



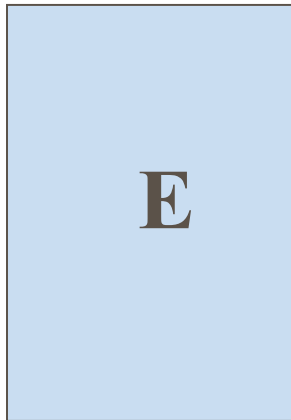
ENZIMAS

Prof. Dr. Marcelo  Lucentini

ENZIMAS

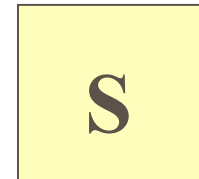
ENZIMAS:

■ *¿Qué son las enzimas?:*



Las **enzimas** son:

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



- *Susceptibles de ser reguladas...*

DIFERENCIAS ENTRE ENZIMAS Y CATALIZADORES:

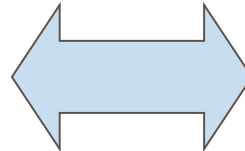
ENZIMAS: CATALIZADORES:

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

ANALOGÍAS ENTRE ENZIMAS Y CATALIZADORES:



- **Aceleran la velocidad de la reacción química por ellos catalizada...**



- **No modifican la constante de equilibrio (K_{eq}) de la reacción catalizada...**

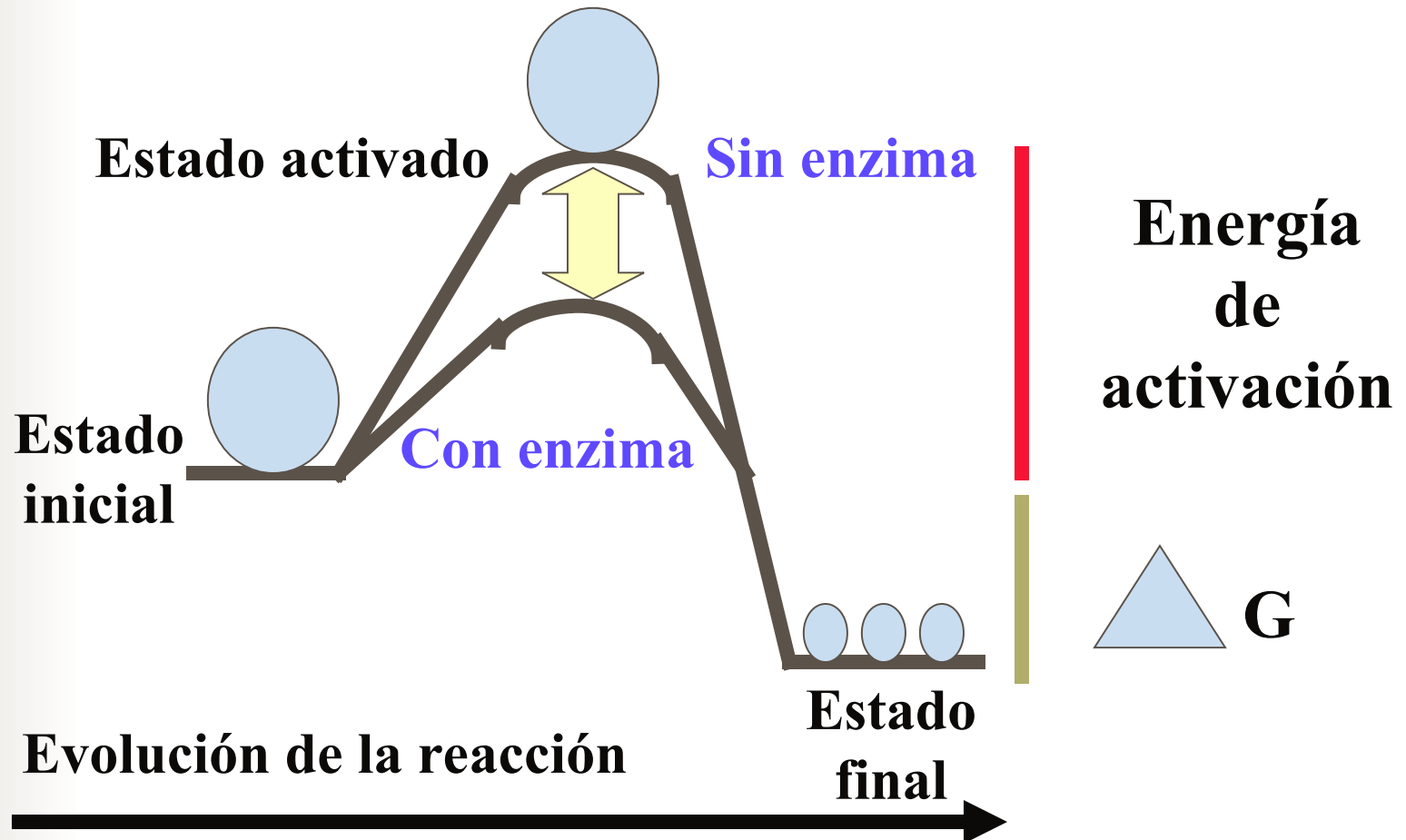


ENZIMAS:

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*...

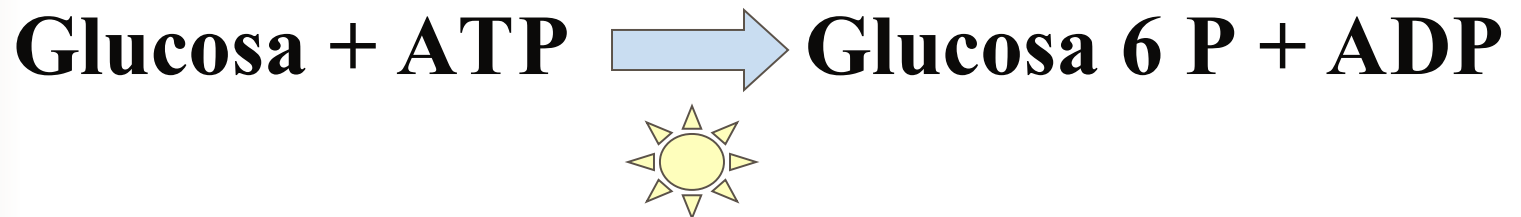
CATÁLISIS ENZIMÁTICA:



ESPECIFICIDAD ENZIMÁTICA:

- La *especificidad enzimática* puede ser:

- A) De *sustrato* (Ej. Glucoquinasa):

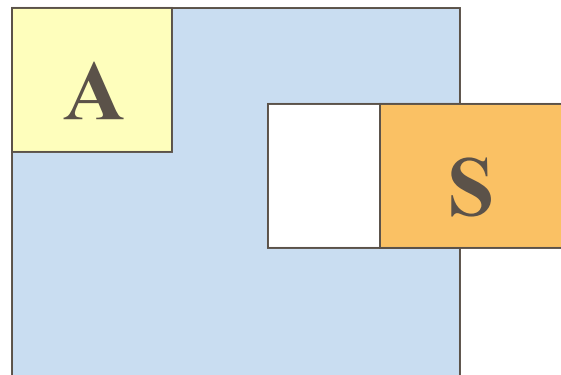


- B) De *reacción* (Ej. Fosfatasas):

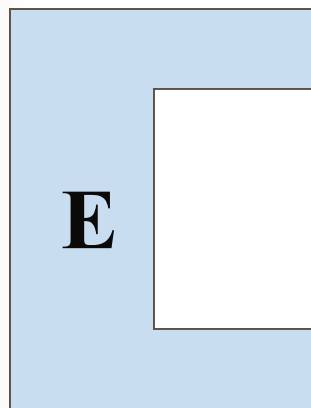


ENZIMAS ALOSTÉRICAS:

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

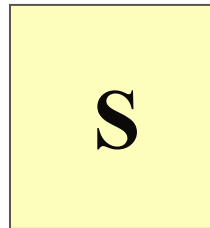


MECANISMO DE ACCIÓN ENZIMÁTICA:

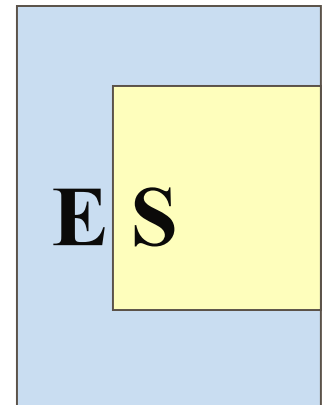


ENZIMA

+

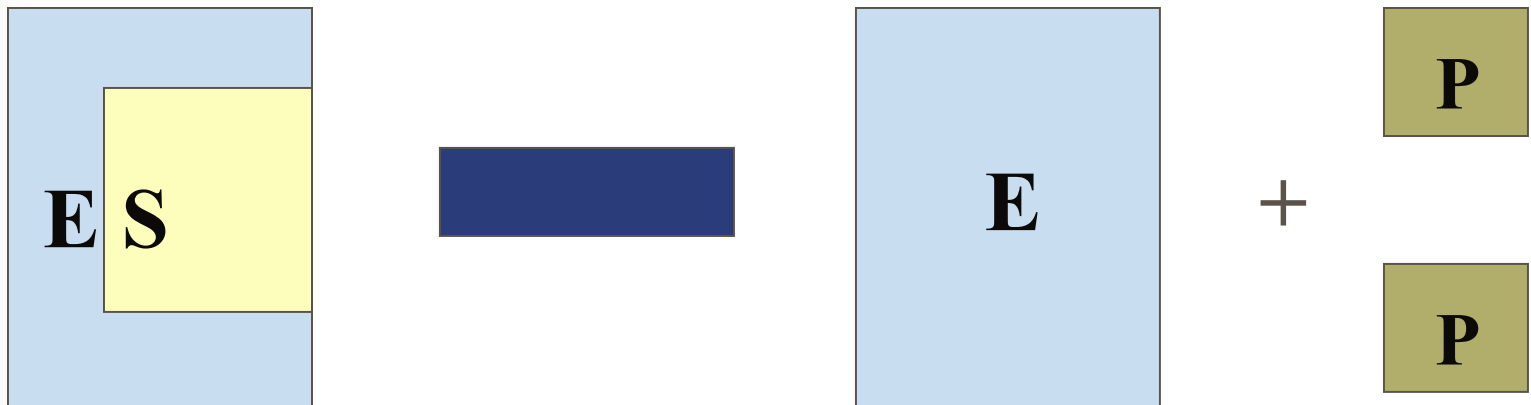


SUSTRATO



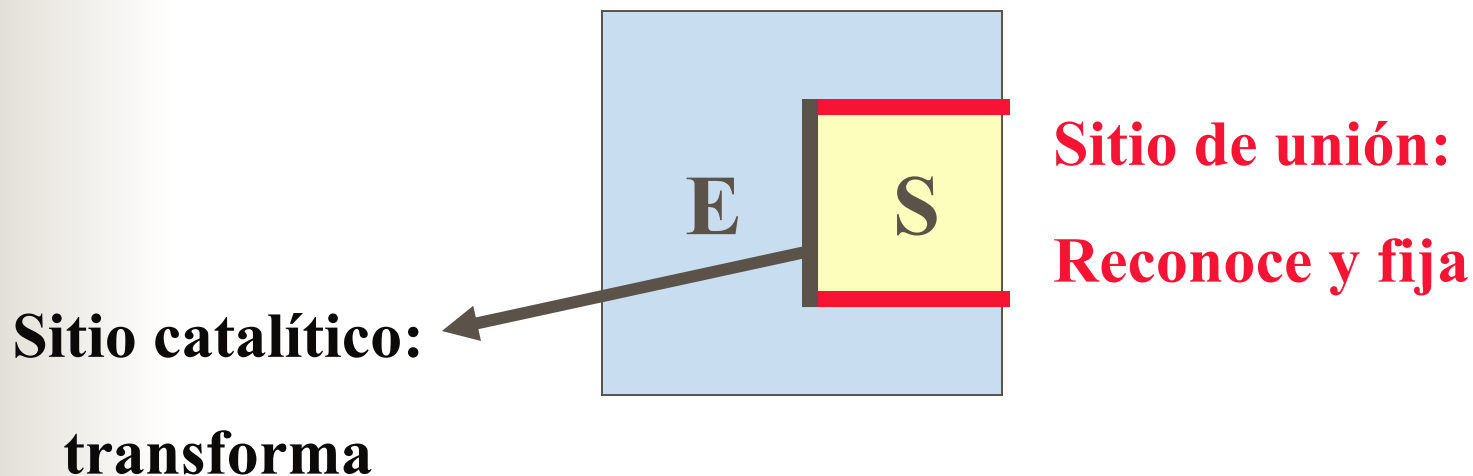
**COMPLEJO
ENZIMA-
SUSTRATO**

MECANISMO DE ACCIÓN ENZIMÁTICA:

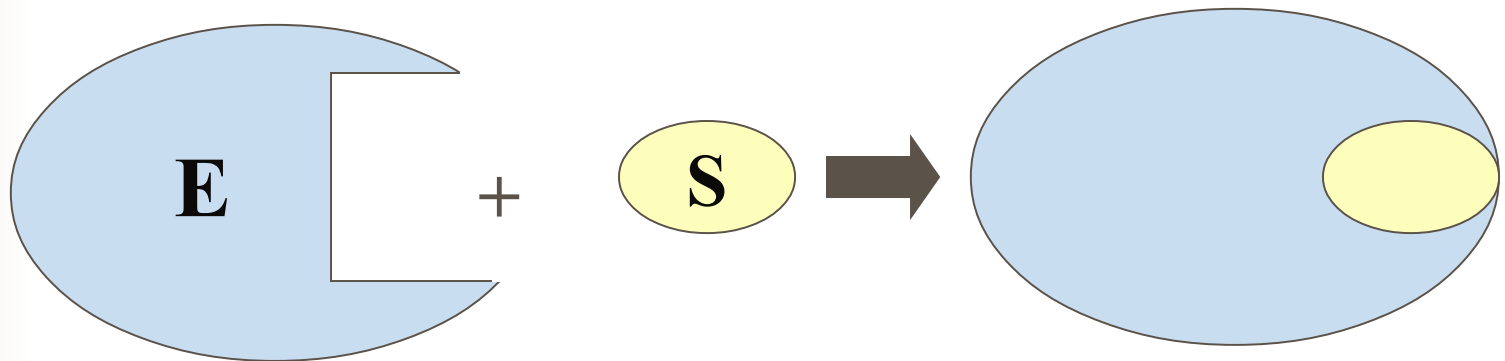


LUGAR DE SUSTRATO:

- 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...**



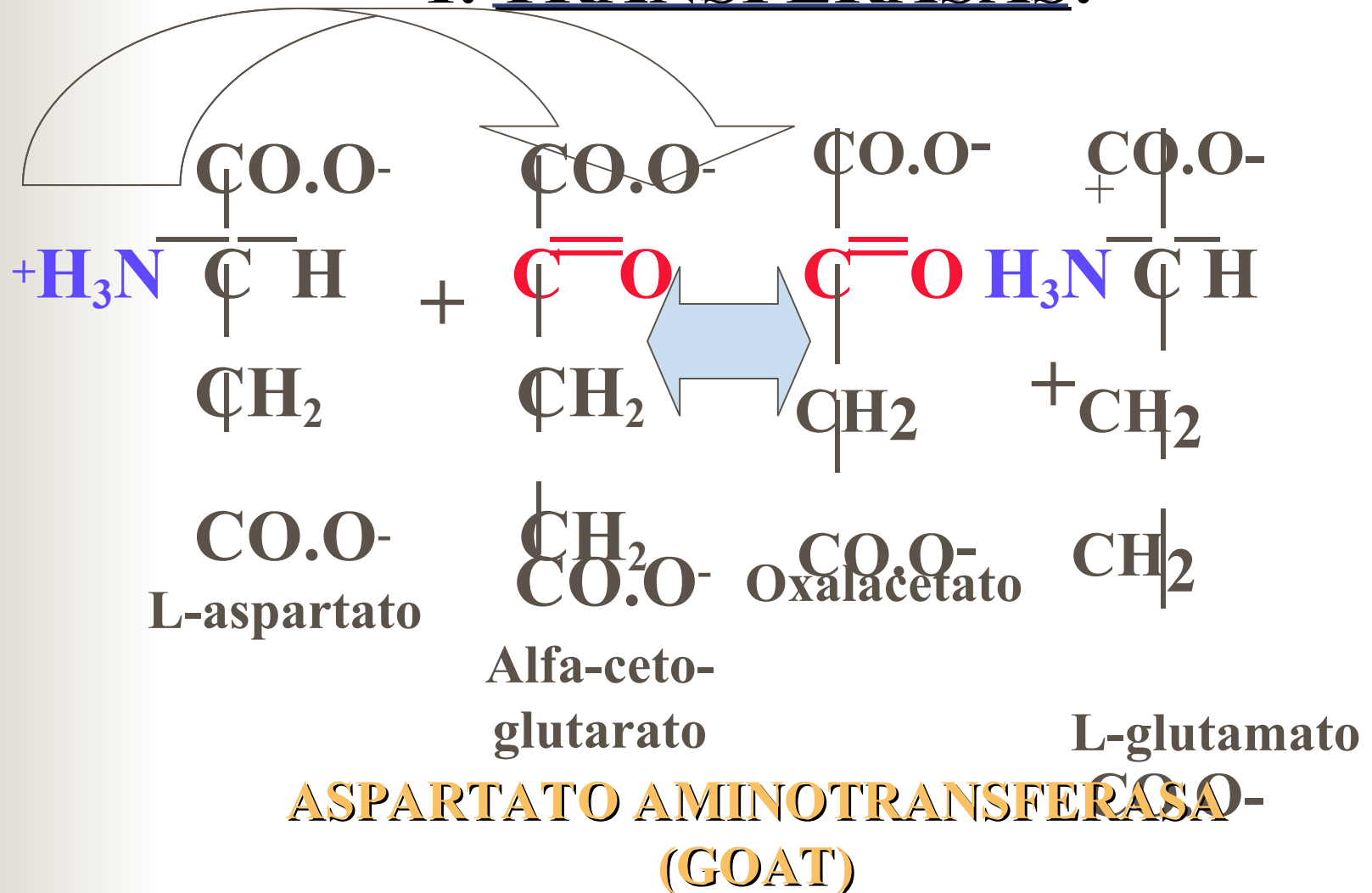
TRANSFERASAS:

- Catalizan la transferencia de un grupo de átomos de un sustrato a otro.

Ejemplos:

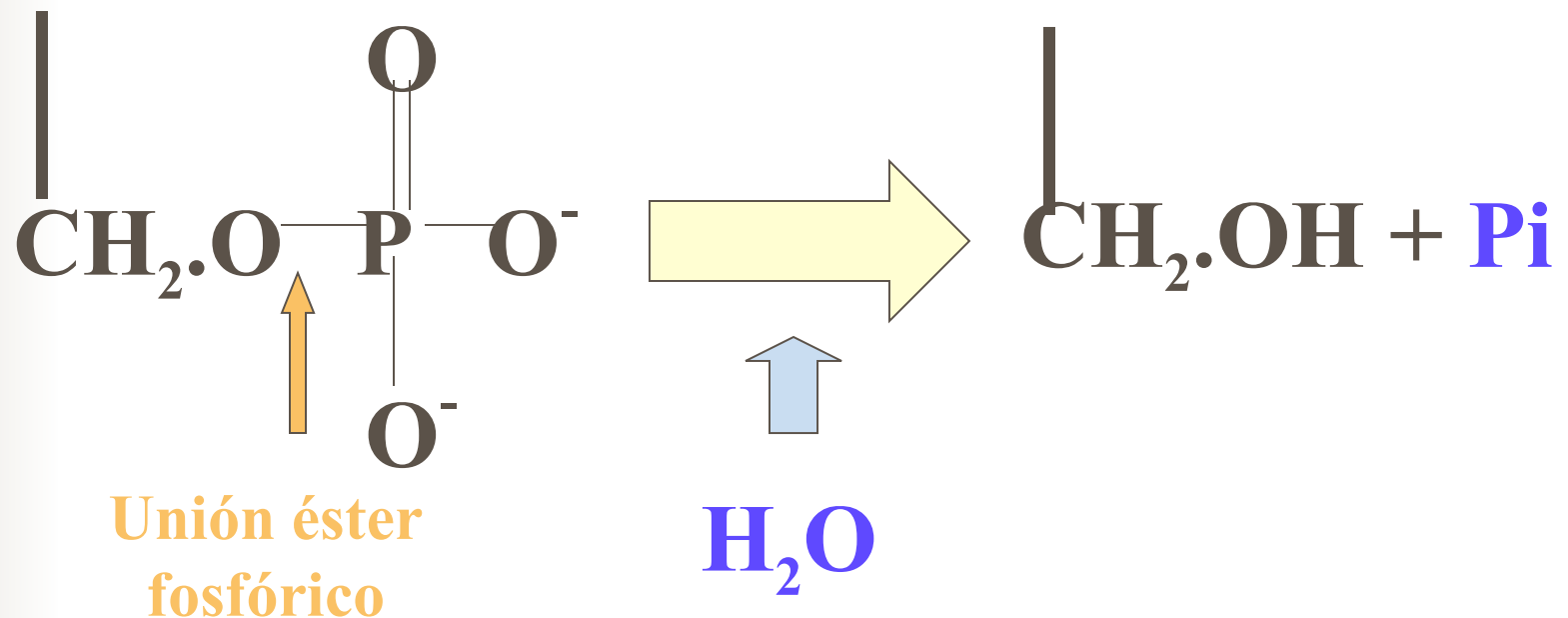
- Las ***AMINOTRANSFERASAS:***
(ó transaminasas)
 - transfieren grupos amino...
- Las ***QUINASAS:***
 - transfieren grupos fosfato...

1. TRANSFERASAS:



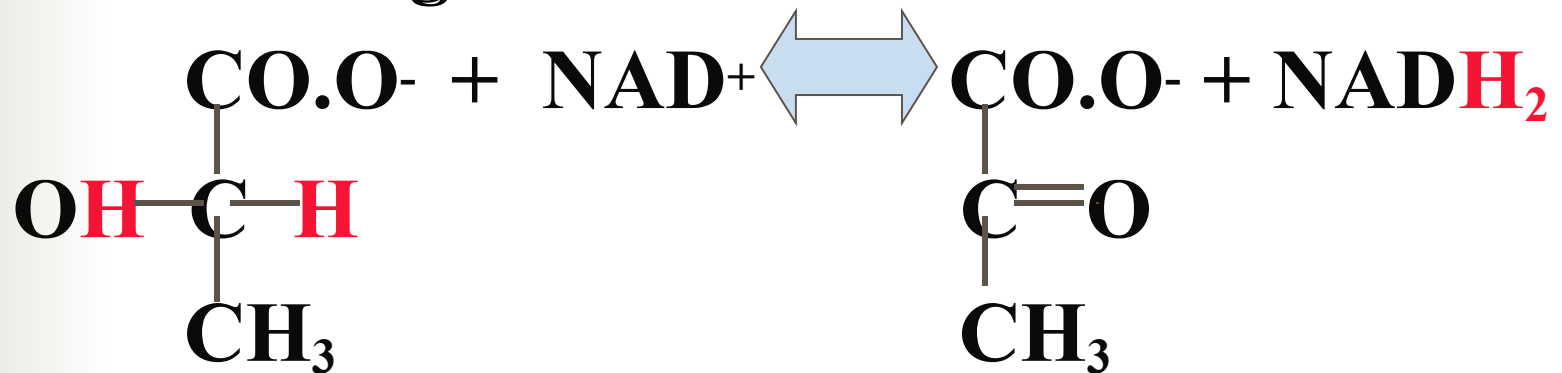
2. HIDROLASAS:

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



3. ÓXIDO-REDUCTASAS:

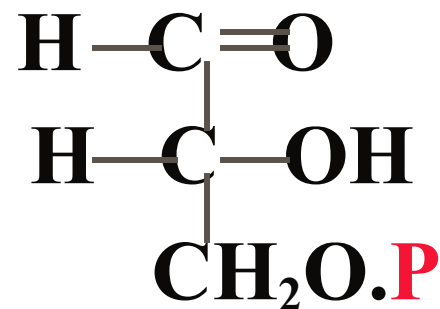
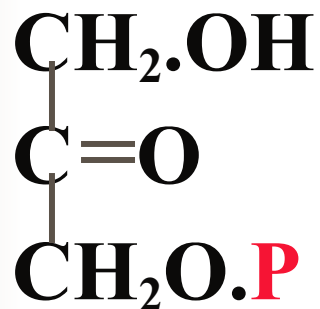
- Catalizan reacciones de transferencia de átomos de hidrógeno ó electrones. Ej: las *deshidrogenasas...*



LACTATO DESHIDROGENASA

4. ISOMERASAS:

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



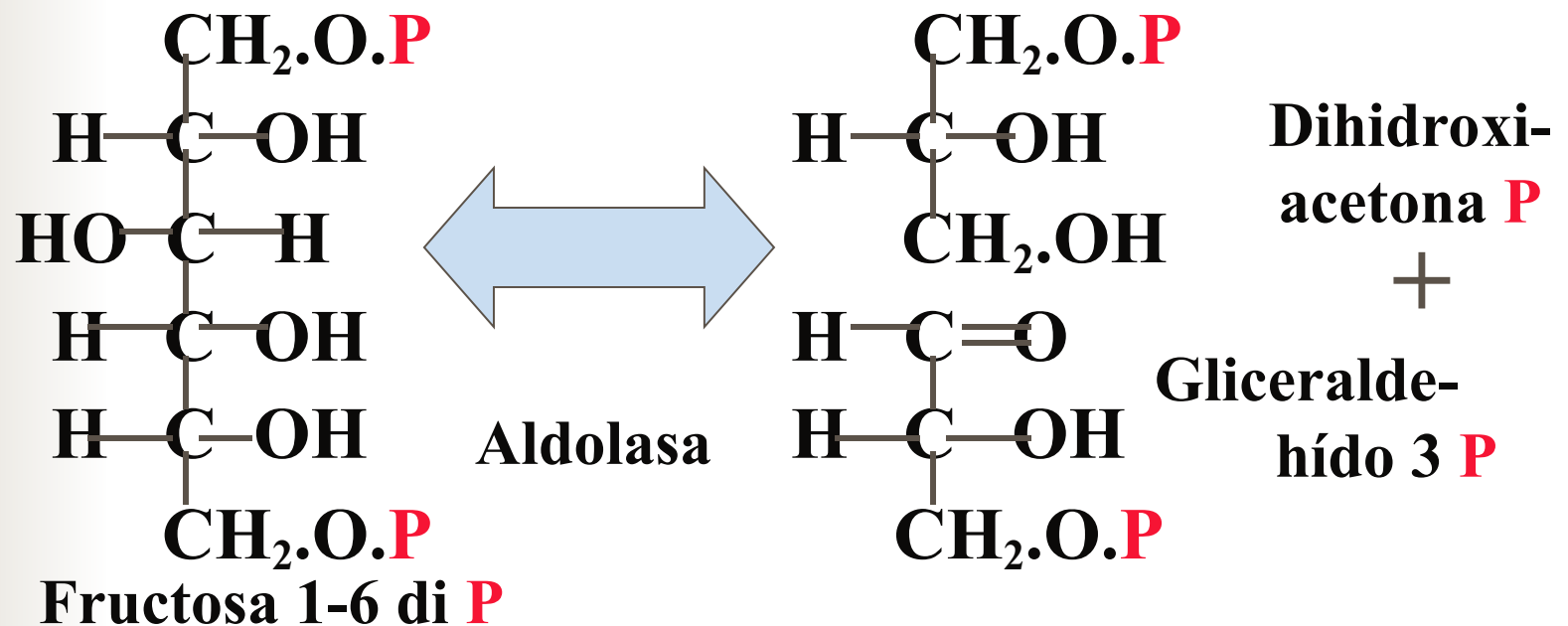
Dihidroxiacetona P

Gliceraldehído 3 P

C3	H5	O6	P
----	----	----	---

5. LIASAS:

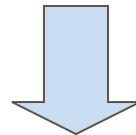
- Catalizan la ruptura de enlaces químicos, excluyendo enlaces peptídicos, por un proceso distinto al de la hidrólisis. Ej: la aldolasa...



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**





ACTIVIDAD ENZIMÁTICA:

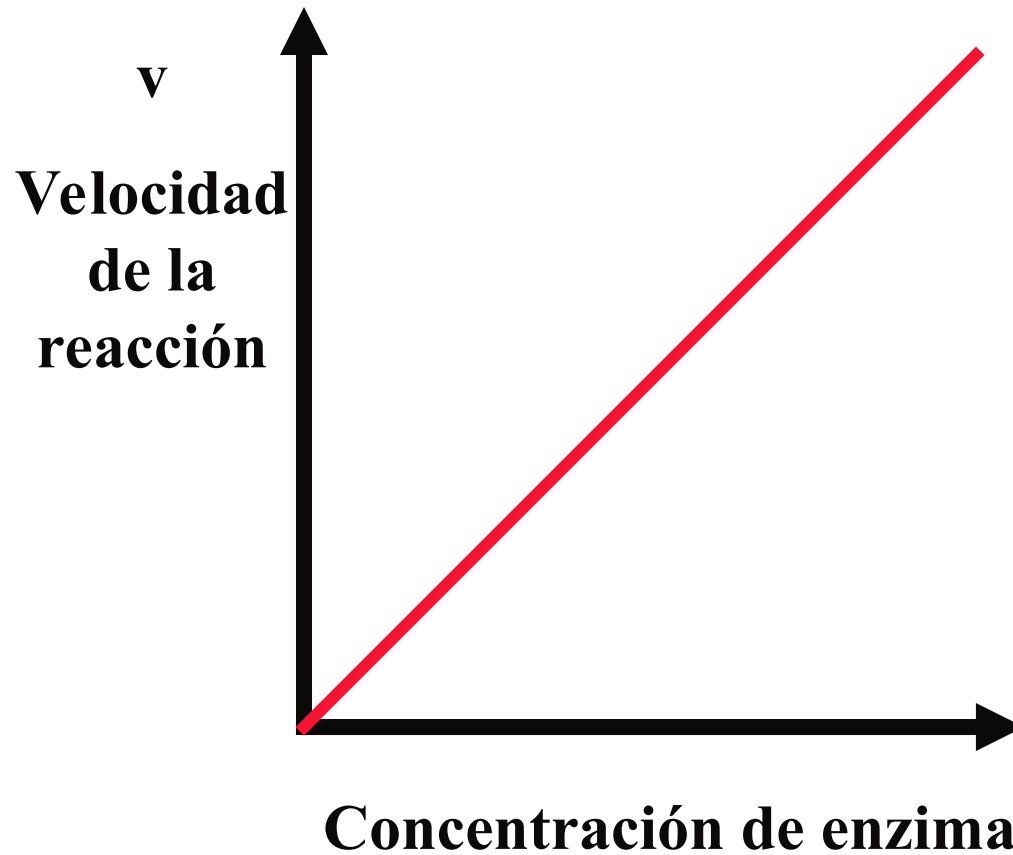
- Es la cantidad de sustrato transformado en la unidad de tiempo. La unidad de medida es la **Unidad Internacional**.
- Una **Unidad Internacional (UI)** es la cantidad de enzima capaz de transformar un *micromol* de sustrato en *un minuto...*

FACTORES QUE MODIFICAN LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA:

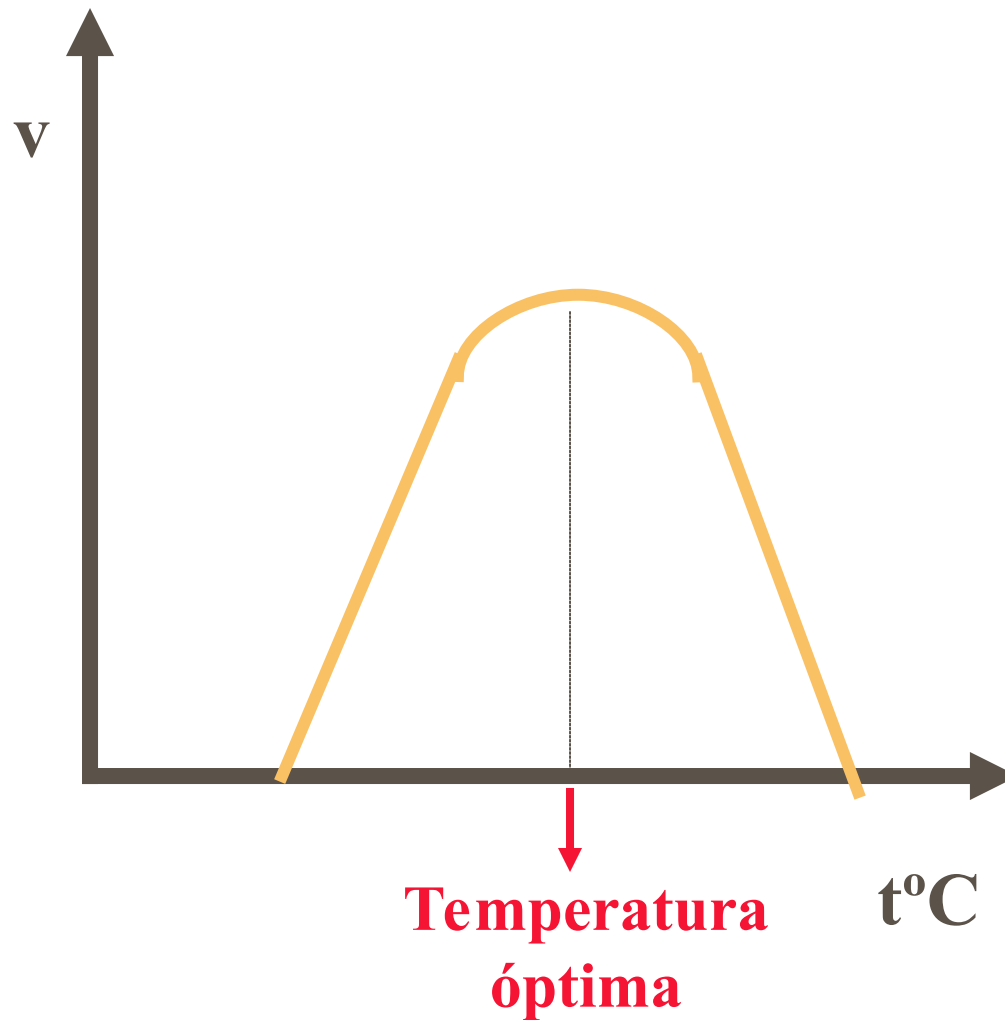
- **Concentración de enzima;**
 - **Temperatura;**
 - **pH;**
 - **Concentración de sustrato...**



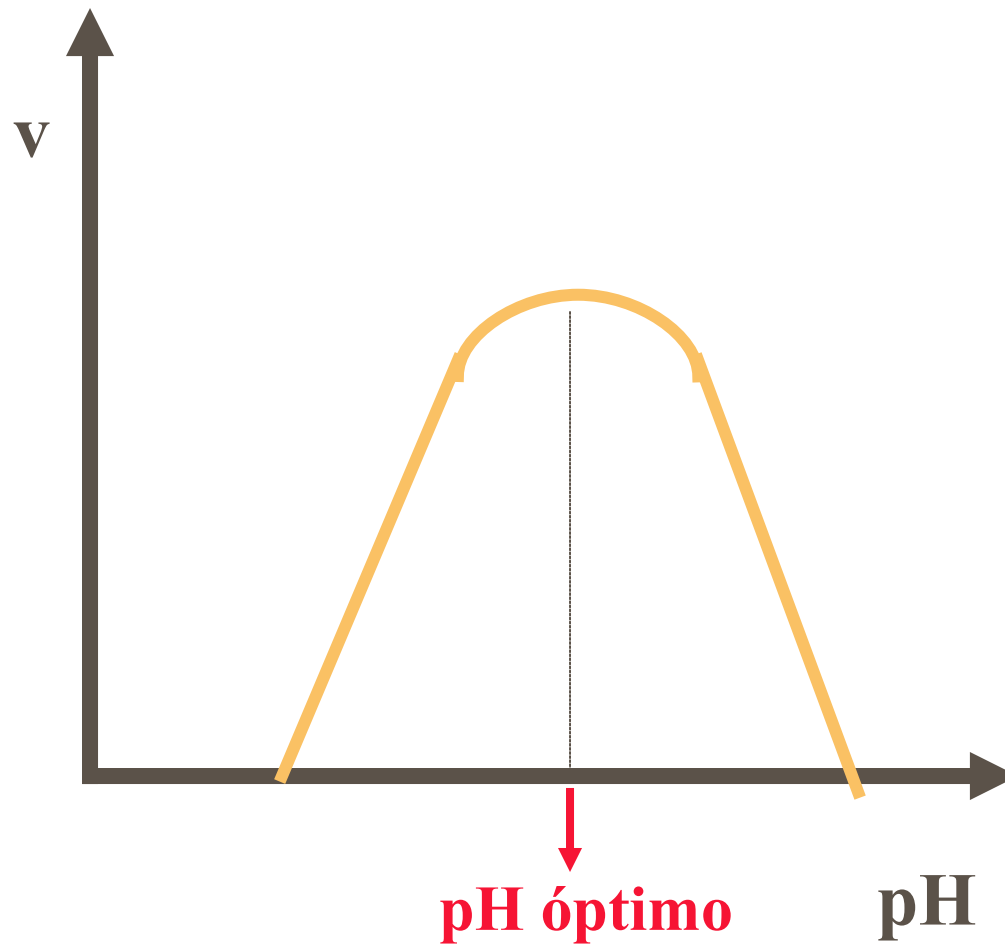
CONCENTRACIÓN DE ENZIMA:



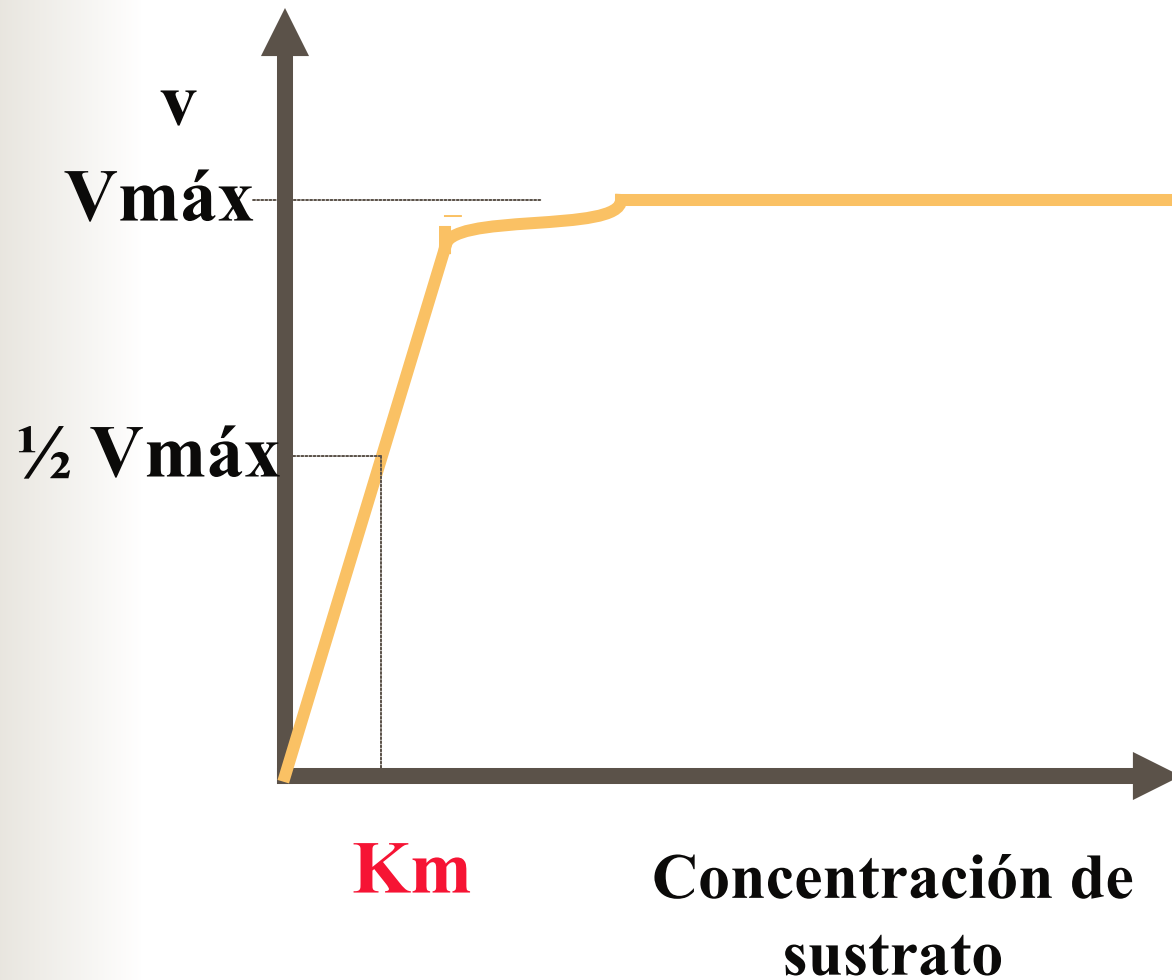
TEMPERATURA:



pH:



CONCENTRACIÓN DE SUSTRATO:





CONCLUSIONES:

- El *K_m* 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 K_m menor afinidad y viceversa...

ECUACIÓN DE MICHAELIS-MENTEN:

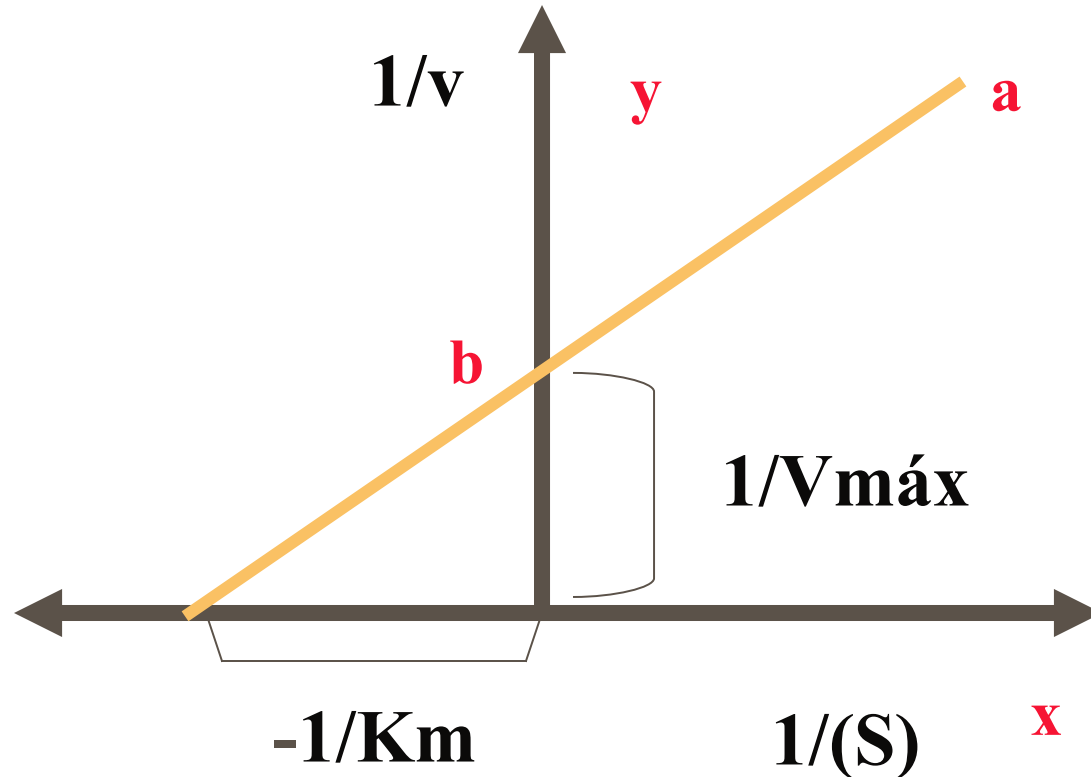
$$v = \frac{V_{\text{máx}} \cdot (S)}{K_m + (S)} \quad \longrightarrow \quad \frac{1}{v} = \frac{K_m + (S)}{V_{\text{máx}} \cdot (S)}$$

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

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

Ecuación de la recta

REPRESENTACIÓN DE LINEWEAVER-BURK:





COFACTORES ENZIMÁTICOS:

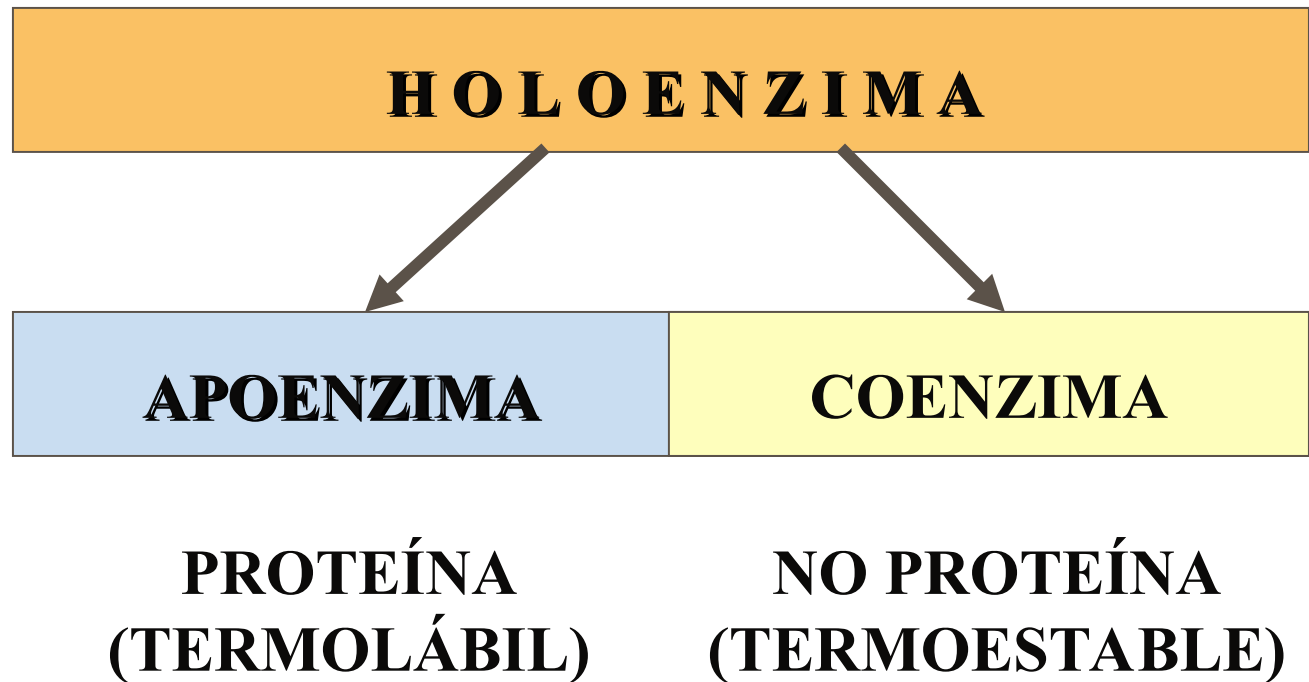
- Algunas enzimas sólo pueden realizar su función catalítica en asociación a otra molécula *no proteica* más pequeña denominada *cofactor enzimático*;
- Los *cofactores enzimáticos* son tres:
 - GRUPOS PROSTÉTICOS;
 - COENZIMAS;
 - ACTIVADORES METÁLICOS...



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:





COFACTORES ENZIMÁTICOS:

SU RELACIÓN CON VITAMINAS:

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



ACTIVADORES METÁLICOS:

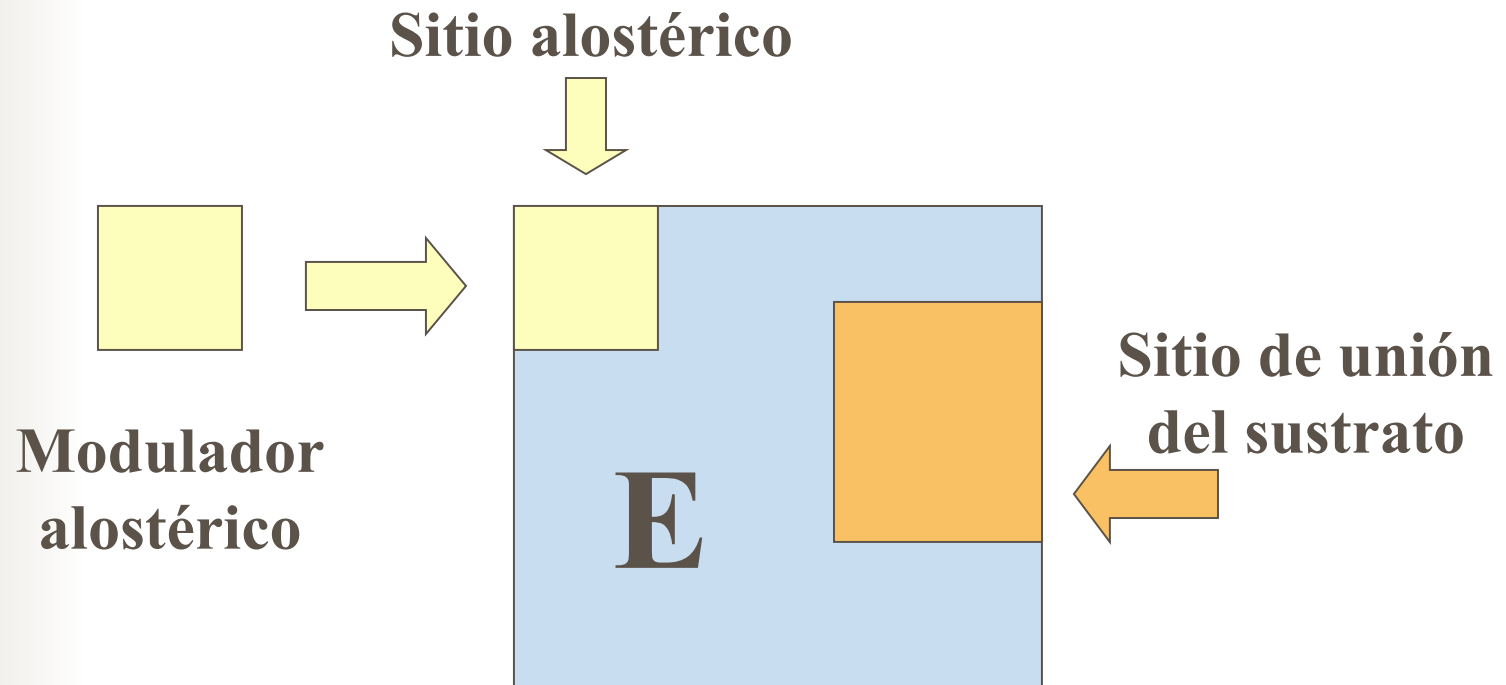
- **Fe:** catalasas, peroxidasas, citocromos;
- **Cu:** citocromo oxidasa, tirosinasa;
- **Zn:** alcohol deshidrogenasa; anhidrasa;
- **Mg:** quinasas;
- **Mn:** carboxilasas;
- **Se:** glutatión peroxidasas;
- **Mo:** xantino-oxidasa...



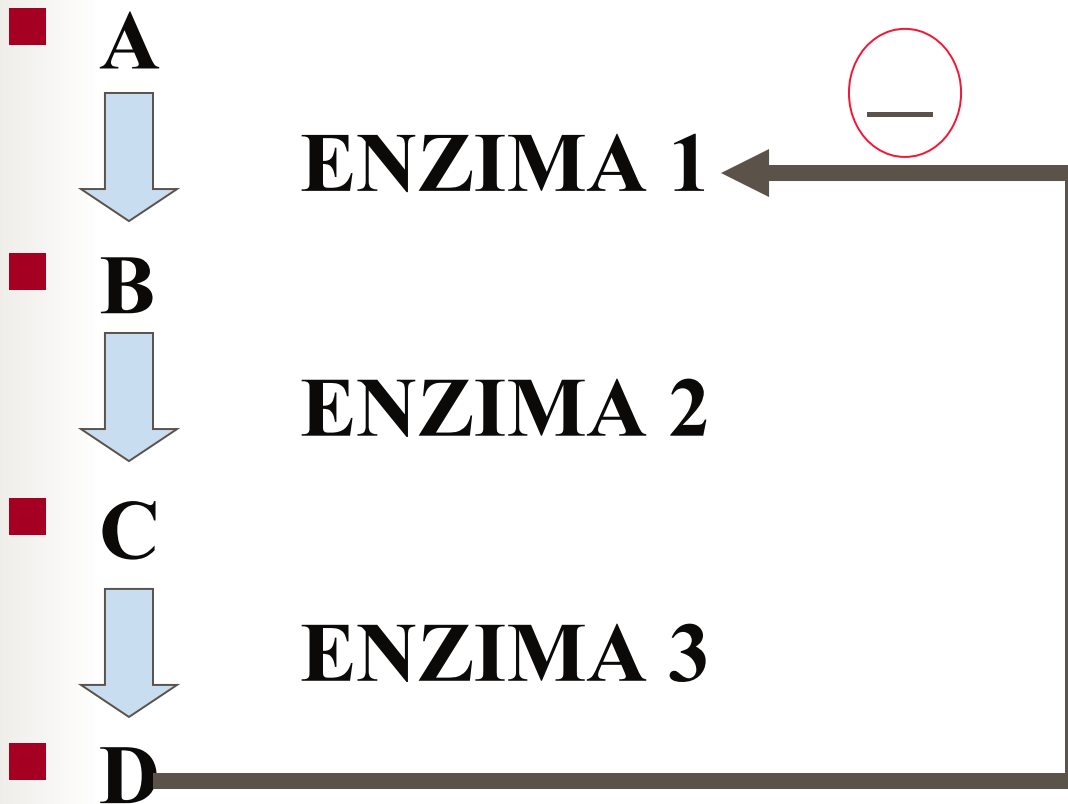
REGULACIÓN ENZIMÁTICA:

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

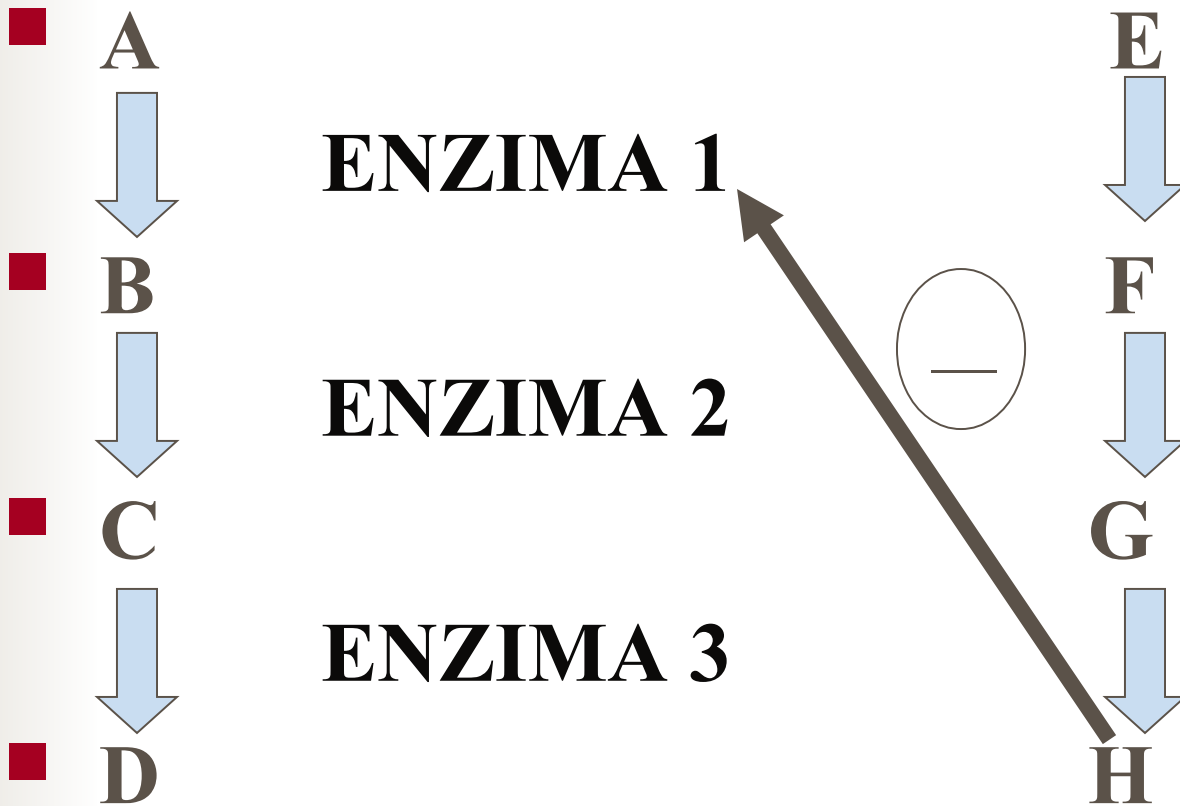
REGULACIÓN ALOSTÉRICA:



REGULACIÓN ALOSTÉRICA: *EFFECTO HOMOTRÓPICO:*



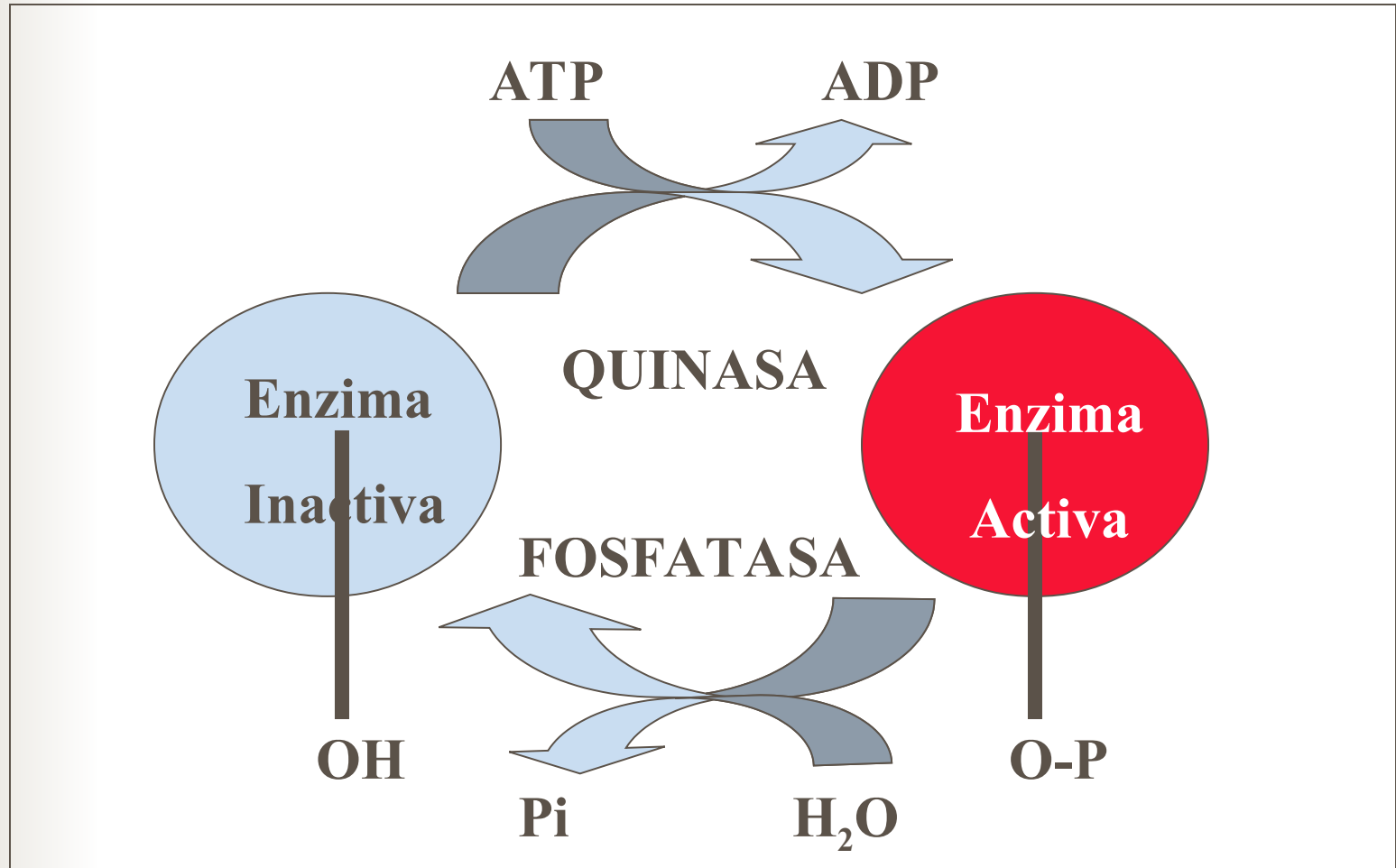
REGULACIÓN ALOSTÉRICA: *EFEECTO HETEROTRÓPICO:*



MODIFICACIÓN COVALENTE:

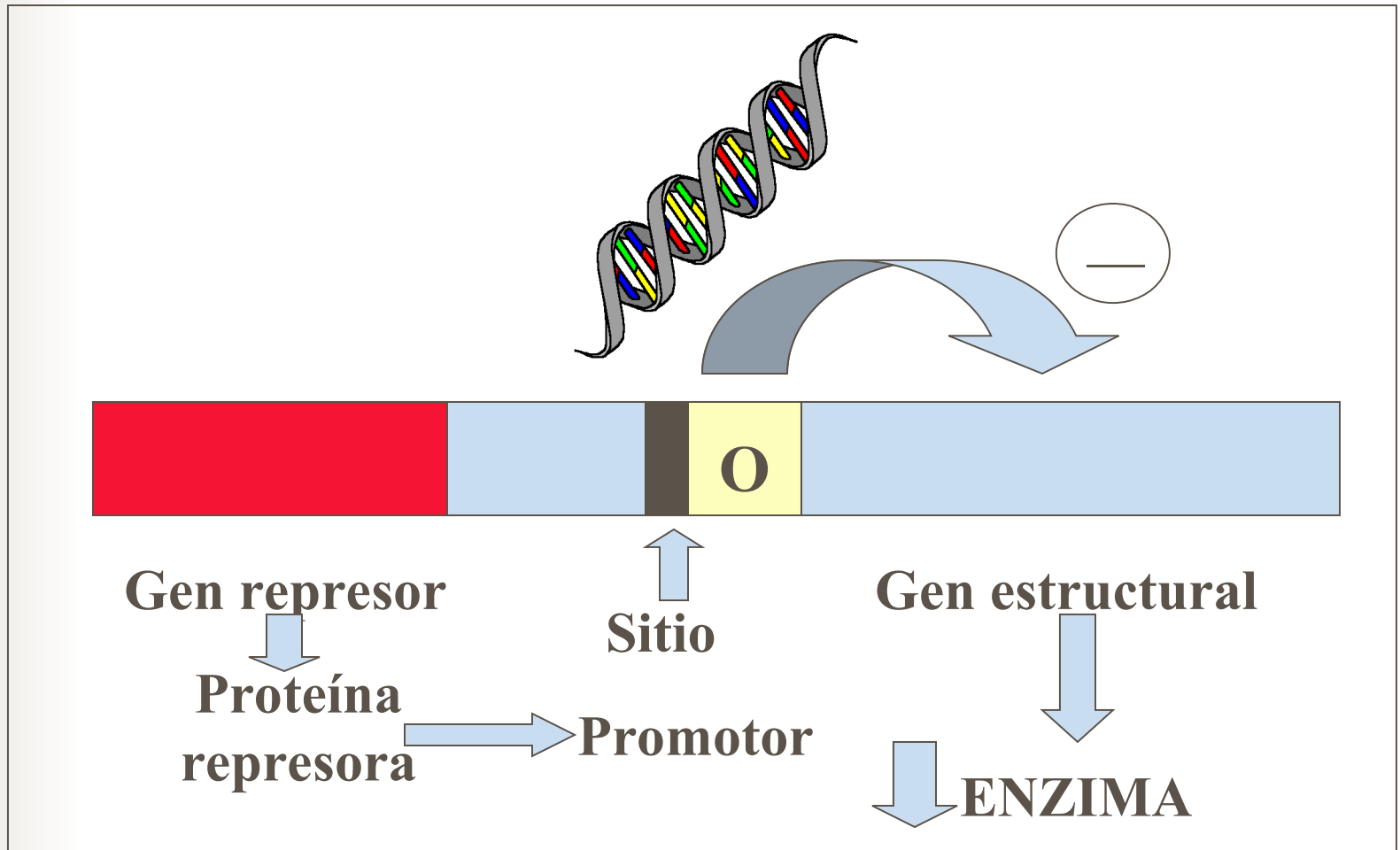


MODIFICACIÓN COVALENTE:



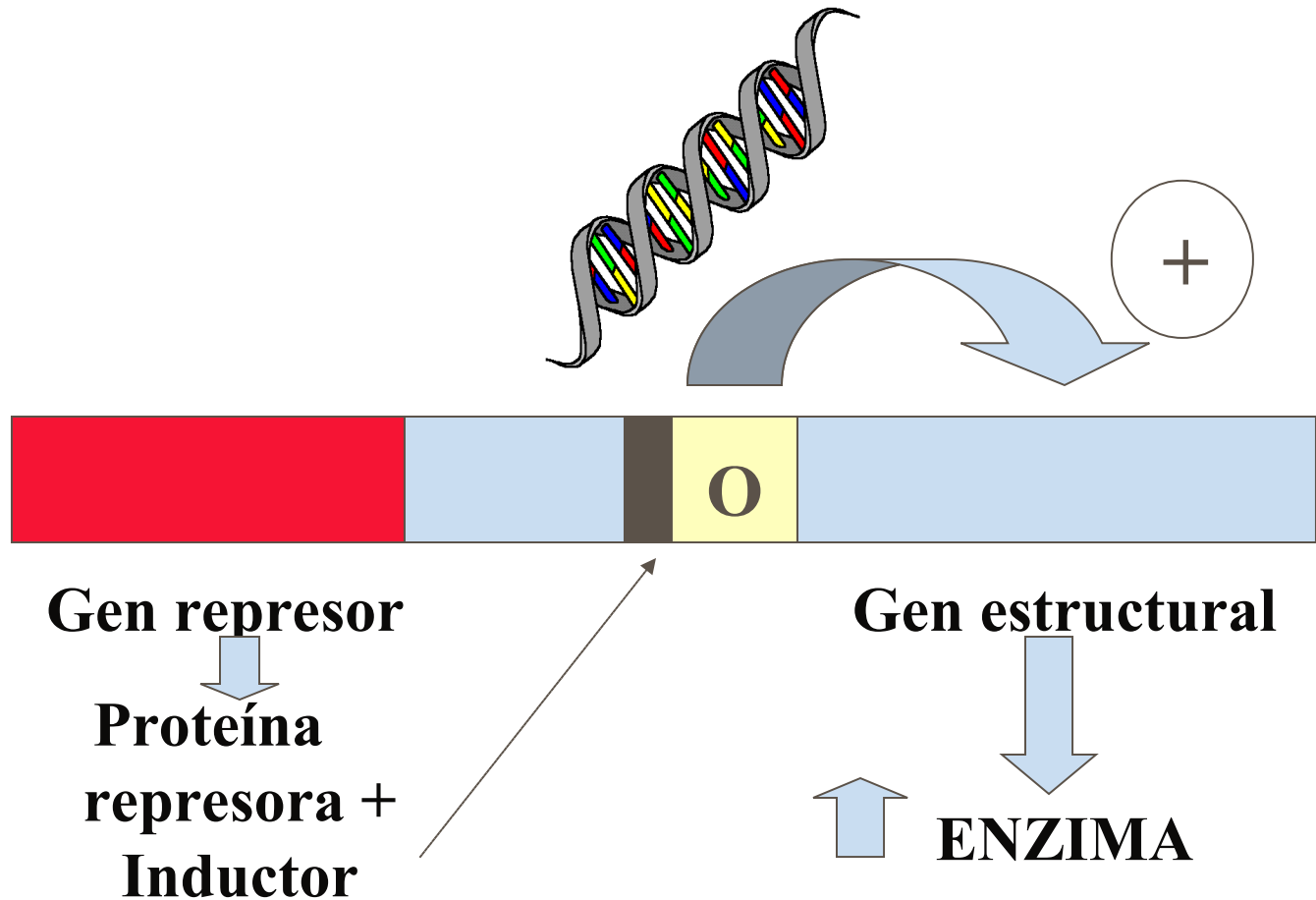
REGULACIÓN GENÉTICA:

Represión:



REGULACIÓN GENÉTICA:

Inducción:

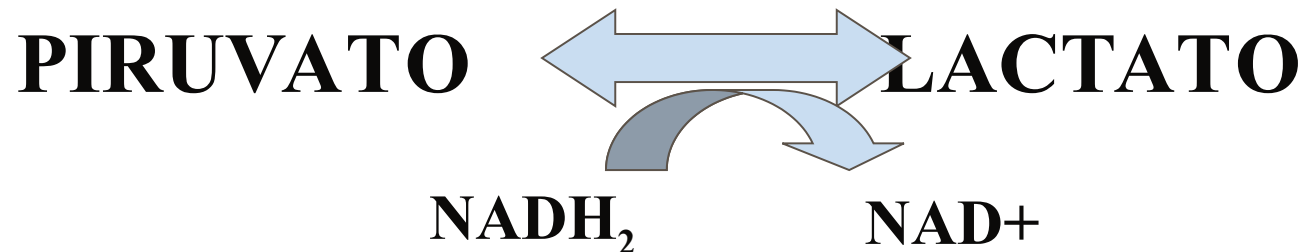


CONCLUSIONES:

- **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

Creatínfosfoquinasa:



CPK-MM:



Músculo esq.

CPK-MB:



CORAZON



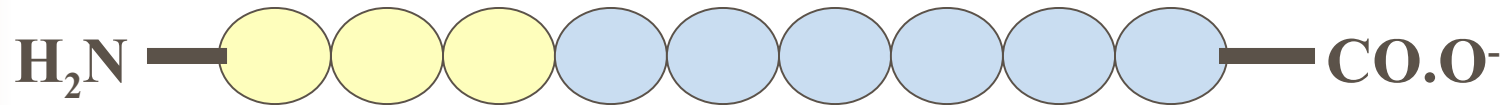
CPK-BB:



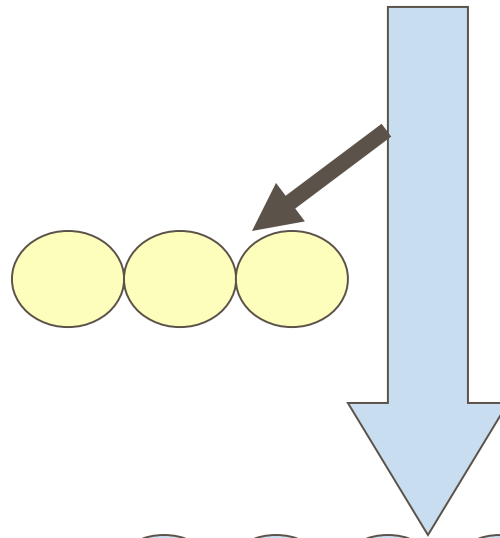
Cerebro

ZIMÓGENOS:

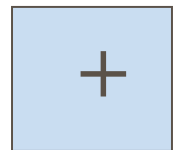
■ PEPSINÓGENO:



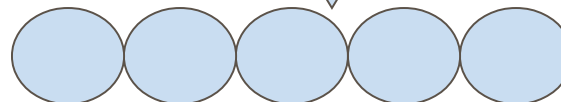
pH BAJO



AUTOCATÁLISIS



• PEPSINA



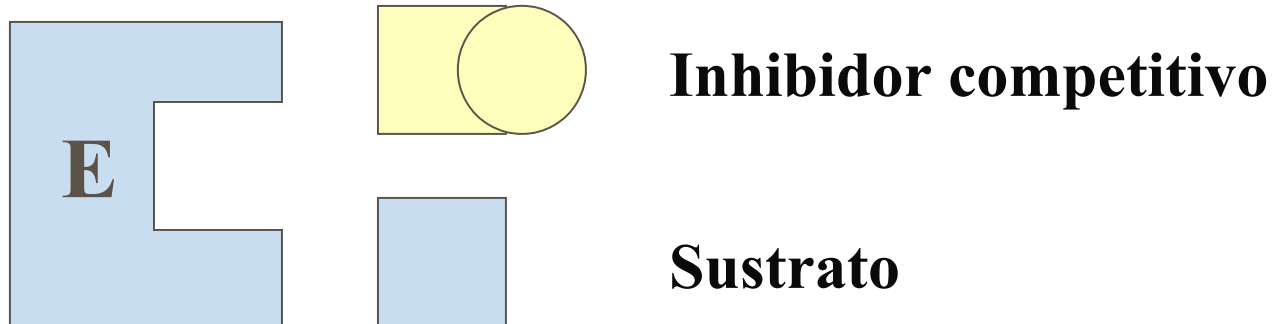


INHIBICIÓN ENZIMÁTICA:

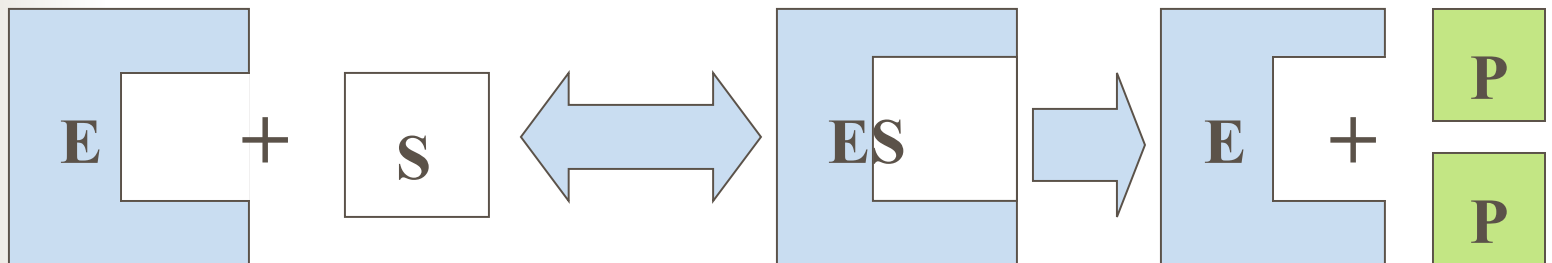
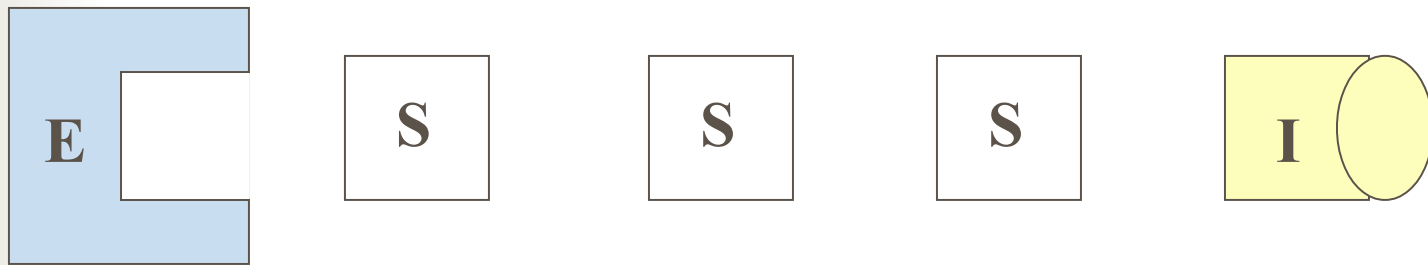
- Un *inhibidor enzimático* es una sustancia química capaz de bloquear de manera reversible ó irreversible la acción de una enzima...
 - Clasificación:
 - Reversible (competitiva; no competitiva);
 - Irreversible...

INHIBICIÓN ENZIMÁTICA REVERSIBLE COMPETITIVA:

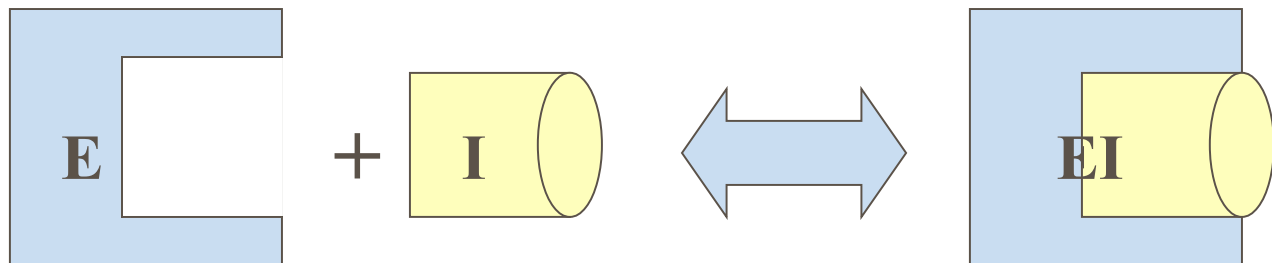
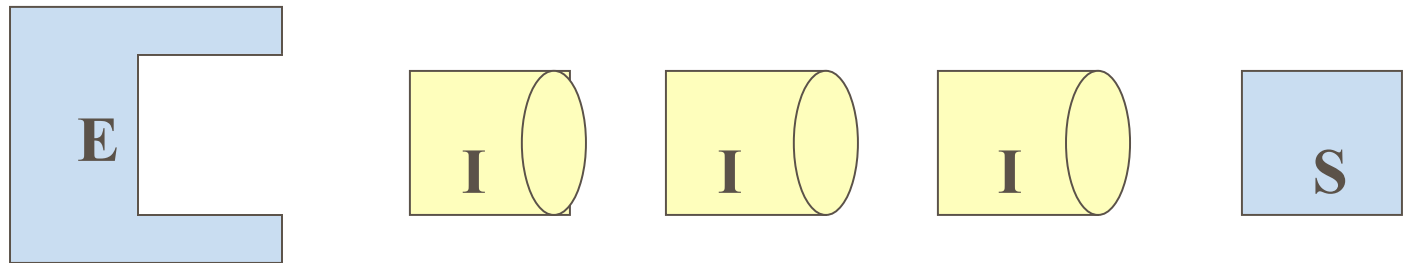
- El *inhibidor* tiene una estructura química parecida al sustrato de la enzima, por lo tanto *compite* con él por el sitio activo de la enzima...



INHIBICIÓN ENZIMÁTICA REVERSIBLE COMPETITIVA:

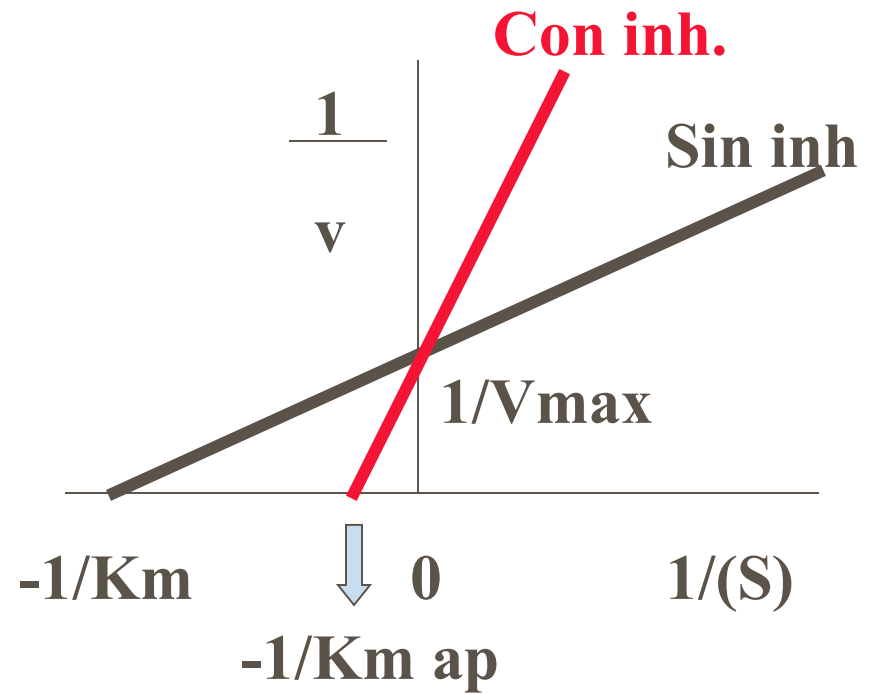
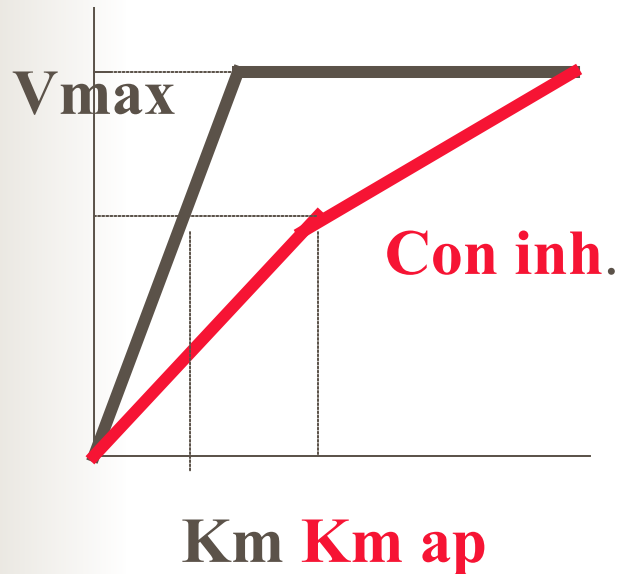


INHIBICIÓN ENZIMÁTICA REVERSIBLE COMPETITIVA:



INHIBICIÓN ENZIMÁTICA REVERSIBLE COMPETITIVA:

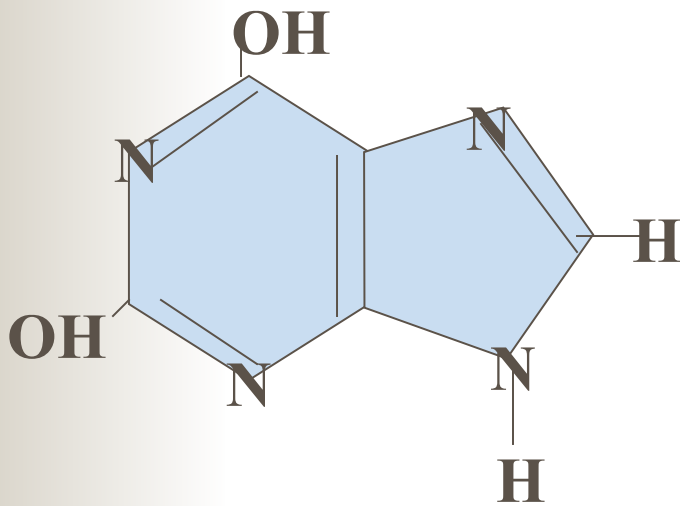
■ Sin inhibidor



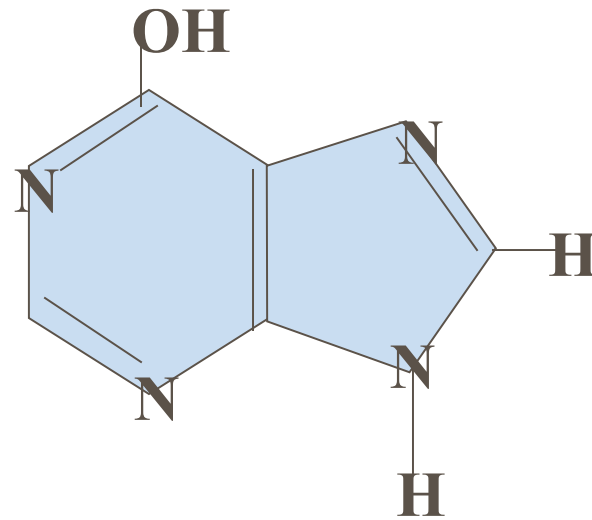
EJEMPLO DE INHIBICIÓN COMPETITIVA

XANTINO-OXIDASA:

HIPOXANTINA \longrightarrow XANTINA \longrightarrow AC.URICO



HIPOXANTINA



ALOPURINOL



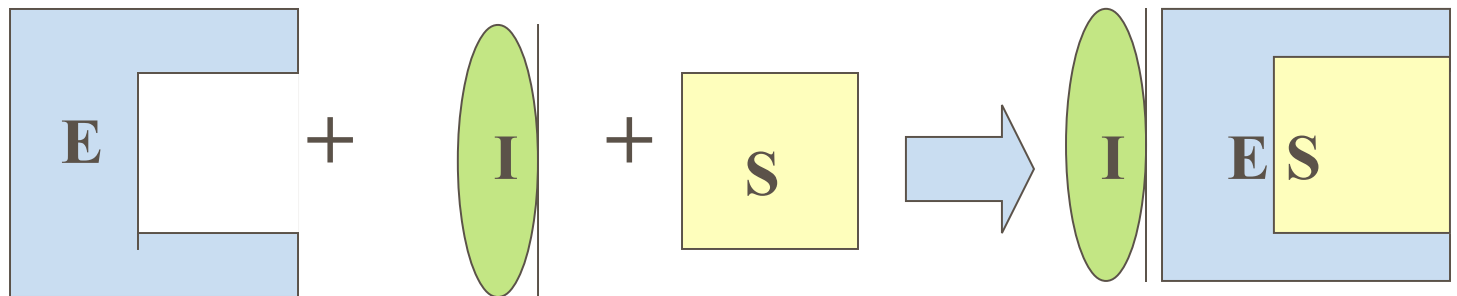
INHIBICIÓN ENZIMÁTICA **REVERSIBLE COMPETITIVA:**

■ **CONCLUSIONES:**

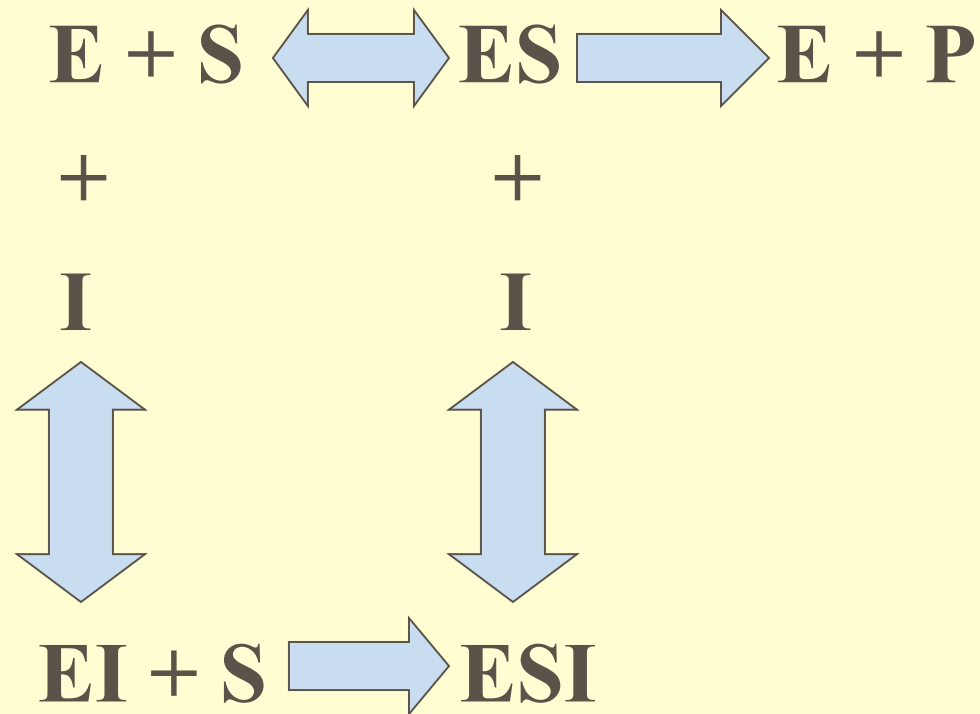
- Sustrato e inhibidor tienen parecida estructura química;
- Ambos compiten por el sitio activo de la enzima;
- Se modifica el K_m pero no la V_{max} de la reacción;
 - El inhibidor puede ser desplazado aumentando la concentración del sustrato...

INHIBICIÓN ENZIMÁTICA REVERSIBLE NO COMPETITIVA:

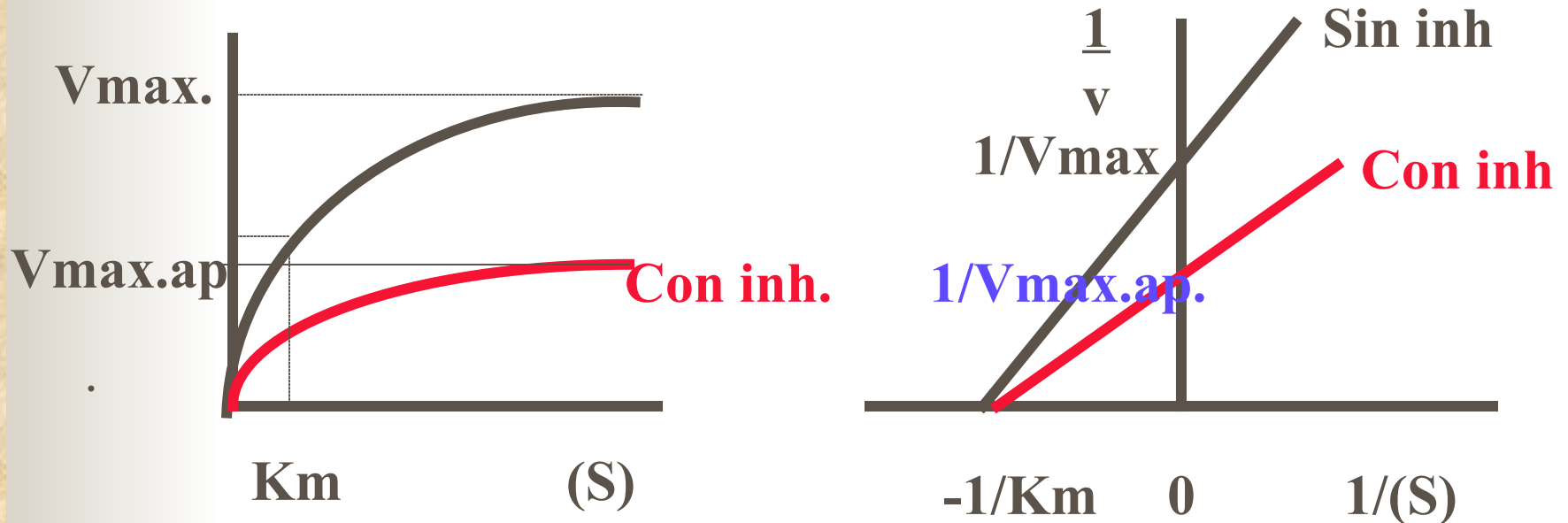
- Los *inhibidores* se unen a la enzima en un lugar distinto al sustrato y *disminuyen la velocidad máxima* de la reacción, *sin modificar el K_m* ...



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...

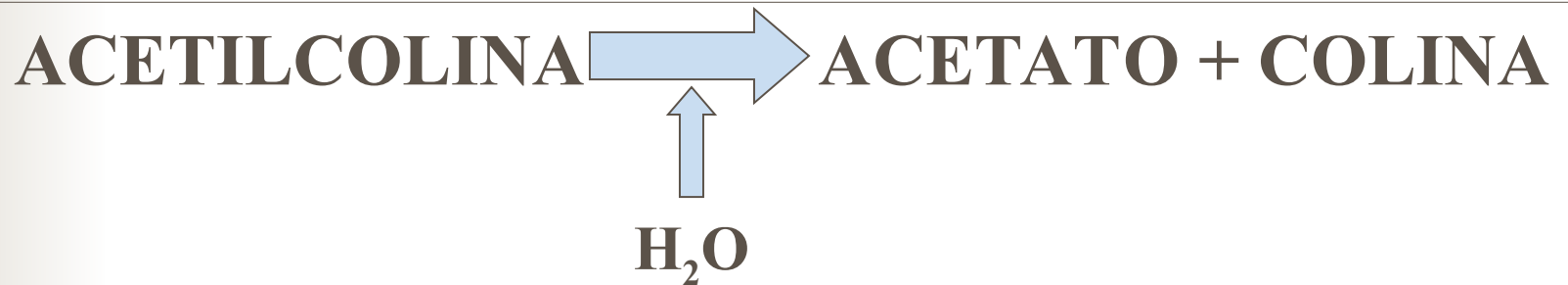


INHIBICIÓN ENZIMÁTICA **REVERSIBLE NO COMPETITIVA:**

■ **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:**

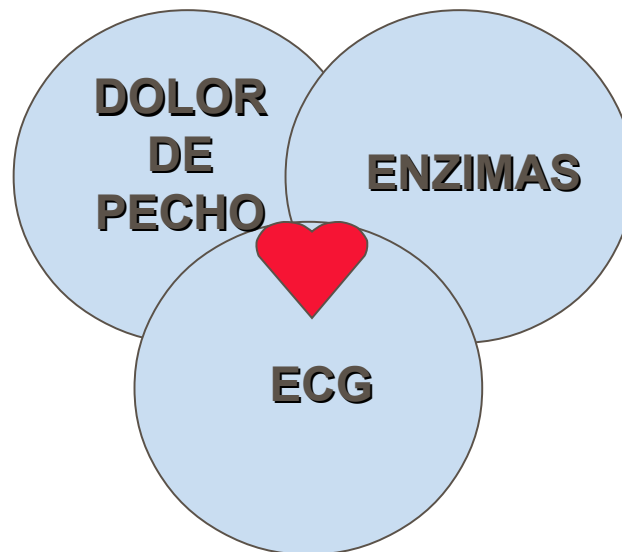
ENZIMAS SÉRICAS:

Caso clínico N° 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

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'M. J. S.', located at the bottom right of the box.

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: Creatínfosfoquinasa; 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.

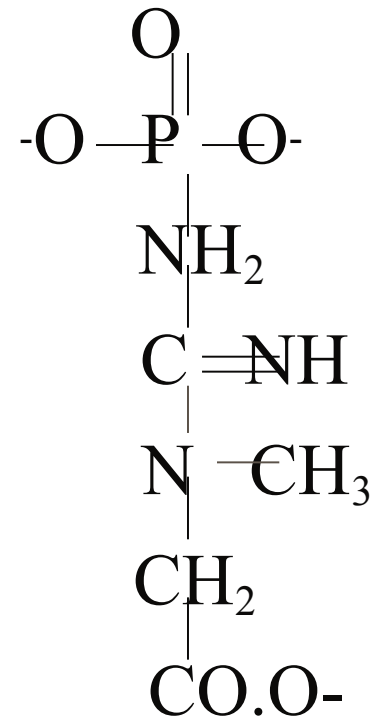
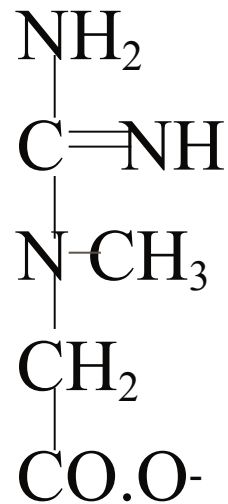
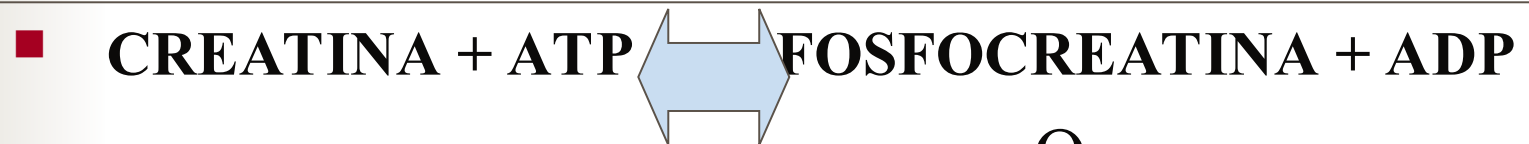


ENZIMAS SÉRICAS:

- 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)...

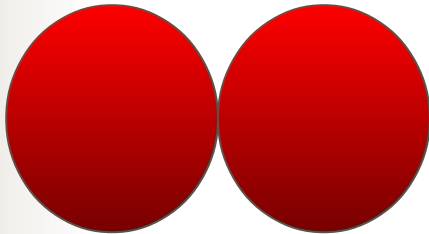
ENZIMAS SÉRICAS:

CPK (Creatínfosfoquinasa)



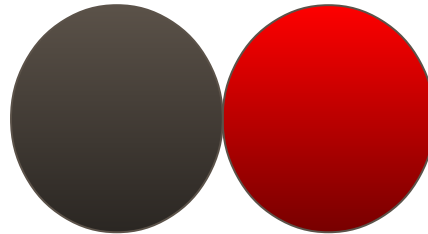
ENZIMAS SÉRICAS: *CPK*

■ *CPK: isoenzimas*



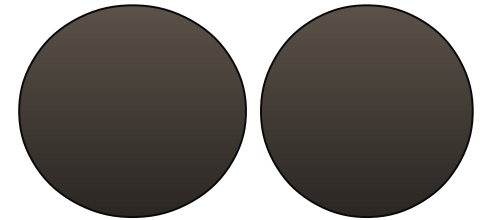
CPK MM

Músculo esquelético



CPK MB

Corazón

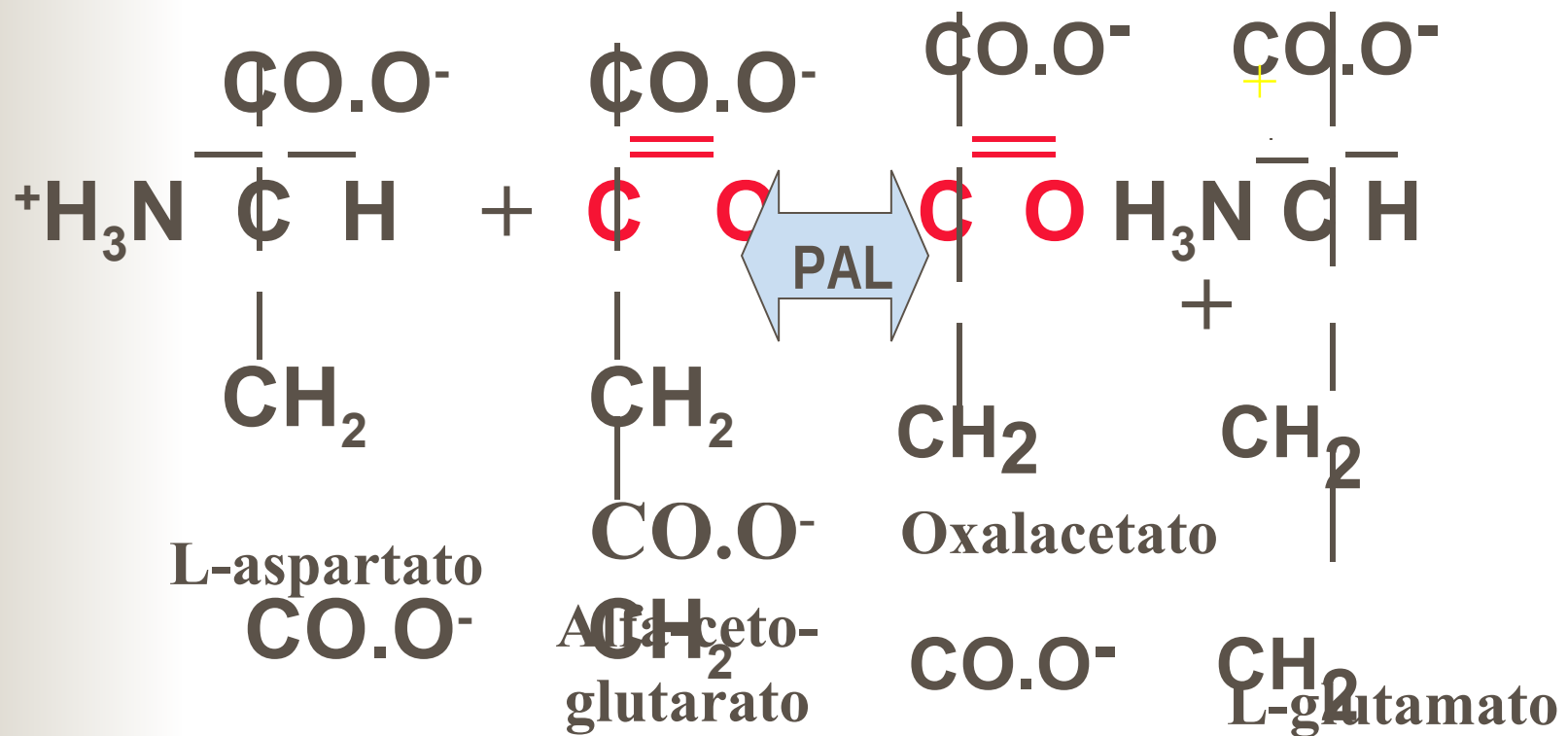


CPK BB

Cerebro

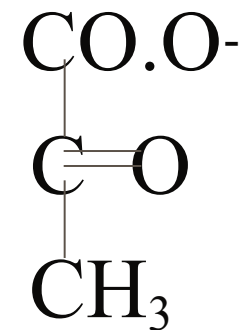
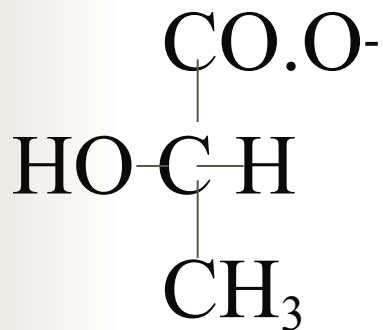
ENZIMAS SÉRICAS:

Transaminasas



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

ENZIMAS SÉRICAS:
LDH (lactato deshidrogenasa)



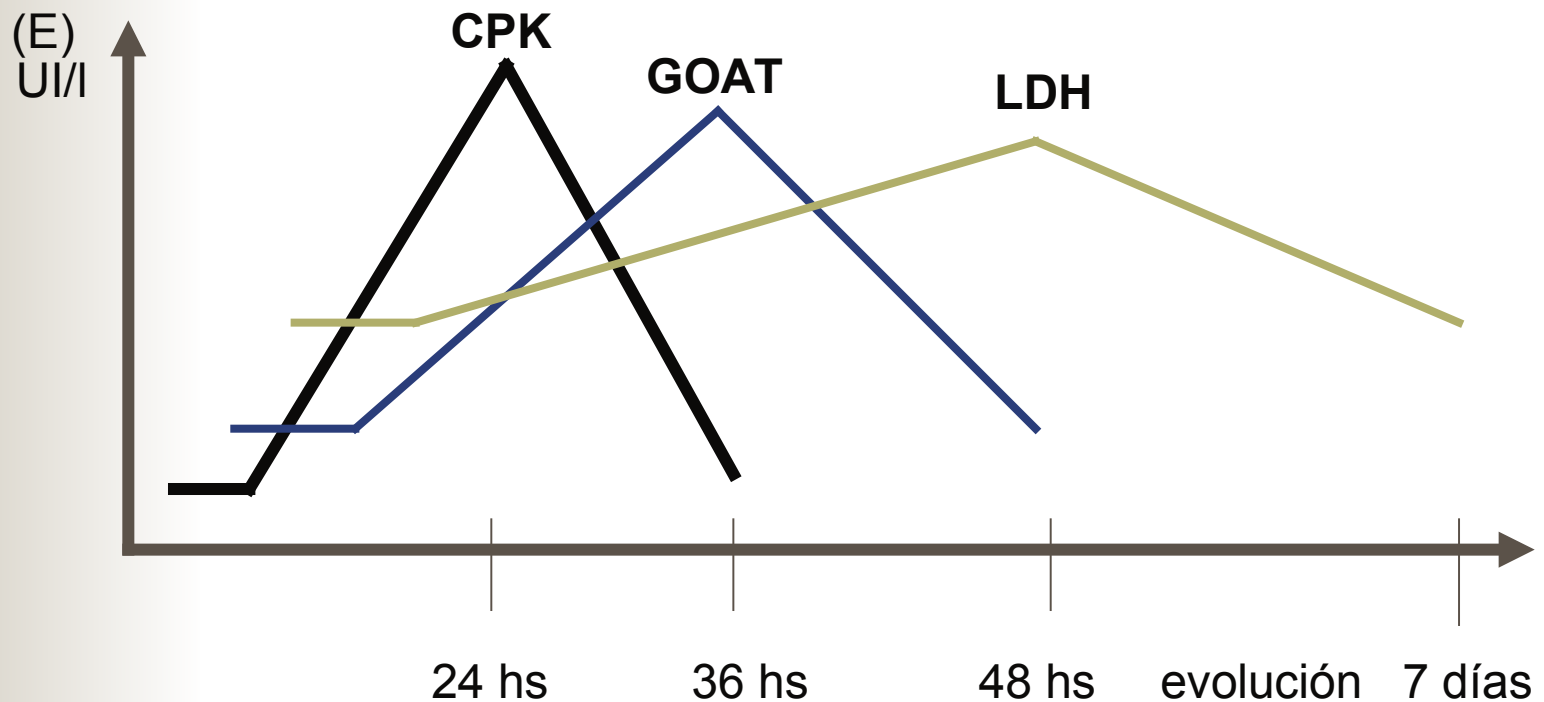
ENZIMAS SÉRICAS:

LDH (lactato deshidrogenasa)

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.

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 N° 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 consulto a un médico.
- *Este le solicitó urgentes análisis de laboratorio.*

ENZIMAS SÉRICAS:

■ Análisis de sangre:

Rp/

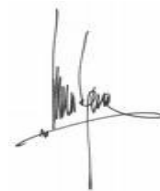
-Hepatograma:

-*Bilirrubina total y directa*

-ASAT

-ALAT

-*Fosfatasa alcalina*

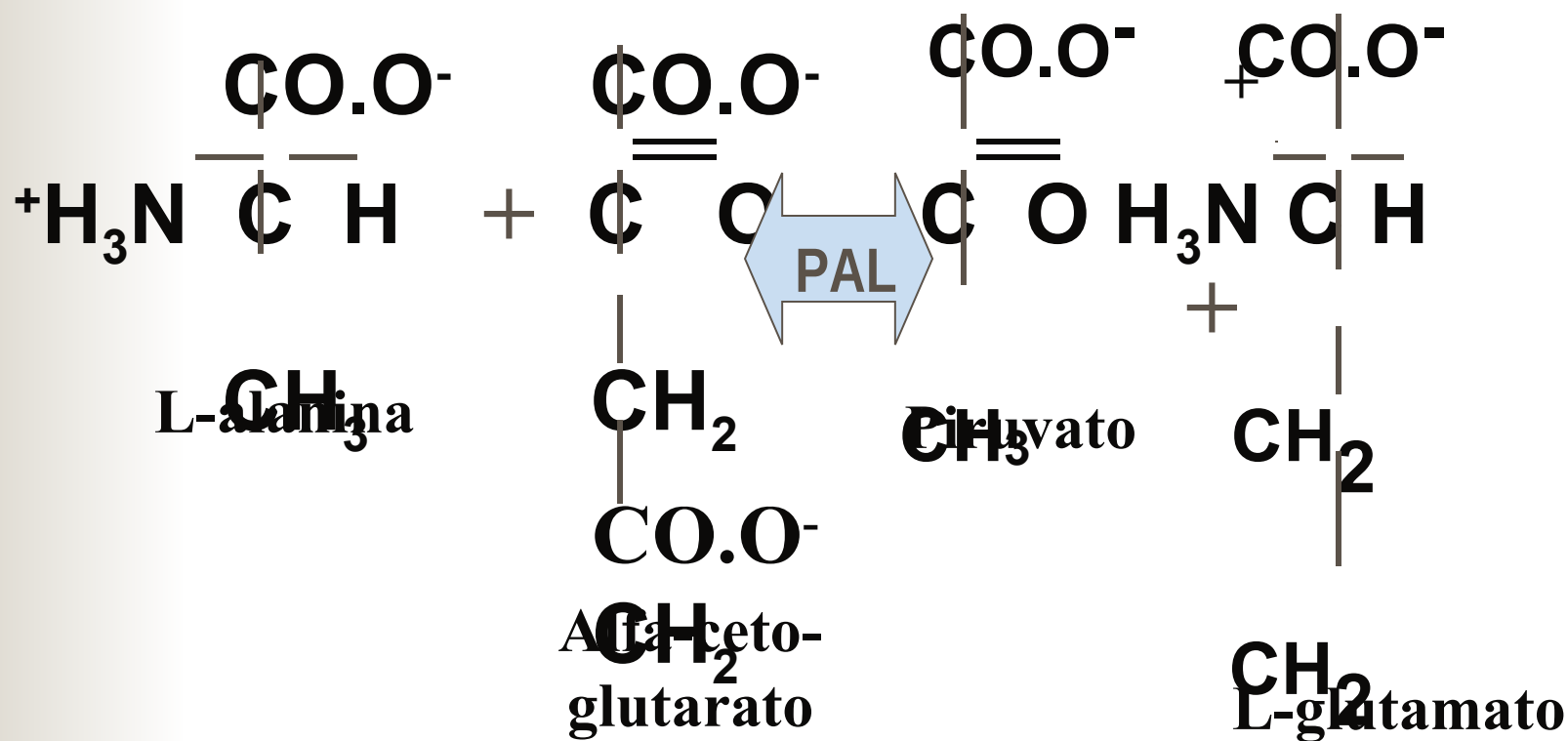




ENZIMAS SÉRICAS:

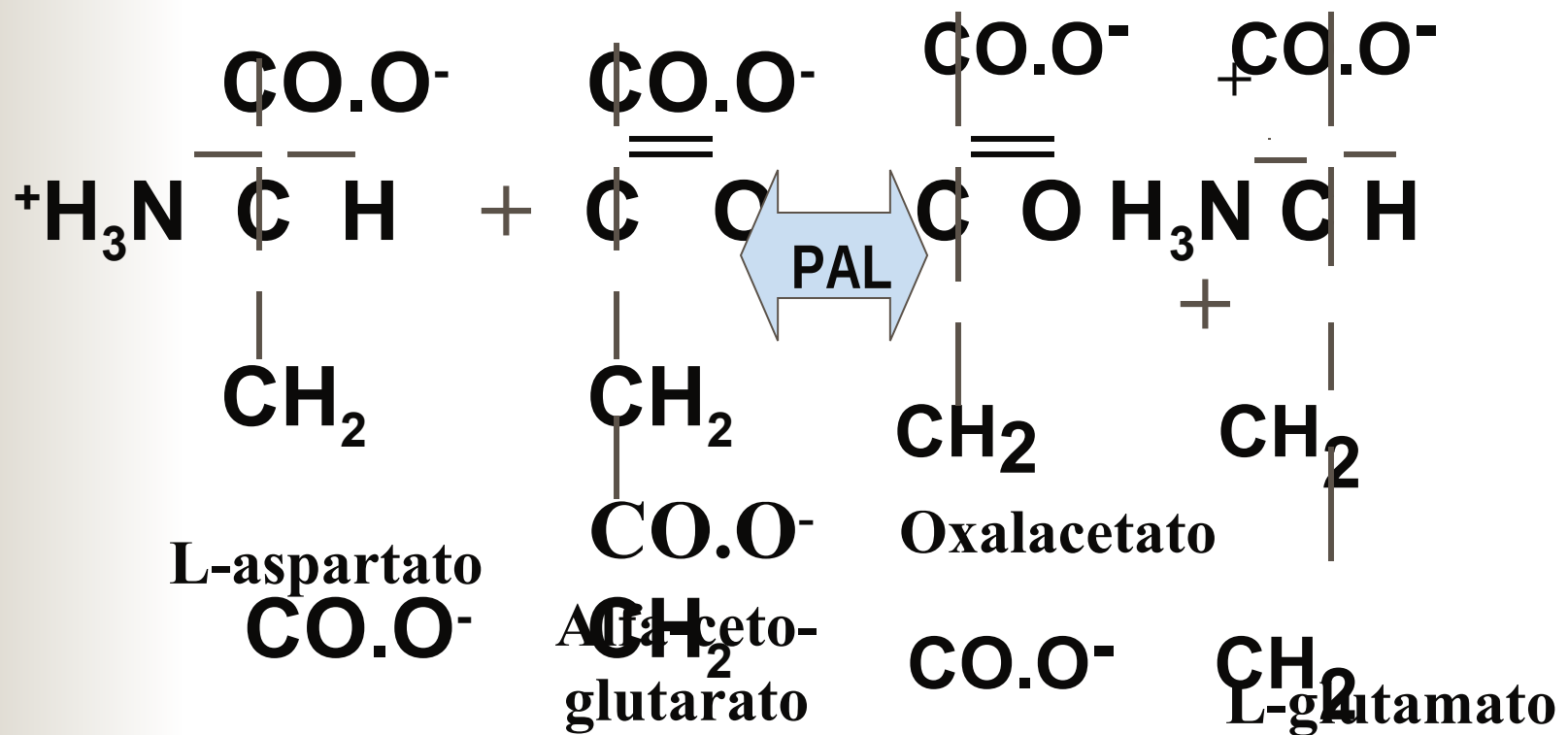
- Las ***transaminasas*** son enzimas que se localizan preferentemente en el hígado y las más importantes son: la ALAT (alanina aminotransferasa o GPT) y la ASAT (aspartato-aminotransferasa);
- La ***ALAT*** se encuentra sólo en citoplasma, en tanto, la ***ASAT*** está presente tanto en citoplasma como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