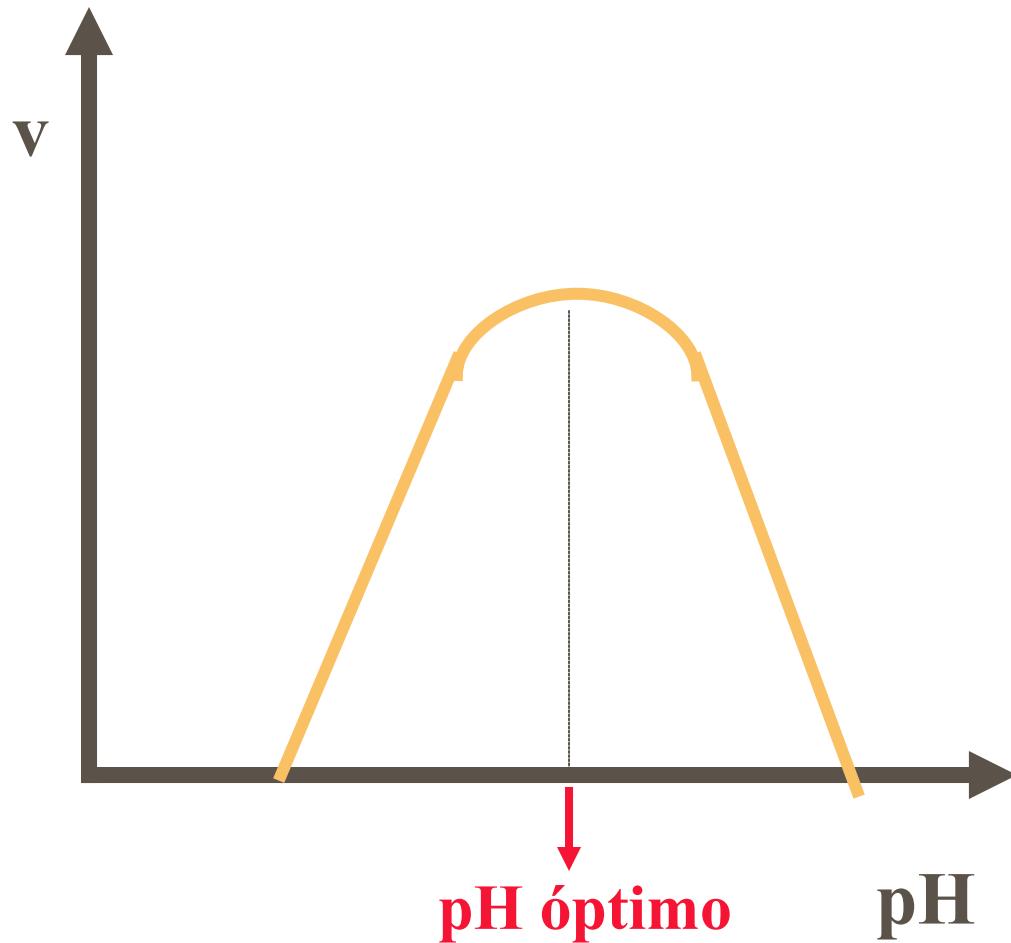
# CONCENTRACIÓN DE ENZIMA:



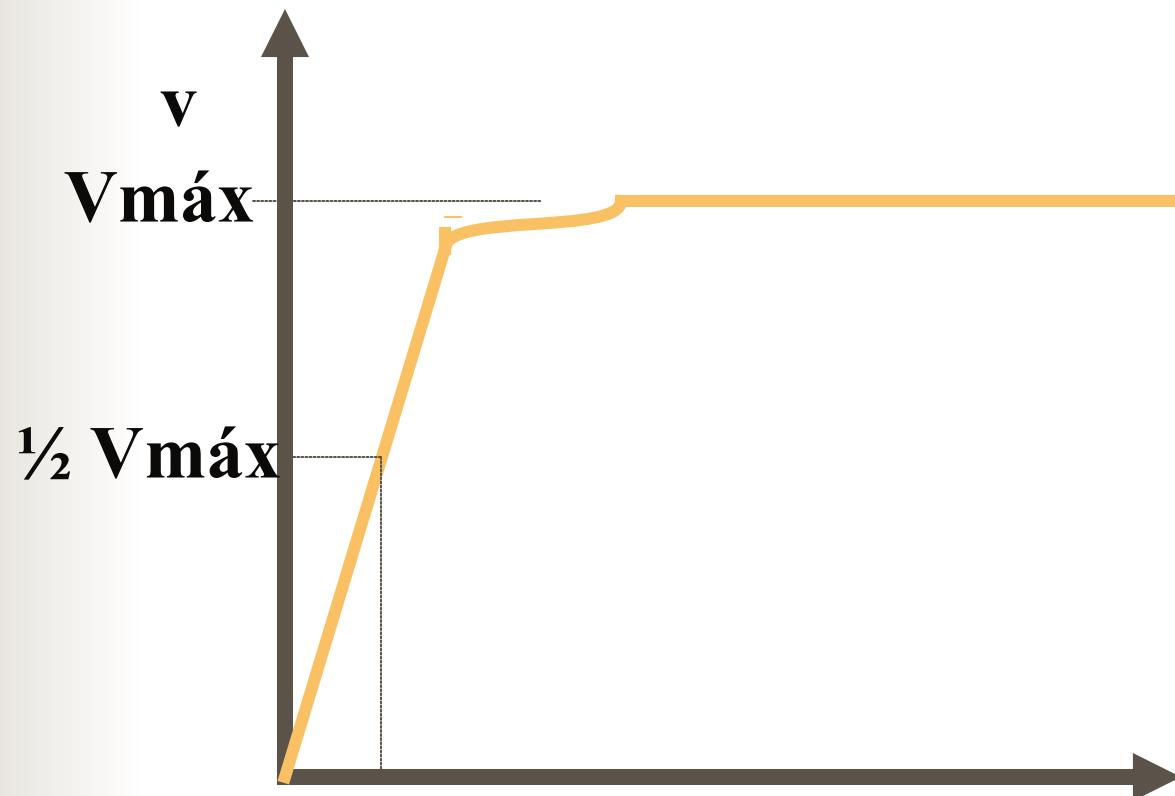
## TEMPERATURA:



## pH:



# CONCENTRACIÓN DE SUSTRATO:



**K<sub>m</sub>**

Concentración de  
sustrato

## CONCLUSIONES:

- El *Km* de una enzima es la concentración de sustrato para la cual se alcanza la mitad de la velocidad máxima de la reacción;
- Es un índice *inverso* de la afinidad de la enzima por su sustrato: a mayor Km menor afinidad y viceversa...

## ECUACIÓN DE MICHAELIS-MENTEN:

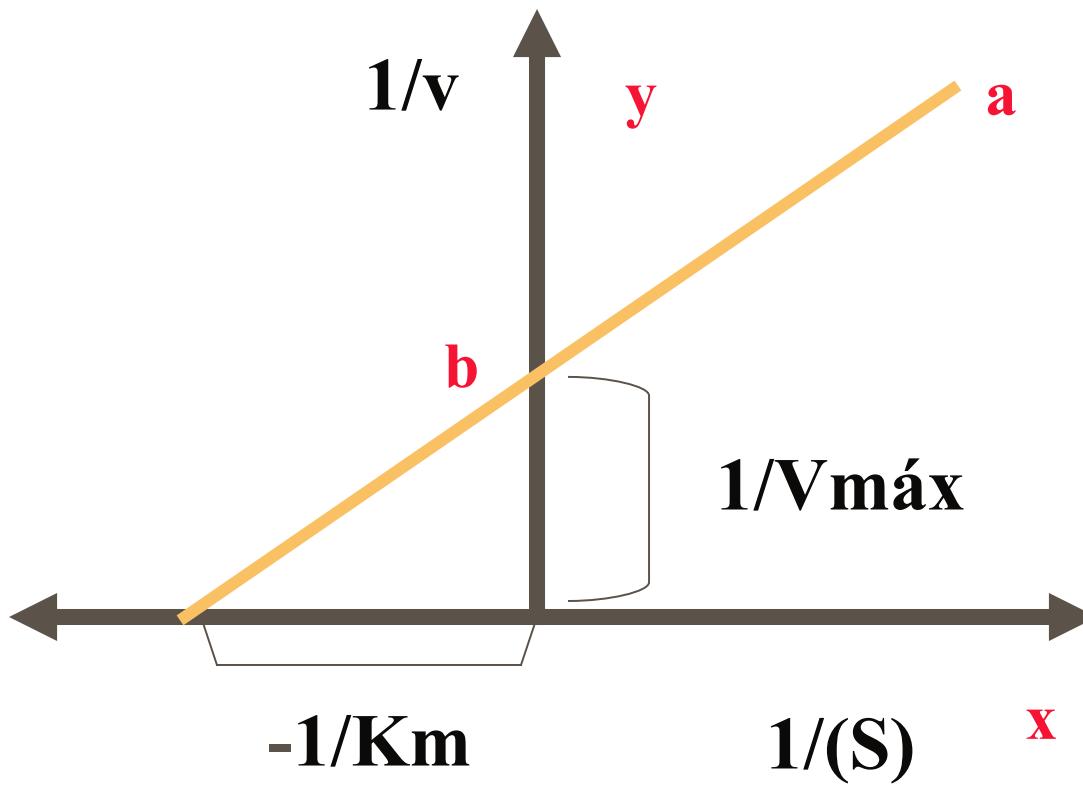
$$\frac{v}{V_{\max} \cdot (S)} = \frac{1}{K_m + (S)} \quad \longrightarrow \quad \frac{1}{v} = \frac{K_m + (S)}{V_{\max} \cdot (S)}$$

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{\max}} \cdot \frac{1}{(S)} + \frac{1}{V_{\max}}$$

$$y = a \cdot x + b$$

Ecuación de la recta

## REPRESENTACIÓN DE LINEWEAVER-BURK:





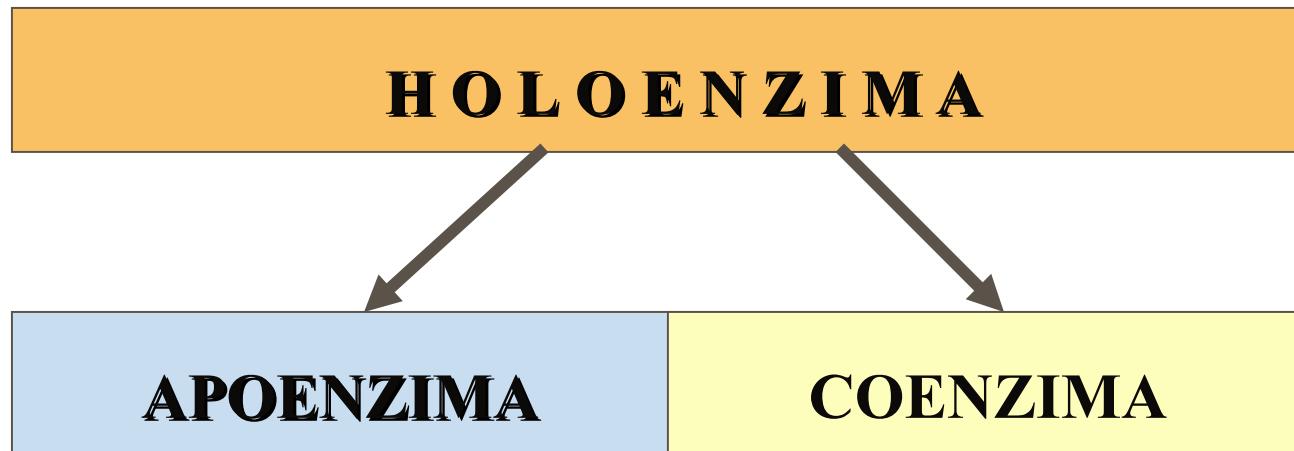
## COFACTORES ENZIMÁTICOS:

- Algunas enzimas sólo pueden realizar su función catalítica en asociación a otra molécula *no proteica* más pequeña denominada ***cofactor enzimático***;
- Los ***cofactores enzimáticos*** son tres:
  - **GRUPOS PROSTÉTICOS**;
  - **COENZIMAS**;
  - **ACTIVADORES METÁLICOS...**

## COFACTORES ENZIMÁTICOS:

- En los *grupos prostéticos*, la unión de los mismos a la enzima es *fuerte* (covalente), manteniéndose unida al finalizar la reacción química. Ej: biotina, FMN, FAD.
- En las *coenzimas*, la unión es *débil* y se separan de la enzima al finalizar la reacción química. Ej: NAD, NADP.

# HOLOENZIMAS:



**PROTEÍNA  
(TERMOLÁBIL)**

**NO PROTEÍNA  
(TERMOESTABLE)**

# COFACTORES ENZIMÁTICOS:

## *SU RELACIÓN CON VITAMINAS:*

- Tanto los *grupos prostéticos* , como las *coenzimas* se relacionan estructuralmente con **vitaminas**. Por ejemplo:
- PPT(piropofosfato de tiamina):**Tiamina (B1);**
- PAL(fosfato de piridoxal):**Piridoxina (B6);**
- FAD(flavinaadeninadínucleótido):**B2;**
- NAD(nicotinamidaadeninadínucleótido);
- CoA (coenzima A): **Pantoténico...**

## ACTIVADORES METÁLICOS:

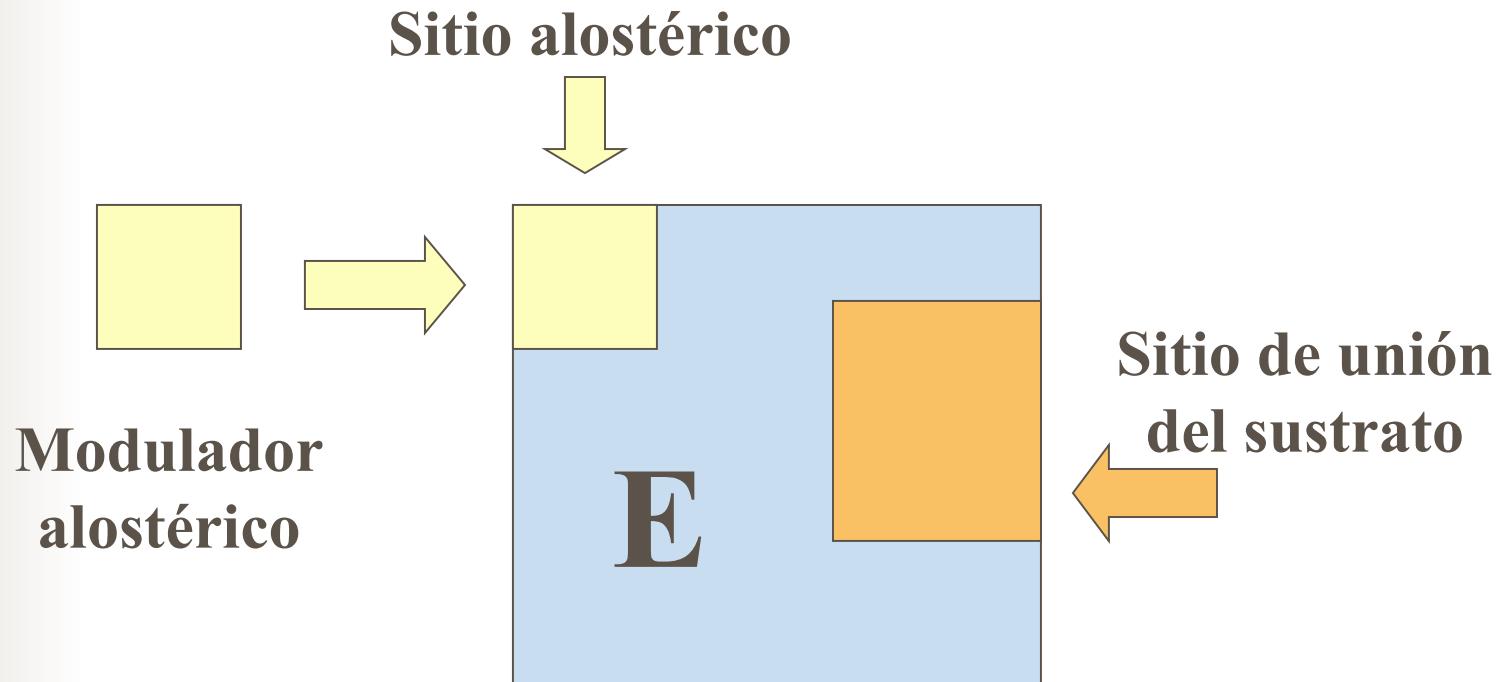
- **Fe:** catalasas, peroxidasas, citocromos;
- **Cu:** citocromo oxidasa, tirosinasa;
- **Zn:** alcohol deshidrogenasa; anhidrasa;
- **Mg:** quinasas;
- **Mn:** carboxilasas;
- **Se:** glutation peroxidasa;
- **Mo:** xantino-oxidasa...



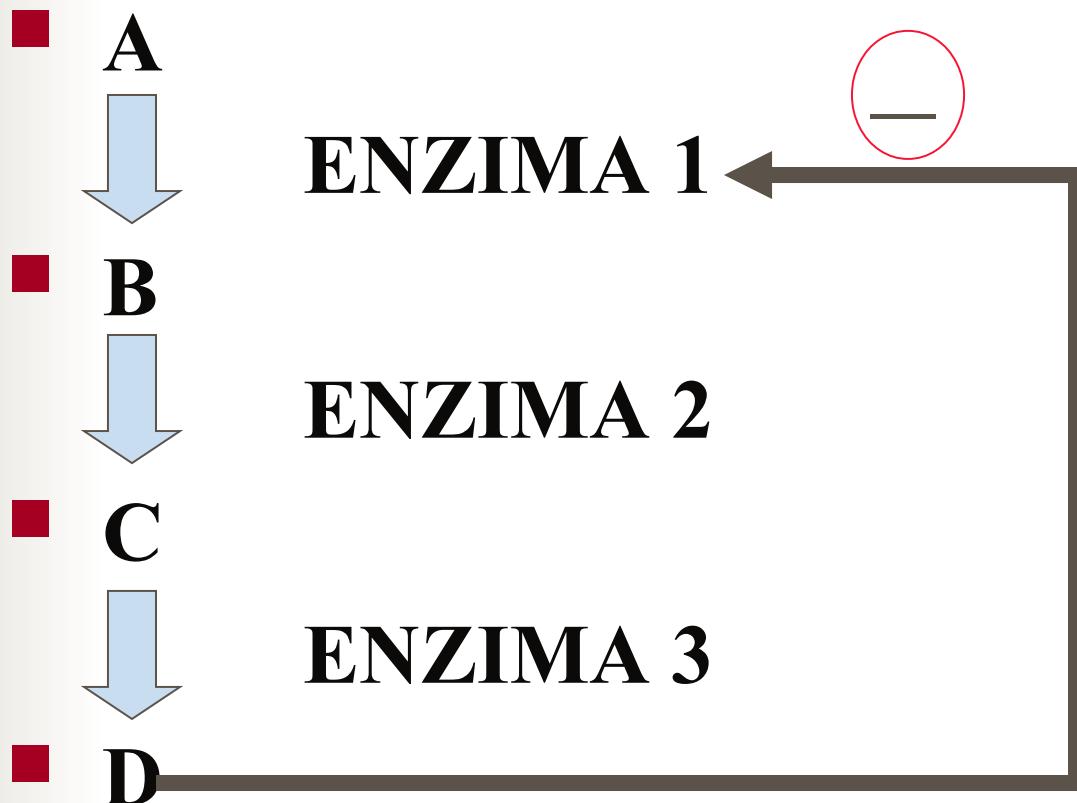
## REGULACIÓN ENZIMÁTICA:

- *Una enzima puede ser regulada por:*
- Concentración de sustrato, enzima, pH;
- Alosterismo;
- Modificación covalente;
- Genética: inducción; represión;
- Hormonal...

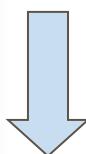
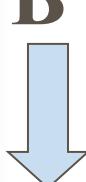
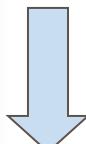
# REGULACIÓN ALOSTÉRICA:



# REGULACIÓN ALOSTÉRICA: *EFECTO HOMOTRÓPICO:*



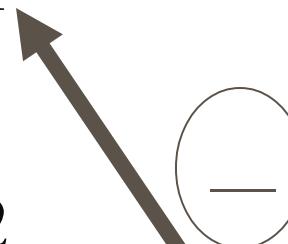
# REGULACIÓN ALOSTÉRICA: *EFECTO HETEROTRÓPICO:*

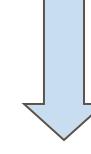
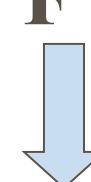
- A 
- B 
- C 
- D 

ENZIMA 1

ENZIMA 2

ENZIMA 3

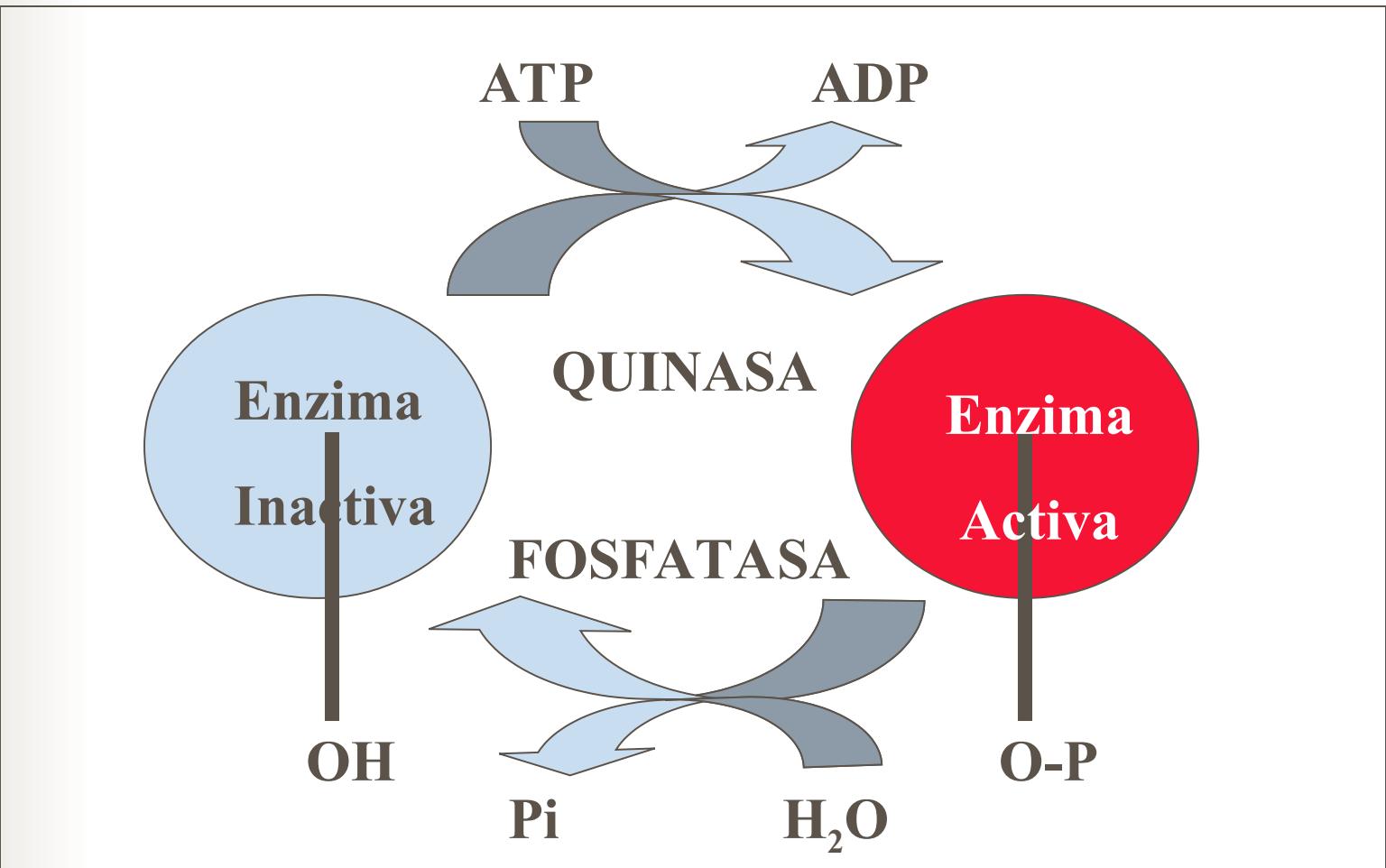


- E 
- F 
- G 
- H 

# **MODIFICACIÓN COVALENTE:**

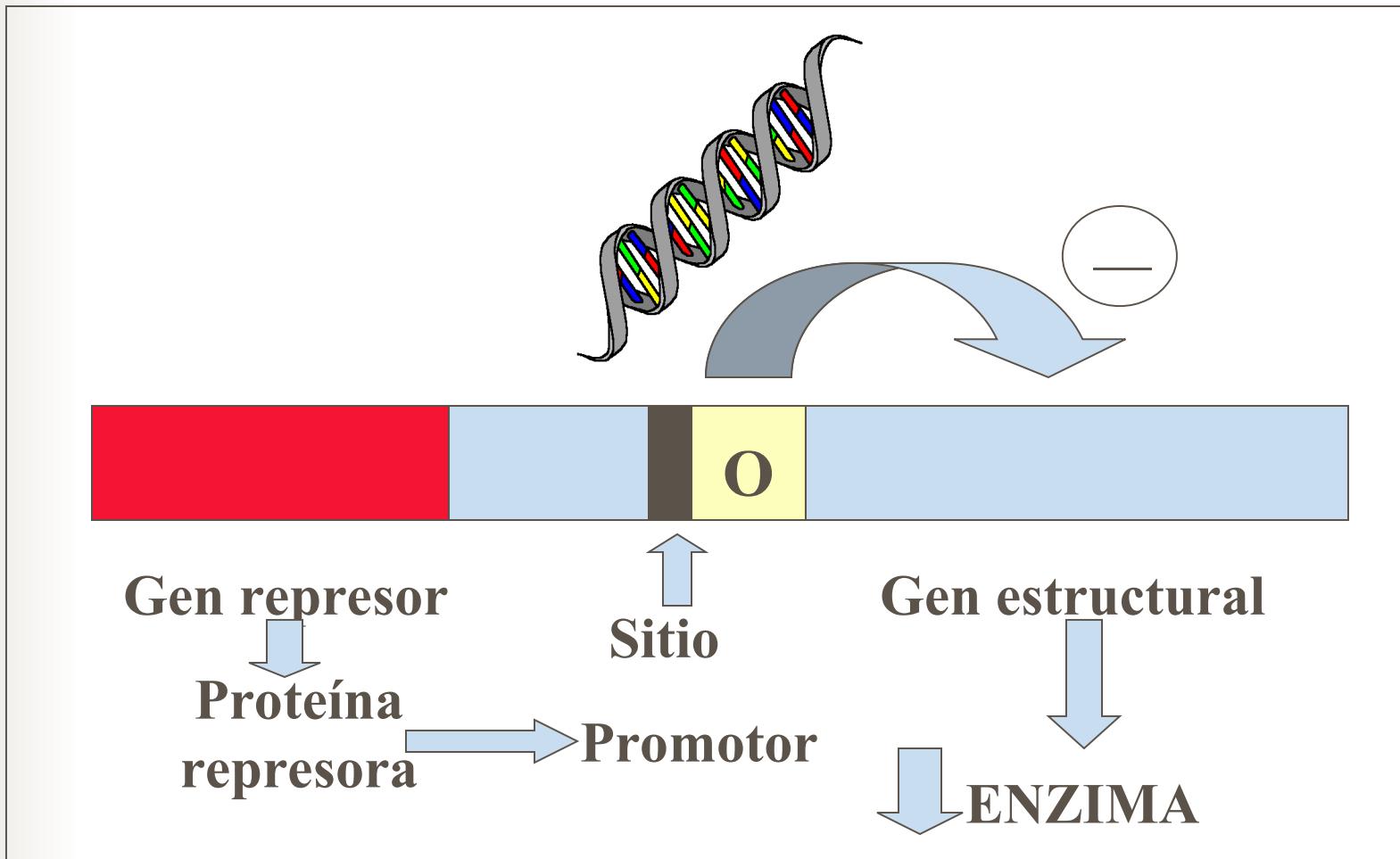
- HORMONA
- RECEPTOR
- SEGUNDO MENSAJERO
- FOSFORILACIÓN ENZIMÁTICA
- ACTIVACIÓN/INACTIVACIÓN

# MODIFICACIÓN COVALENTE:



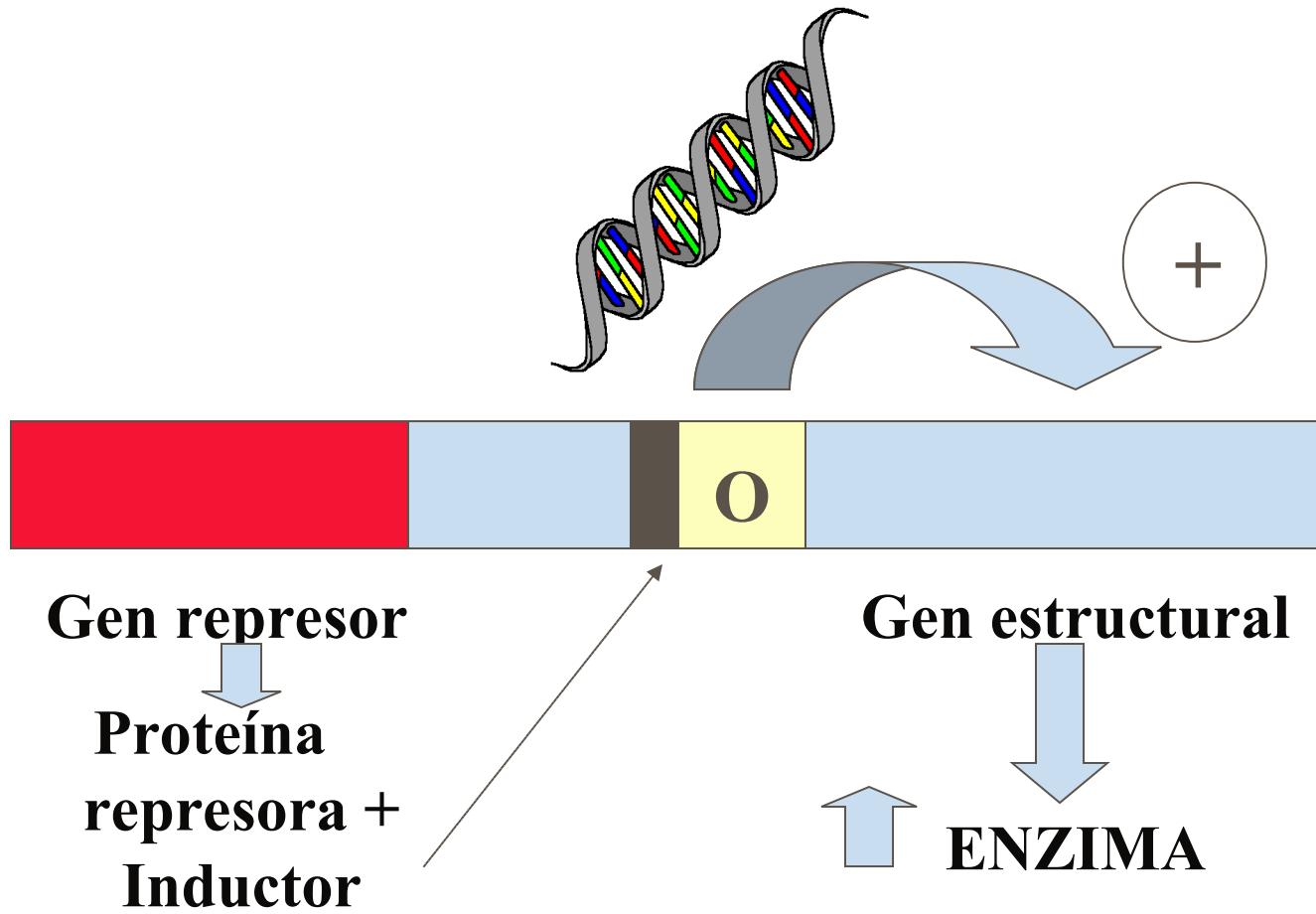
# REGULACIÓN GENÉTICA:

## *Represión:*



# REGULACIÓN GENÉTICA:

## *Inducción:*

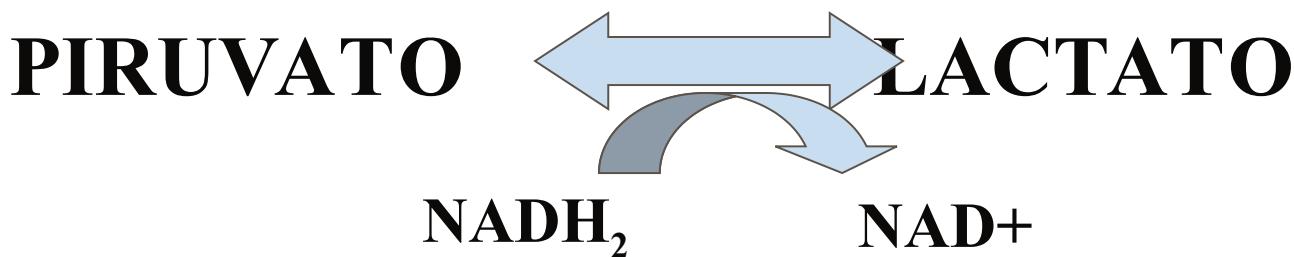


## CONCLUSIONES:

- **REGULACIÓN ALOSTÉRICA** =
  - MODULACIÓN:
  - *ESTIMULACIÓN ó INHIBICIÓN*
    - *Es un mecanismo rápido...*
- **REGULACIÓN GENÉTICA** =
  - *REPRESIÓN ó INDUCCIÓN*
    - *Es un mecanismo lento...*

## ISOENZIMAS:

- Son *formas moleculares distintas* de una misma especie enzimática. Ejemplo:
  - **LACTATO DESHIDROGENASA:**



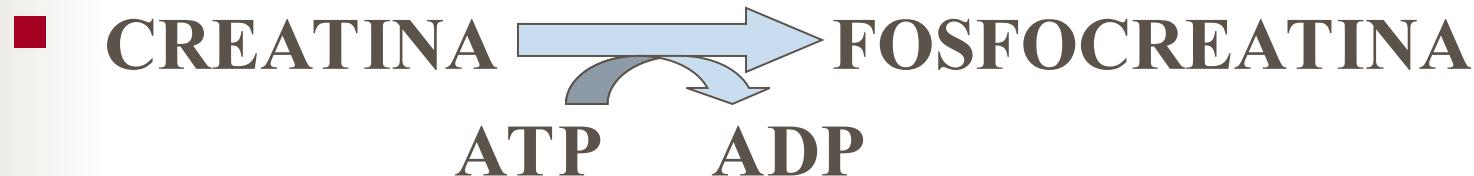
# ISOENZIMAS:

## *Lactato deshidrogenasa:*

H	H	H	H	LDH 1	Corazón
M	H	H	H	LDH 2	
M	M	H	H	LDH 3	
M	M	M	H	LDH 4	
M	M	M	M	LDH 5	Músc.esq.

# ISOENZIMAS

## *Creatinfosfoquinasa:*



CPK-MM:



Músculo esq.

CPK-MB:



CORAZON



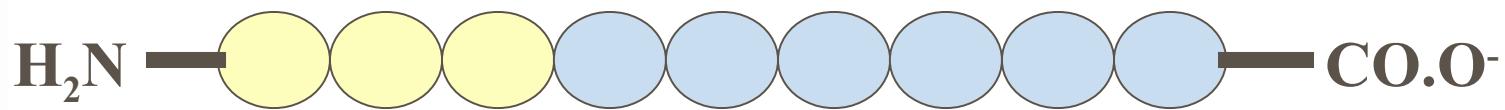
CPK-BB:



Cerebro

# ZIMÓGENOS:

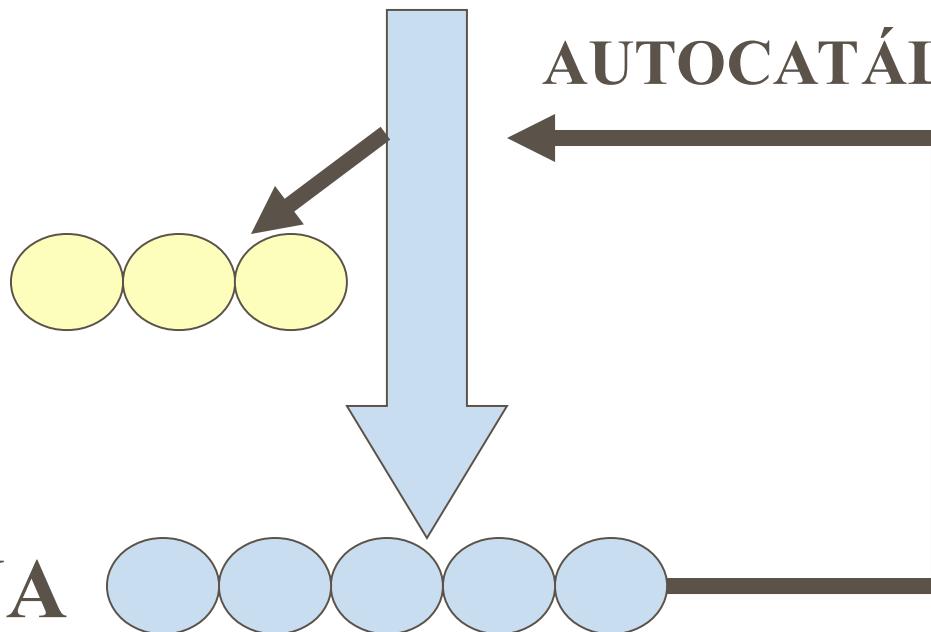
## ■ PEPSINÓGENO:



pH BAJO

AUTOCATÁLISIS

• PEPSINA



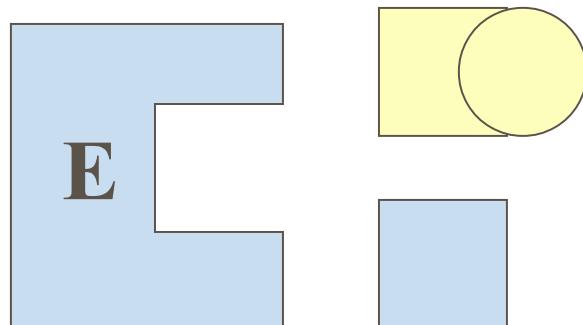
## INHIBICIÓN ENZIMÁTICA:

- Un *inhibidor enzimático* es una sustancia química capaz de bloquear de manera reversible ó irreversible la acción de una enzima...
  - Clasificación:
- Reversible (competitiva; no competitiva);
  - Irreversible...

# INHIBICIÓN ENZIMÁTICA

## REVERSIBLE COMPETITIVA:

- El *inhibidor* tiene una estructura química parecida al sustrato de la enzima, por lo tanto *compite* con él por el sitio activo de la enzima...

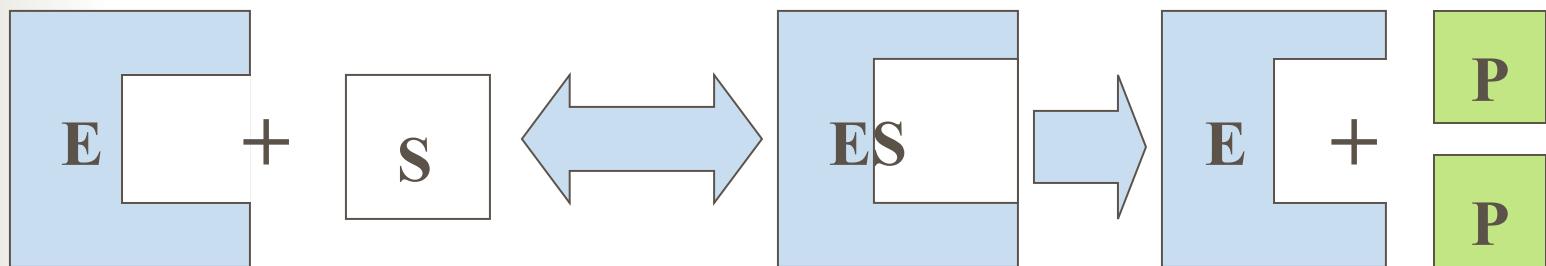
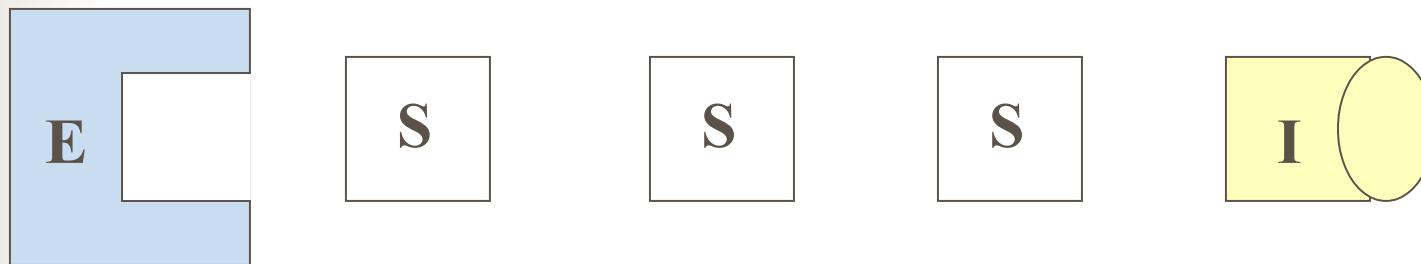


Inhibidor competitivo

Sustrato

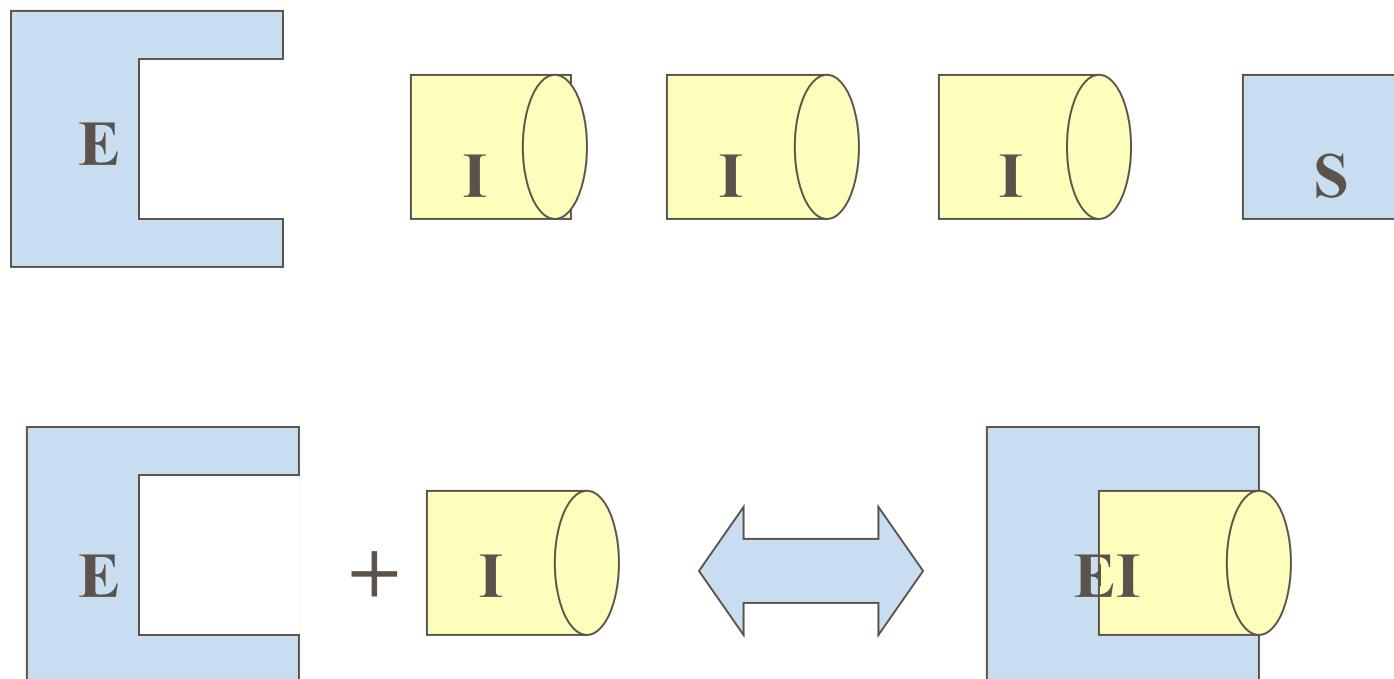
# INHIBICIÓN ENZIMÁTICA

## REVERSIBLE COMPETITIVA:



# INHIBICIÓN ENZIMÁTICA

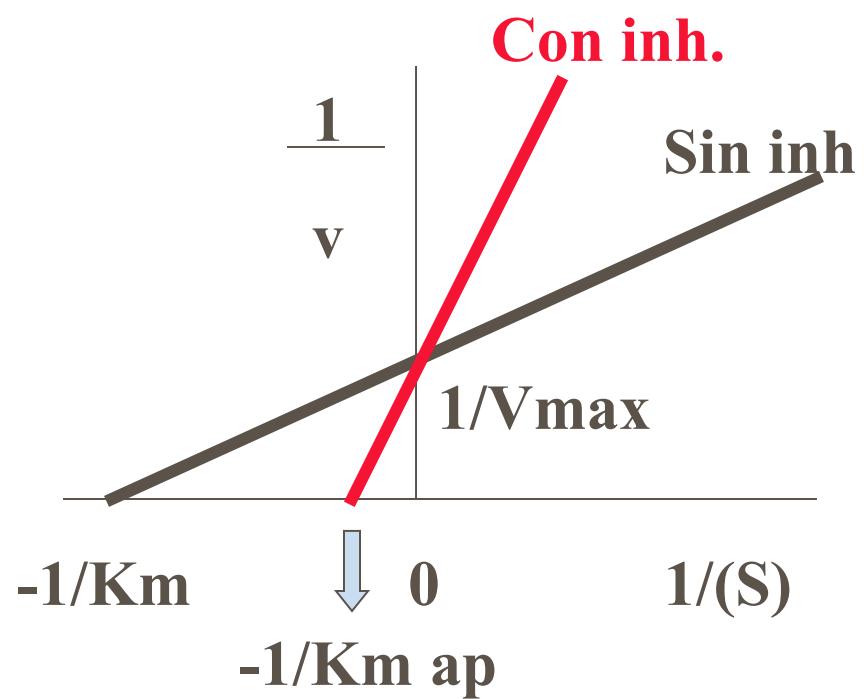
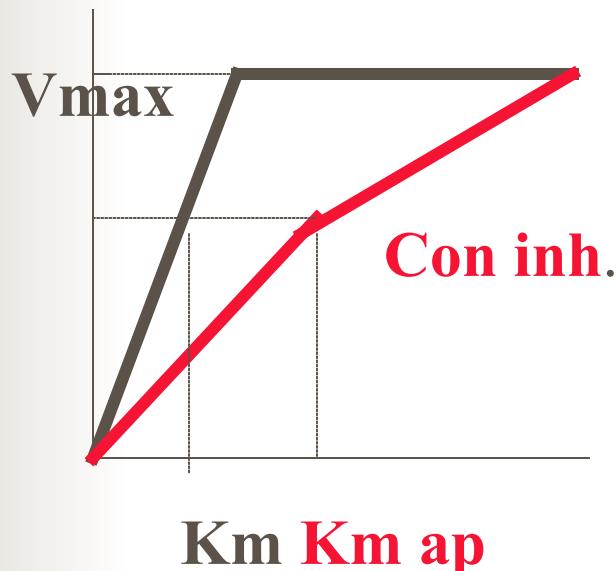
## REVERSIBLE COMPETITIVA:



# INHIBICIÓN ENZIMÁTICA

## REVERSIBLE COMPETITIVA:

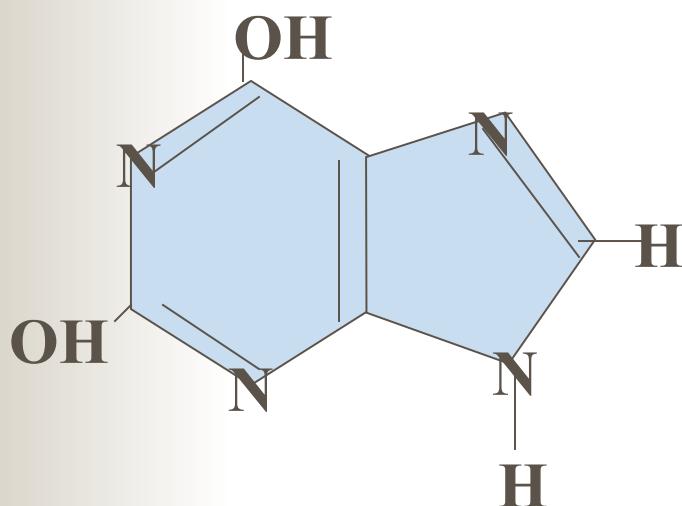
- Sin inhibidor



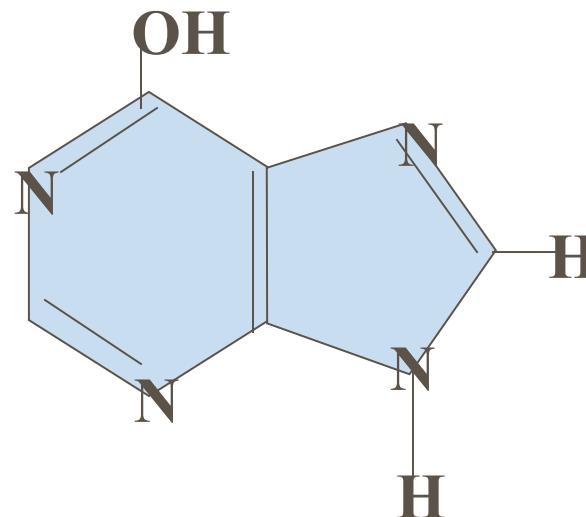
# EJEMPLO DE INHIBICIÓN COMPETITIVA

## XANTINO-OXIDASA:

HIPOXANTINA → XANTINA → AC.URICO



HIPOXANTINA



ALOPURINOL



# INHIBICIÓN ENZIMÁTICA REVERSIBLE COMPETITIVA:

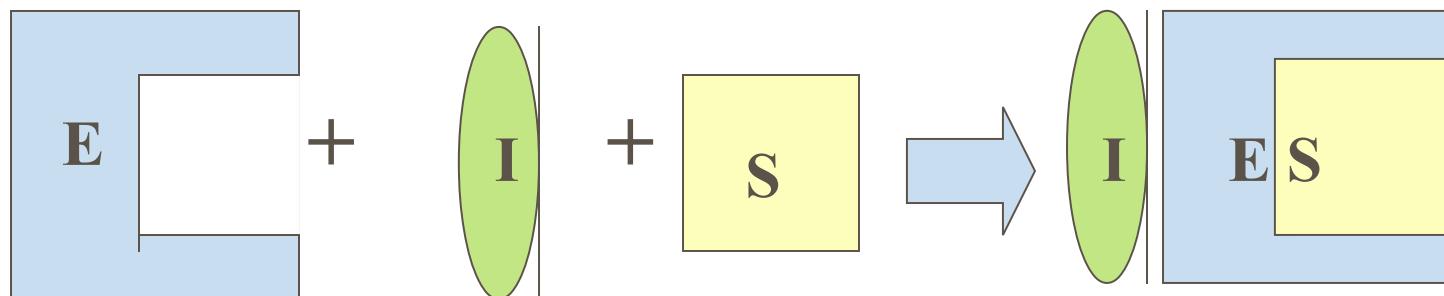
## ■ CONCLUSIONES:

- Sustrato e inhibidor tienen parecida estructura química;
- Ambos compiten por el sitio activo de la enzima;
- Se modifica el  $K_m$  pero no la  $V_{max}$  de la reacción;
  - El inhibidor puede ser desplazado aumentando la concentración del sustrato...

# INHIBICIÓN ENZIMÁTICA

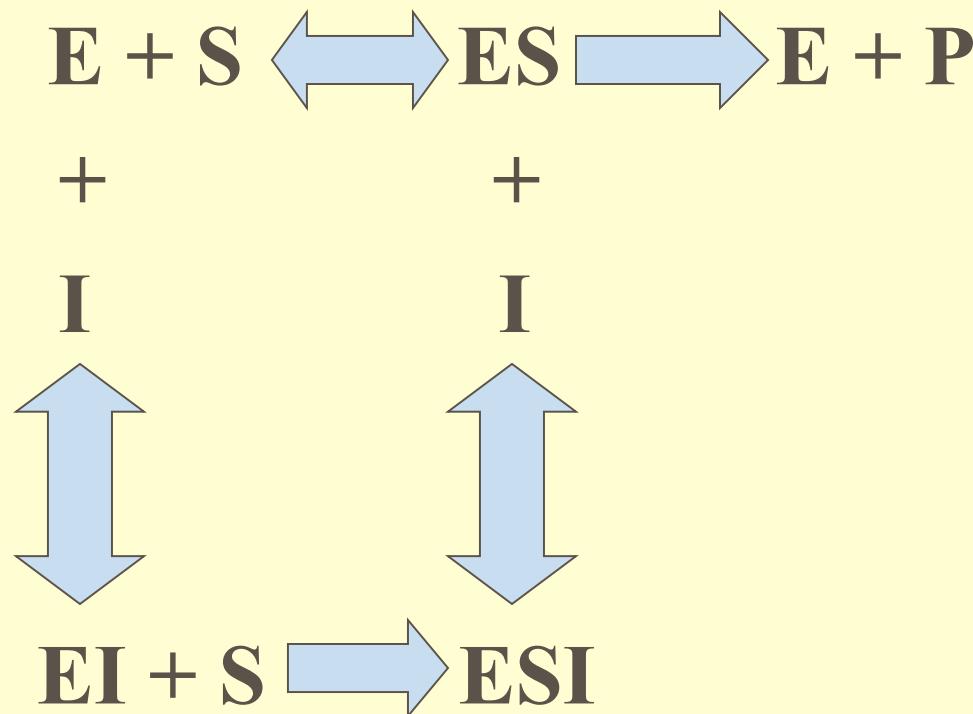
## REVERSIBLE NO COMPETITIVA:

- Los *inhibidores* se unen a la enzima en un lugar distinto al sustrato y *disminuyen la velocidad máxima de la reacción, sin modificar el Km...*

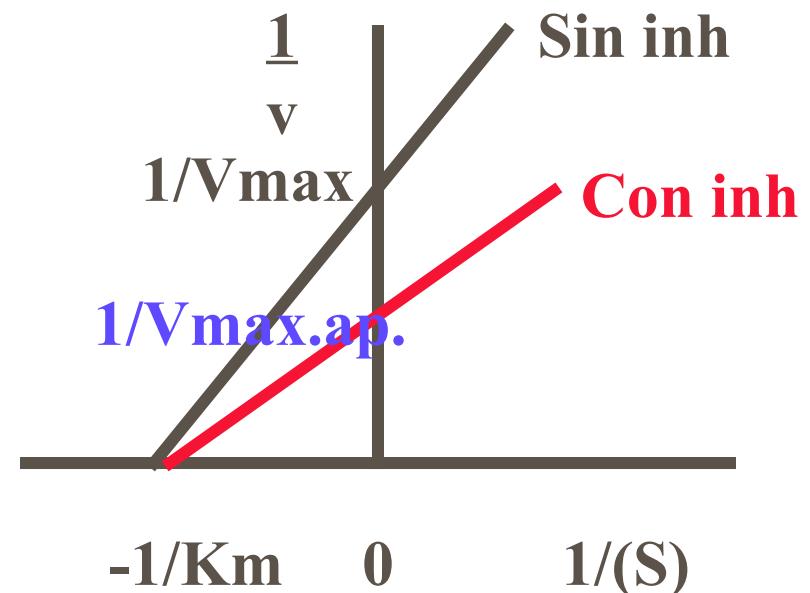
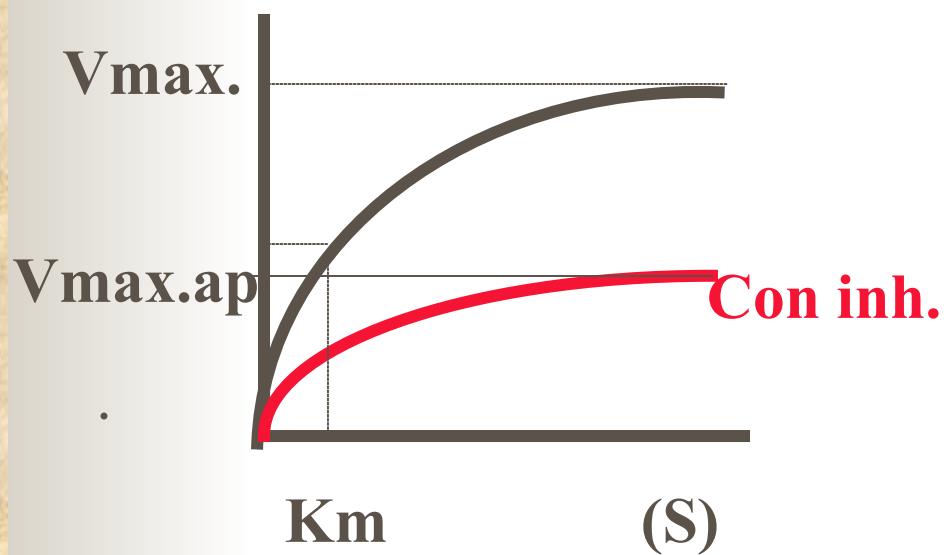


# INHIBICIÓN ENZIMÁTICA

## REVERSIBLE NO COMPETITIVA:



# INHIBICIÓN ENZIMÁTICA REVERSIBLE NO COMPETITIVA:





## INHIBICIÓN ENZIMÁTICA REVERSIBLE NO COMPETITIVA:

- *Ejemplos:*
- Cu, Hg y Ag inhiben enzimas uniéndose a grupos –SH que son indispensables para la actividad de algunas enzimas...
- EDTA (*etiléndiaminotetraacético*):
- Quelante de cationes bivalentes...

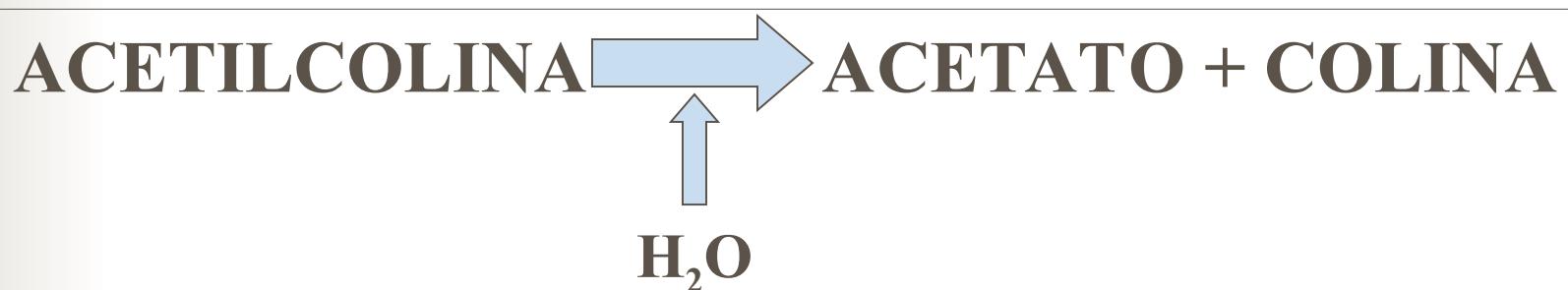


# **INHIBICIÓN ENZIMÁTICA**

## **REVERSIBLE NO COMPETITIVA:**

- **CONCLUSIONES:**
- Sustrato e inhibidor tienen diferente estructura química;
- Ambos **NO** compiten por el sitio activo de la enzima;
- Se modifica la  $V_{max}$  de la reacción (disminuye), pero **NO** el  $K_m$ ;
- El inhibidor **NO** puede ser desplazado aumentando la concentración del sustrato...

# INHIBICIÓN ENZIMÁTICA IRREVERSIBLE:



ACETILCOLINESTERASA

SH

MALATHION



## ■ CASOS CLÍNICOS:



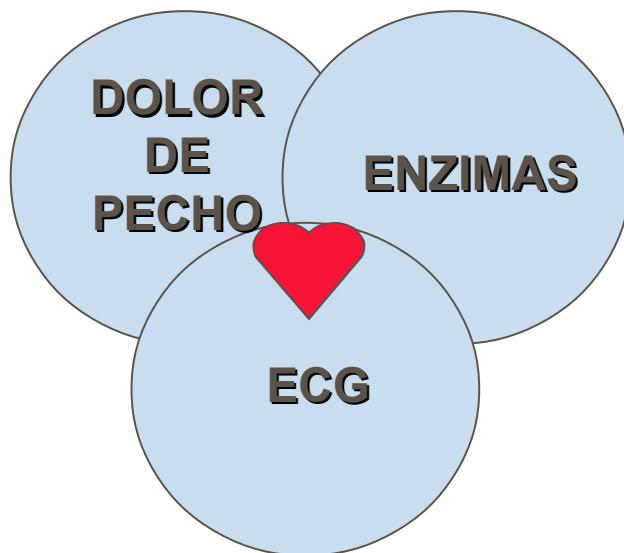
## ENZIMAS SÉRICAS:

### *Caso clínico Nº 1*

- Un paciente de 58 años, con antecedentes de *tabaquismo, hipertensión arterial e hipercolesterolemia* consulta la guardia de un hospital por un dolor precordial, opresivo, propagado al brazo y mano izquierdos, de más de una hora de evolución. El médico que lo atendió solicitó un ECG, y un análisis de sangre, tras lo cual, decidió internarlo...

## ENZIMAS SÉRICAS:

Diagnóstico de *infarto agudo de miocardio*:



# ENZIMAS SÉRICAS:

## ■ Análisis de sangre:

Rp/

- CPK
- GOAT
- LDH



## ENZIMAS SÉRICAS:

- Las *isoenzimas* son proteínas que catalizan la misma reacción química pero tienen diferentes propiedades físicas por variaciones en la secuencia de aminoácidos, determinadas por los genes.
- Ej: *Creatinfosfoquinasa; Transaminasas;*
  - *Lactato deshidrogenasa (LDH).*



## ENZIMAS SÉRICAS:

- En condiciones normales, las *enzimas* pueden encontrarse en el *plasma* porque se secretan específicamente para cumplir una función en la sangre o porque se liberan a partir de células dañadas o muertas...



## ENZIMAS SÉRICAS:

- En los *daños celulares mínimos*, pasan a la sangre, primero las enzimas citoplasmáticas (ubicadas cerca de la membrana, y en caso de *daño extenso o más intenso*, las enzimas localizadas en las membranas de las organelas (mitocondrias);



## ENZIMAS SÉRICAS:

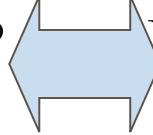
- Hay factores que alteran la *permeabilidad selectiva de las membranas*:
  1. Anoxia;
  2. Baja concentración de glucosa en el medio;
  3. Alta concentración de potasio en el medio;
  4. Agentes físicos, tóxicos e infecciosos.

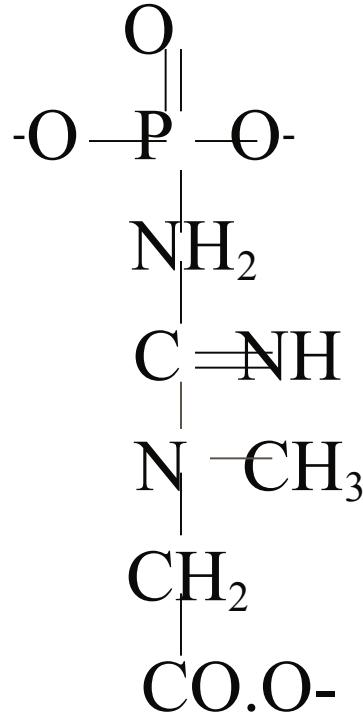
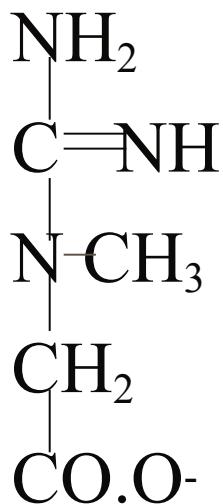


## ENZIMAS SÉRICAS:

- En casos de *lesión*, la célula se desprende, en primer lugar, de los sistemas enzimáticos que no le son imprescindibles, mientras que mantiene aquellos esenciales para su supervivencia (enzimas de la glucólisis)...

# ENZIMAS SÉRICAS: *CPK (Creatinfosfoquinasa)*

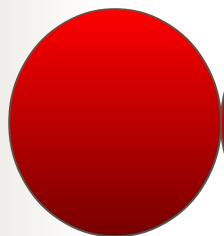
- CREATINA + ATP  FOSFOCREATINA + ADP



# ENZIMAS SÉRICAS:

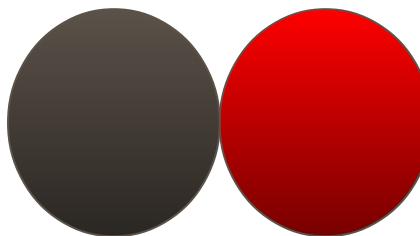
## *CPK*

### ■ CPK: *isoenzimas*



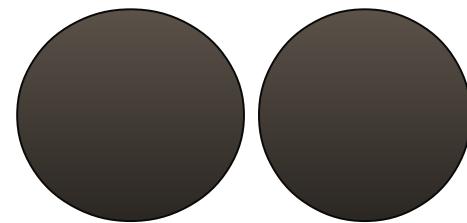
CPK MM

*Músculo esquelético*



CPK MB

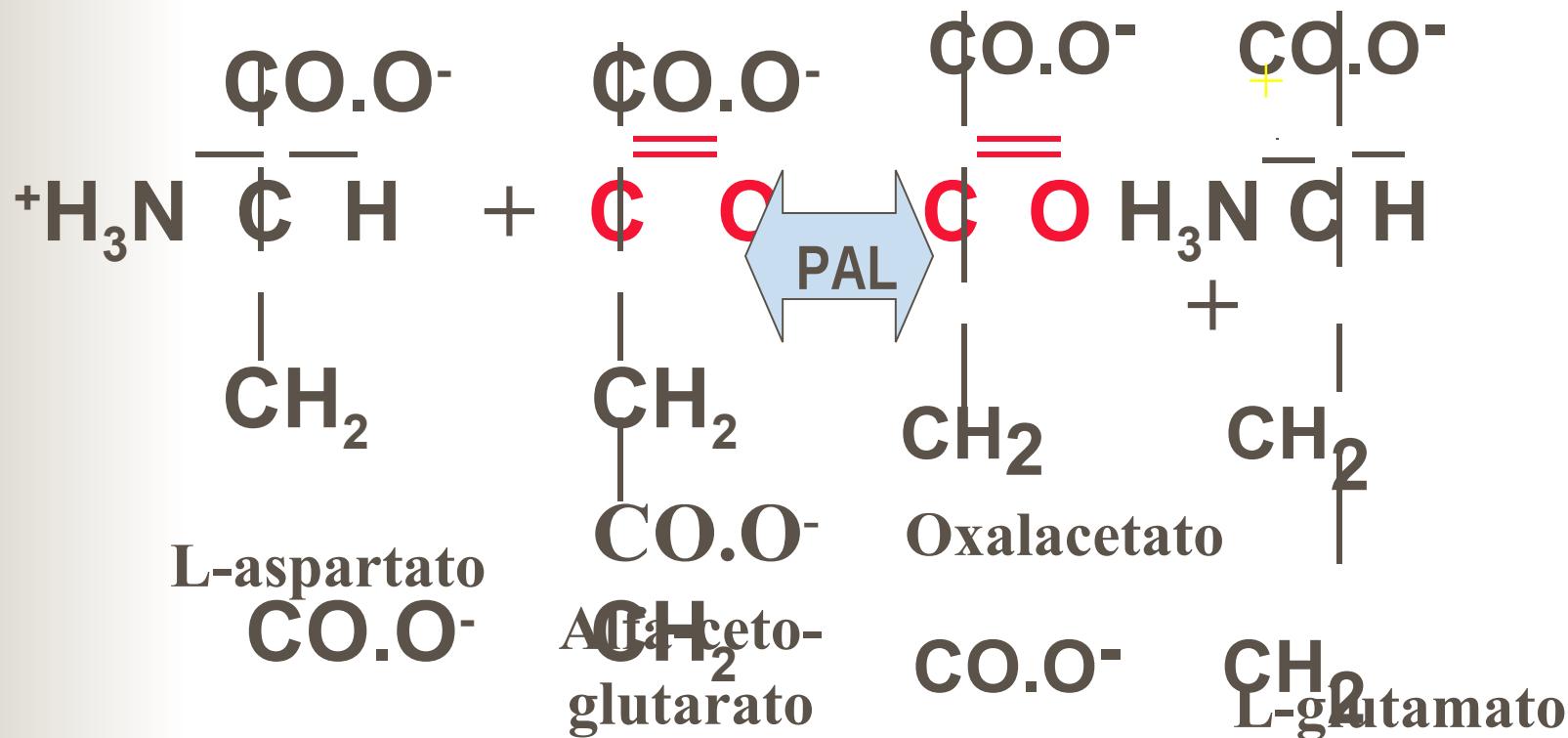
*Corazón*



CPK BB

*Cerebro*

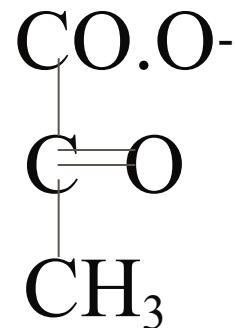
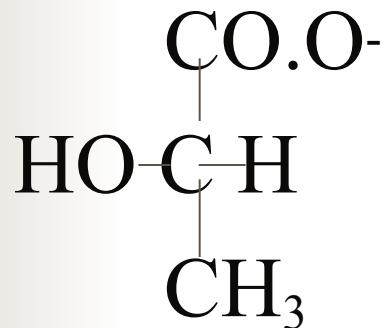
# ENZIMAS SÉRICAS: *Transaminasas*



**ASPARTATO AMINOTRANSFERASA  
(ASAT ó GOAT) (mitocondria y citosol)**

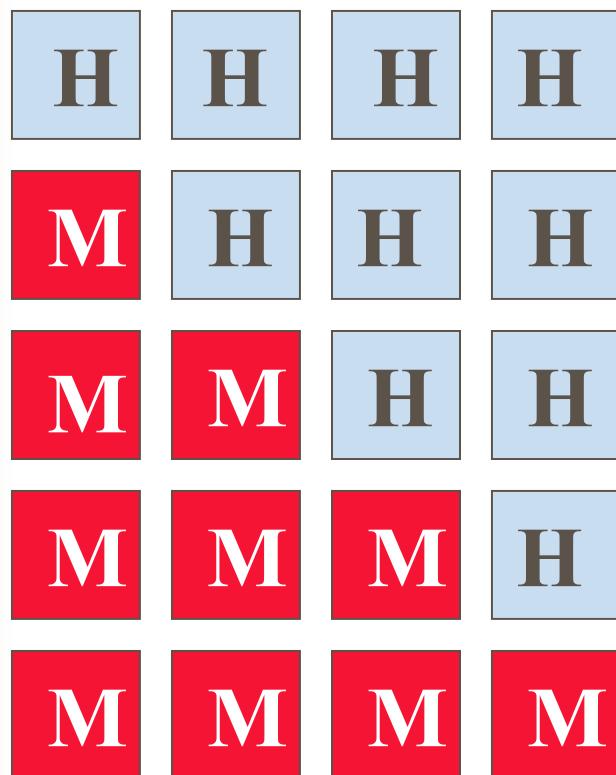
# ENZIMAS SÉRICAS:

## *LDH (lactato deshidrogenasa)*



# ENZIMAS SÉRICAS:

## *LDH (lactato deshidrogenasa)*



**LDH 1** **Corazón**

**LDH 2**

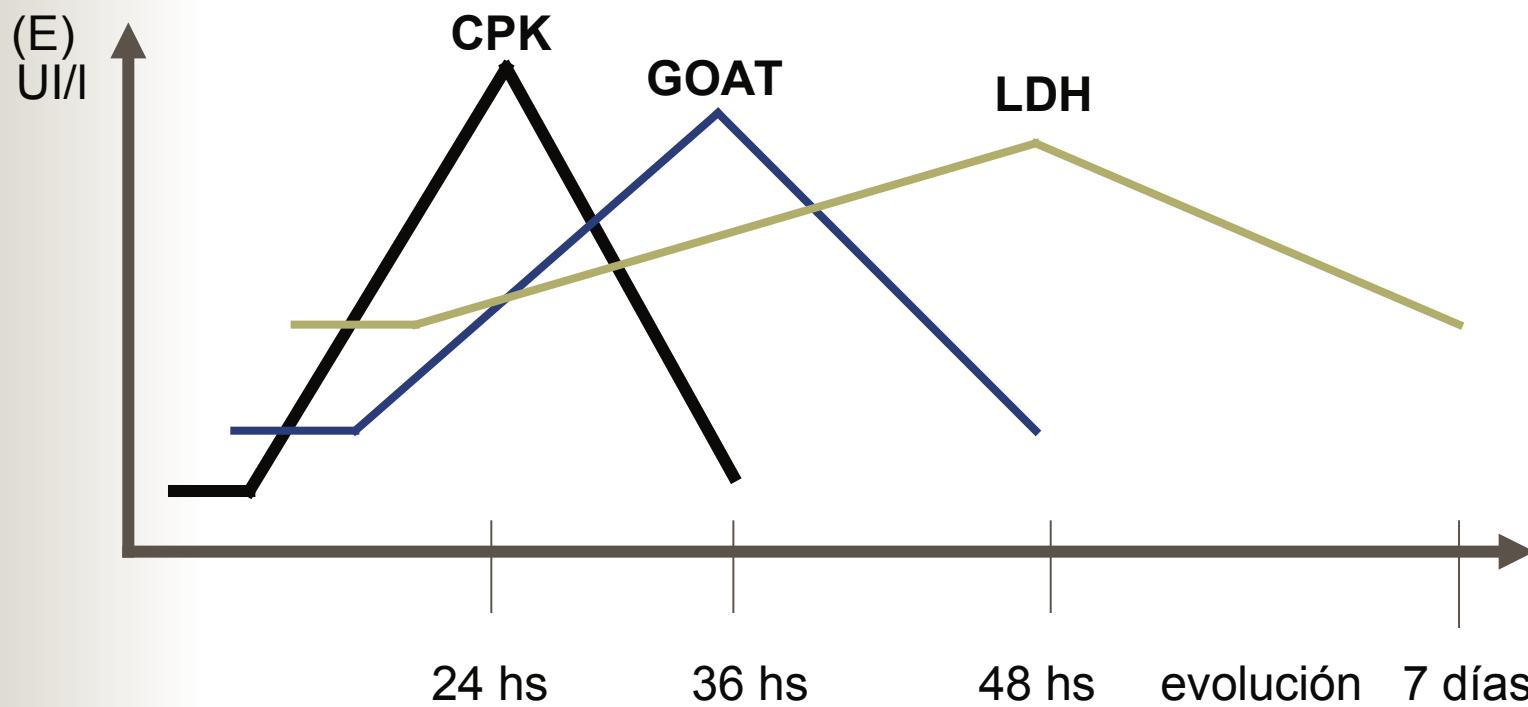
**LDH 3**

**LDH 4**

**LDH 5** **Músc.esq.**

## ENZIMAS SÉRICAS:

- Evolución enzimática típica de un infarto:



## ENZIMAS SÉRICAS:

- En los pacientes con *infarto*, los niveles de CPK-MB se incrementan dentro de 3 a 12 horas de la aparición del dolor de pecho, alcanzan un pico a las 24 horas y retornan a los valores basales dentro de las 48-72 hs.

## ENZIMAS SÉRICAS:

- La determinación de troponina-I y troponina-T en sangre posee más valor que la de CPK-MB, ya que aumenta a las 3 a 12 hs; alcanza un pico 24-48 hs y retorna a valores basales a los 5 a 14 días...

## ENZIMAS SÉRICAS:

### ■ Conclusiones:

- En los pacientes en quienes se sospecha infarto de miocardio, debe solicitarse CPK y su isoenzima MB al ingreso al hospital, a las 8 a 12 horas y a las 16-24 hs del mismo; acompañados de niveles de troponina al ingreso y a las 12 horas.



## ENZIMAS SÉRICAS:

### *Caso clínico Nº 2*

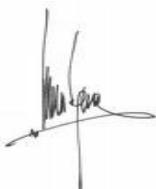
- Carlos tiene 17 años, no concurrió al colegio por presentar *orinas oscuras* (color caoba) acompañadas de intensa fatiga, decaimiento y pérdida de apetito.
- En el examen físico presentaba la piel y las mucosas de color amarillento (ictericia) por lo que consultó a un médico.
- *Este le solicitó urgentes análisis de laboratorio.*

# ENZIMAS SÉRICAS:

## ■ Análisis de sangre:

Rp/

- Hepatograma:
- Bilirrubina total y directa*
- ASAT
- ALAT
- Fosfatasa alcalina*

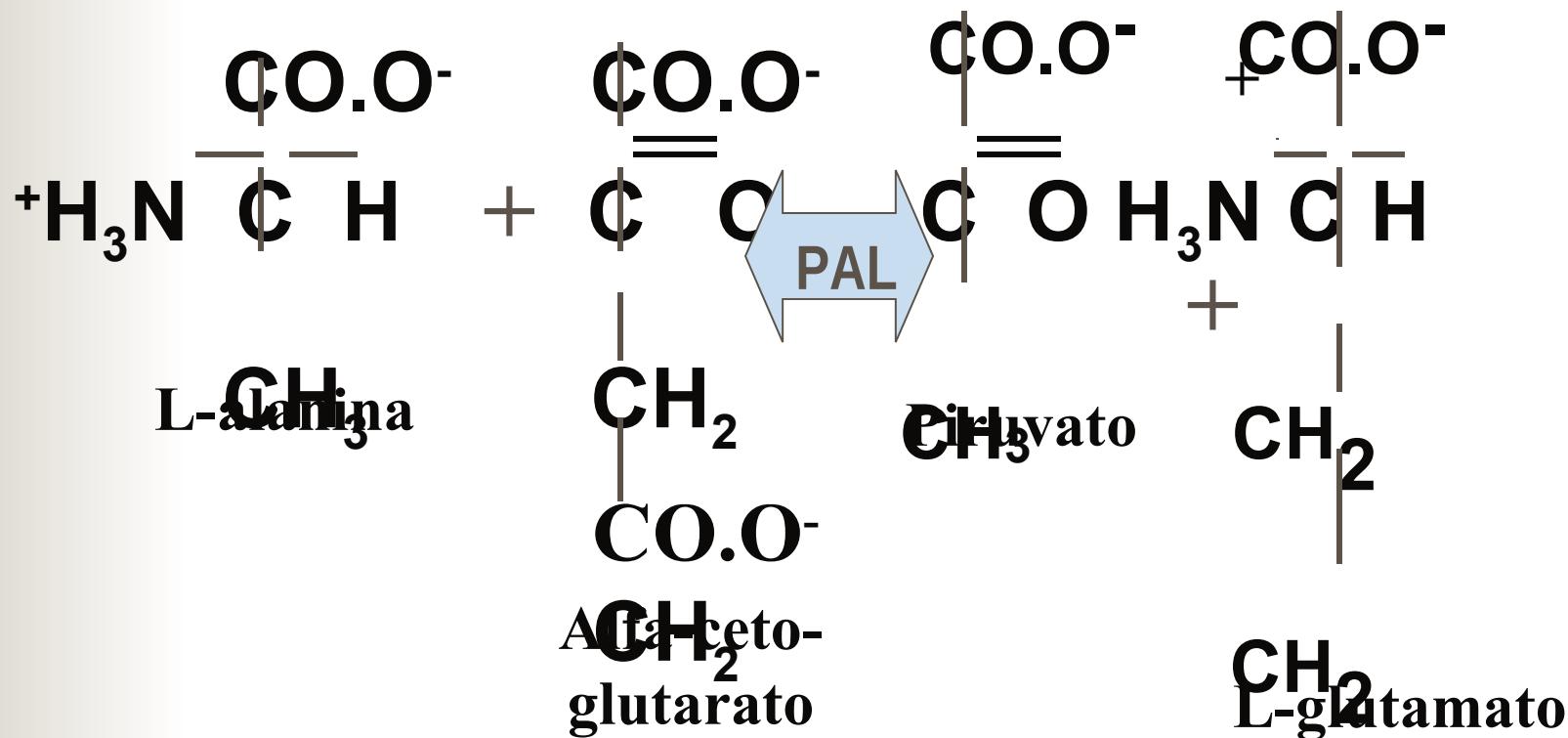


## ENZIMAS SÉRICAS:

- Las ***transaminasas*** son enzimas que se localizan preferentemente en el hígado y las más importantes son: la ALAT (alanina aminotransferasa o GPT) y la ASAT (aspartato-aminotransferasa);
- La ***ALAT*** se encuentra sólo en citoplasma, en tanto, la ***ASAT*** está presente tanto en citoplasma como mitocondria (bilocular).

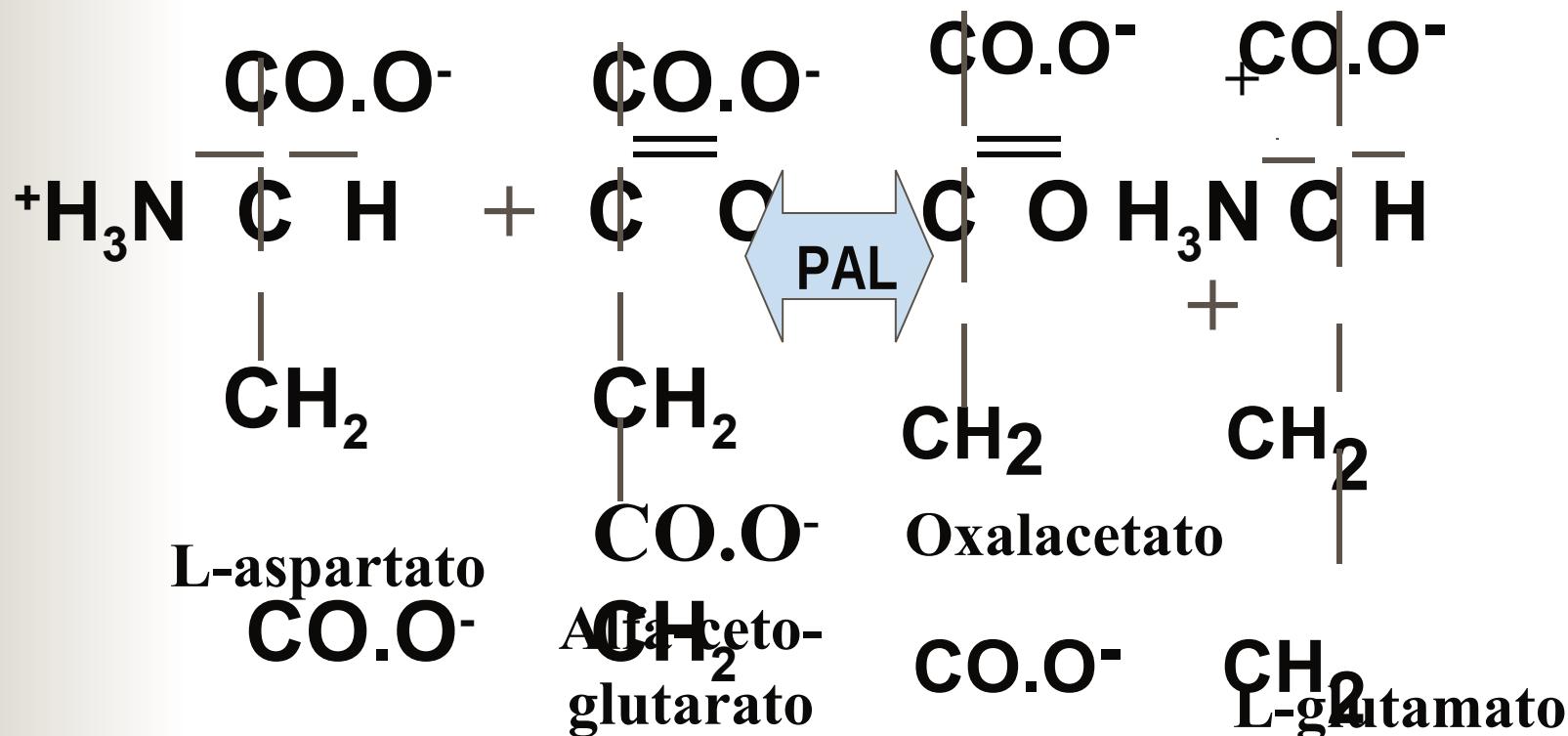
# ENZIMAS SÉRICAS:

## *ALAT (GPT)*



# **ALANINA AMINOTRANSFERASA (GPT) (ALAT) (citosol)**

# ENZIMAS SÉRICAS: *ASAT (GOAT)*



**ASPARTATO AMINOTRANSFERASA  
(ASAT ó GOAT) (mitocondria y citosol)**

## ENZIMAS SÉRICAS:

- El aumento de las transaminasas en sangre más de 10 veces por encima de sus valores de referencia confirma el diagnóstico de ***hepatitis aguda***;
- Su elevación sérica es indicadora de ***hepatonecrosis***.

## ENZIMAS SÉRICAS:

- La *fosfatasa alcalina* es una enzima de origen hepatobiliar, óseo, intestinal, leucocitario y renal;
- Si bien la actividad de la fosfatasa alcalina está naturalmente aumentada en los niños debido a la osteogénesis, suele aumentar en *obstrucciones de la vía biliar*.

## ENZIMAS SÉRICAS:

- En caso de tratarse de un niño con ictericia, pueden utilizarse otras enzimas para diferenciar el crecimiento de una obstrucción de la vía biliar, como la: ***5`nucleotidasa*** ó la ***Gamma-Glutamil-Transpeptidasa (GGT)***.

## ENZIMAS SÉRICAS:

- También, pueden ser de utilidad cocientes diagnósticos para diferenciar una *hepatitis aguda* de una *hepatitis crónica* (más de 6 meses de evolución):
  - *ASAT/ALAT*: Valor normal: 1,3
    - *Hepatitis aguda*: menos de 1;
    - *Hepatitis crónica*: más de 1.



■ **MUCHAS GRACIAS!!!!**