

TEMA 5. ENCIMAS, COENCIMAS E VITAMINAS

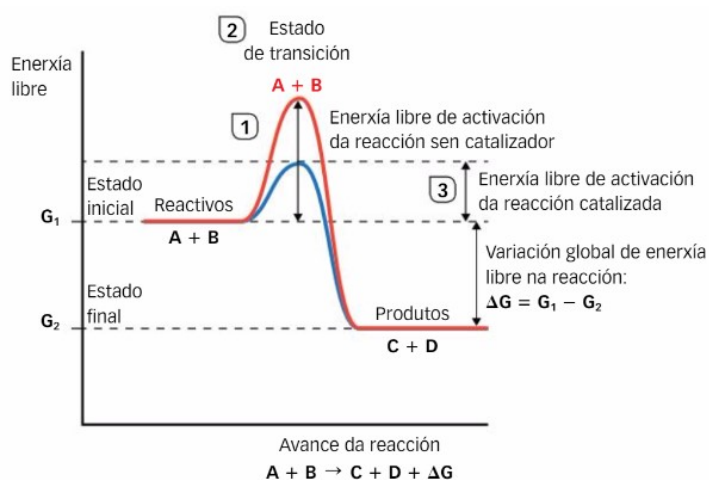
- 5.1. As reaccións químicas e os biocatalizadores
- 5.2. Estrutura das encimas
- 5.3. O centro activo das encimas e a actividade encimática
- 5.4. A especificidade das encimas
- 5.5. Cinética da actividade encimática
- 5.6. Factores que afectan á actividade encimática
 - 5.6.1. Influencia da temperatura
 - 5.6.2. Influencia do pH
 - 5.6.3. Presencia de inhibidores
- 5.7. Encimas Reguladores
- 5.8. Nomenclatura e clasificación das encimas
- 5.9. Coencimas
- 5.10. Vitaminas

5.1. AS REACIÓNS QUÍMICAS E OS BIOCATALIZADORES

Unha reacción ten lugar porque unha determinada fracción de moléculas dos reactivos posúe enerxía suficiente como para alcanzar un **estado de transición**, no que é moi fácil que se rompan ou se formen os enlaces químicos para formar os produtos.

A enerxía de activación é a enerxía que hai que suministrar aos reactivos para que acaden o estado de transición e poda ter lugar a reacción.

A acción catalizadora das encimas consiste en rebaixar a enerxía de activación para chegar máis facilmente ao estado de transición.



As encimas cumpren as dúas características comúns a todos os catalizadores:

- Durante a reacción non se consumen. Ao finalizar a reacción, a cantidade de encimas é a mesma que ao principio.
- Aceleran as reaccións químicas. Grazas a elas pódese conseguir a mesma cantidade de produto en menos tempo, incluso se a cantidade de encima é pequena.

As **isoencimas** son encimas que realizan a mesma función pero que presentan diferente estrutura molecular e diferentes constantes cinéticas.

5.2. ESTRUCTURA DAS ENZIMAS

As encimas son proteínas con función biocatalizadora, (unha excepción son as **ribocimas**, ARN con funcións catalíticas). No entanto, algunhas encimas requiren para a súa actividade catalítica un compoñente químico de natureza non proteica, os cofactores. Atendendo a isto pódense distinguir dous tipos de encimas:

- **Holoproteínas:** encimas estritamente proteicas.
- **Heteroproteínas = Holoenzimas:** constituídas por unha fracción polipeptídica chamada **apoencima** e por unha fracción non polipeptídica, denominada **cofactor**.

Os cofactores poden ser inorgánicos ou orgánicos.

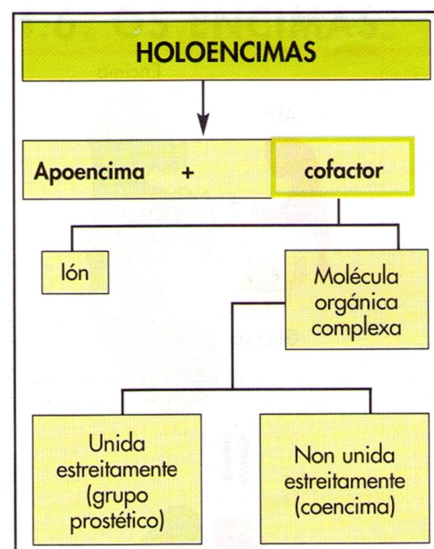
Son **cofactores inorgánicos** os ións metálicos como o Mg^{+2} , Fe^{+2} e Zn^{+2} .

Os **cofactores orgánicos** denomínanse **coencimas** cando se unen debilmente á fracción proteica (so se unen durante a catálise). As principais coencimas son o ATP, NAD^+ , FAD...

Se os cofactores orgánicos se unen fortemente á fracción proteica

(unidos permanentemente á proteína) chámanse **grupos prostéticos**. Exemplo: grupo hemo, FAD...

Os cofactores e os coenzimas actúan como transportadores de grupos químicos, (aceptan átomos ou ións), polo tanto sí se modifican na reacción pero de xeito reversible.



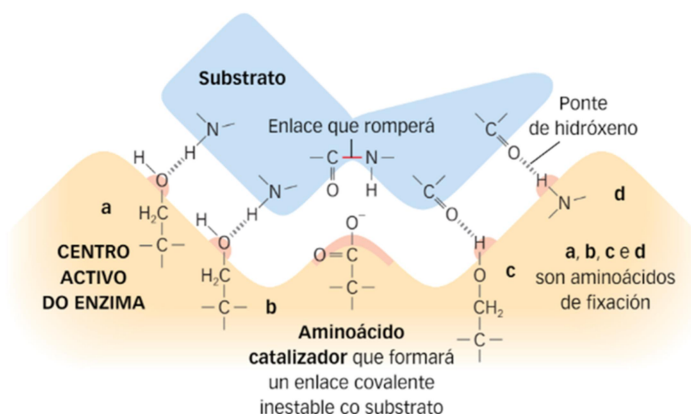
5.3. O CENTRO ACTIVO DAS ENZIMAS E A ACTIVIDADE ENCIMÁTICA

As encimas son proteínas globulares tridimensionais que posúen unha pequena rexión, chamada **centro activo**, na que se pode aloxar o **substrato** para reaccionar.

Na cadea polipeptídica dunha encima pódense distinguir tres tipos de aminoácidos:

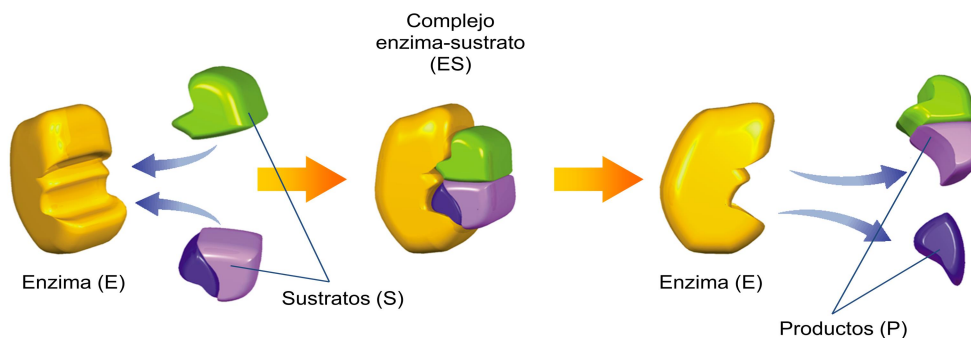
- **Aminoácidos estruturais:** son os que non establecen enlaces químicos co substrato. Son os máis abundantes e os responsables da forma da encima.
- **Aminoácidos de fixación:** son os que establecen enlaces débiles co substrato e fíxano.
- **Aminoácidos catalizadores:** únense ao substrato de maneira que crean as condicións físico-químicas adecuadas para que as moléculas de S se transformen no produto final.

Os aminoácidos de fixación e catalizadores atópanse no centro activo da encima.



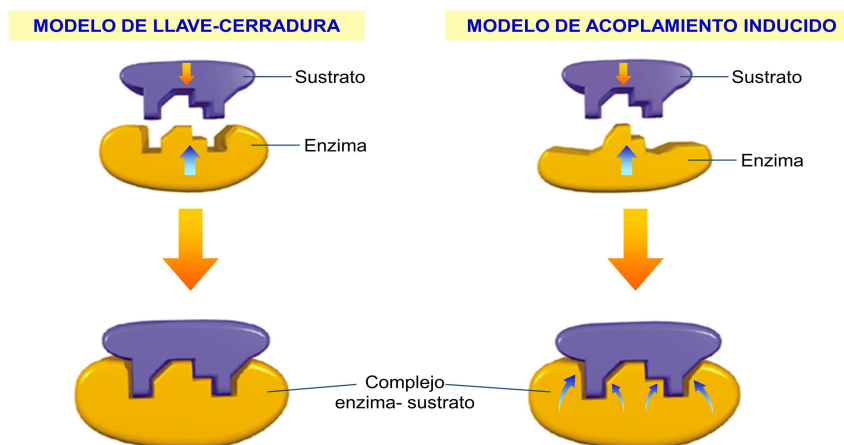
A acción encimática caracterízase pola formación dun **complexo encima-substrato (ES)**, no cal a encima (E) actúa fixando ao substrato (S) na súa superficie mediante enlaces débiles. Xéranse así tensións que debilitan os enlaces do substrato. Finalizada a transformación queda o complexo encima-

produto (EP) que se escinde liberando a encima intacta e o produto (P).



5.4. A ESPECIFICIDADE DAS ENCIMAS

Como dixemos, o centro activo dunha encima é unha rexión específica, polo que só os substratos que teñen a forma adecuada poden acceder a este centro activo. Isto orixina unha alta especificidade entre a encima e o substrato. A unión entre a encima e o substrato para formar o complexo encima-substrato explicouse tradicionalmente polo **modelo de "a chave (substrato) e a fechadura (enzima)"**, que ilustra esta complementariedade. Con todo, na actualidade viuse que os centros activos dalgúns encimas cambian a súa forma tridimensional como resposta á presenza do substrato, ata que encaixan. Así pois, o substrato induce a forma da encima para que se produza o axuste, é o chamado **axuste inducido**. Neste caso, en lugar do símil de "a chave e a fechadura" é máis adecuado o símil de "como a luva (E) se adapta á man (S)".

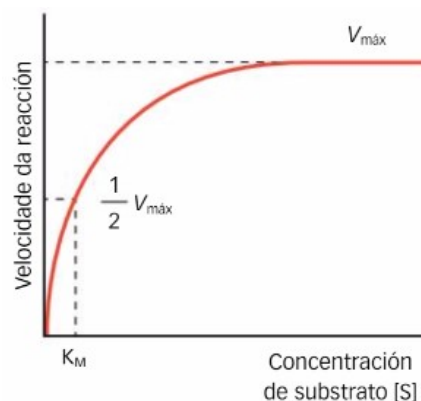


A especificidade pode darse en varios graos:

- **Especificidade absoluta:** a encima só actúa sobre un substrato.
- **Especificidade de grupo:** a encima recoñece un grupo de moléculas semellantes, cun tipo particular de enlace químico. Exemplo: a glicosidase actúa sobre todos os glícidos que teñan enlace glicosídico.
- **Especificidade de clase:** é a menos específica, xa que non depende do tipo de moléculas, só do tipo de enlace. Exemplo: as fosfatases separan os grupos fosfato de calquera molécula.

5.5. CINÉTICA DA ACTIVIDADE ENCIMÁTICA

Se facemos un estudo experimental no que relacionamos a velocidade dunha reacción encimática (estudando os moles de substrato que desaparecen por unidade de tempo) coa concentración de substrato presente, mantendo constante a concentración de encima, observaremos que a velocidade vai aumentando a medida que aumenta a concentración de substrato. Con todo, chega un momento no que se acaba a velocidade máxima e, aínda que aumentemos a concentración de substrato, non se produce un aumento na velocidade. Isto corresponde a **saturación da encima** na cal todos os centros activos están ocupados por moléculas de substrato.



A partir deste comportamento encimático, **Michaelis e Menten** definiron unha constante, chamada a **constante de Michaelis-Menten (K_M)**, que é a concentración de substrato á cal a velocidade da reacción é a metade da velocidade máxima.

Co valor de K_M e da velocidade máxima pódese achar a velocidade para calquera concentración de substrato, aplicando a ecuación de Michaelis-Menten:

$$V_0 = \frac{V_{\max}[S]}{K_m + [S]}$$

Onde:

V_0 é a velocidade determinada a unha concentración de substrato específica.

$V_{\max}$ é a velocidade máxima.

$[S]$ representa a concentración de substrato.

K_M é a constante de Michaelis-Menten

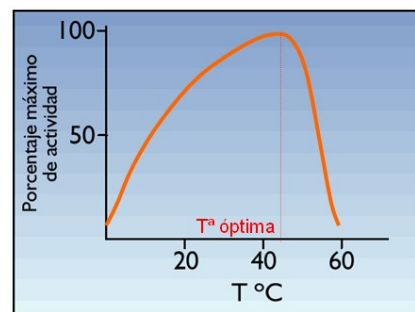
K_M é característica de cada encima e reflicte a afinidade da encima polo seu substrato. Canto menor sexa o valor de K_M maior será a afinidade da encima polo seu substrato. É dicir, un valor de K_M baixo significa que se produce unha unión moi estreita entre a encima e o substrato, pois a concentracións de substrato baixas xa acadaremos a velocidade semimáxima.

5.6. FACTORES QUE AFECTAN Á ACTIVIDADE ENCIMÁTICA

A velocidade de reacción conseguida cunha encima, ademais de depender da **concentración de substrato**, depende tamén doutros factores: a temperatura, o pH e a presenza de inhibidores.

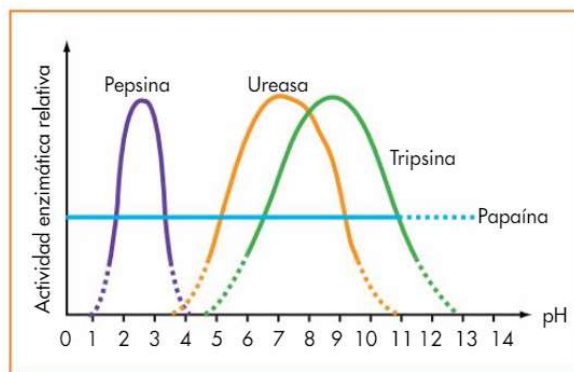
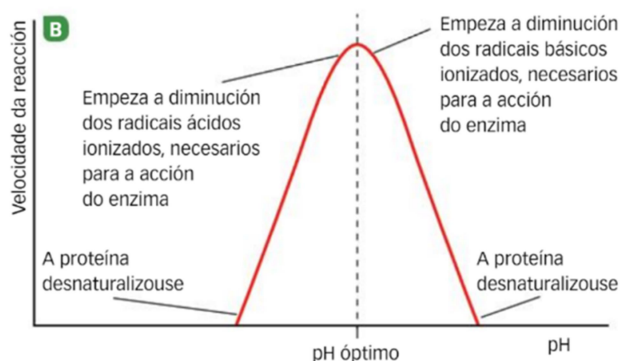
5.6.1. INFLUENCIA DA TEMPERATURA

Se a unha reacción encimática se lle dá calor, as moléculas aumentan a súa mobilidade e o número de encontros moleculares, polo que aumenta a velocidade na que se forma o produto. Con todo, se a temperatura é excesiva, a encima, que é de natureza proteica desnaturalízase. Por tanto, existe unha temperatura óptima para a cal a actividade encimática é máxima.



5.6.2. INFLUENCIA DO PH

As encimas presentan dous valores límite de pH entre os cales son eficaces; traspasados estes valores, as encimas desnaturalízanse e deixan de actuar. Entre os dous límites existe un pH óptimo no que a encima presenta a súa máxima eficacia. O pH óptimo está condicionado polo tipo de encima e de substrato, debido a que o pH inflúe no grao de ionización dos radicais do centro activo da encima e tamén dos radicais do substrato.



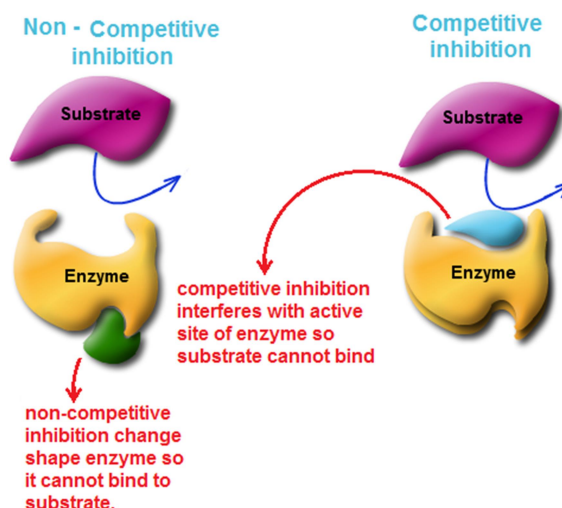
5.6.3. PRESENCIA DE INHIBIDORES

Os inhibidores son substancias que diminúen a actividade dunha encima ou ben impiden completamente a actuación da mesma.

Os inhibidores son de gran importancia porque utilízanse en moitos casos como fármacos, poden ser venenos ou substancias serven na célula para regular o metabolismo.

A inhibición pode ser de dous tipos:

- Inhibición irreversible ou envelenamento da encima: os inhibidores ou venenos fíxanse permanentemente ao centro activo da encima, inutilizándoo. Ex: cianuro, gases de guerra (gas mostaza), antibióticos (penicilina), algúns insecticidas e herbicidas
- Inhibición reversible: os inhibidores impiden temporalmente o normal funcionamento do centro activo. Pode ser de 2 tipos:
 - Competitiva: o inhibidor compite co substrato polo centro activo, xa que é unha molécula parecida. A velocidade da reacción dependerá da concentración relativa de S e do inhibidor
 - Non competitiva: o inhibidor non compite co substrato, xa que se une a un sitio diferente do centro activo, pero esencial para a encima porque ao unirse impide a actividade encimática. Ata que o inhibidor non se libere, o substrato non se pode axustar, xa que se altera a conformación do centro activo.

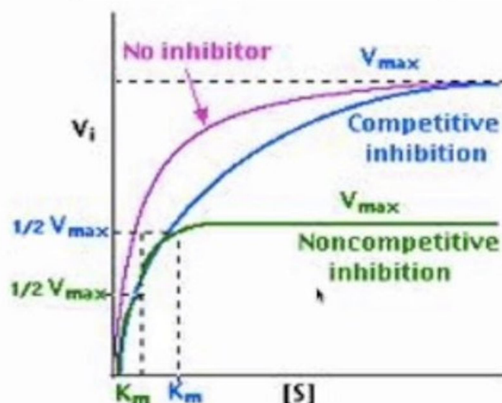


Enzimas

Prof. Pastor Colmenares

Gráfica de Michaelis-Menten

INHIBIDOR COMPETITIVO	INHIBIDOR NO COMPETITIVO	INHIBIDOR ACOMPETITIVO
- La V_{max} no cambia - Aumenta la K_m - Disminución de la afinidad de la enzima por su sustrato	- La V_{max} cambia - No cambia la K_m - La afinidad de la enzima por su sustrato NO CAMBIA	- La V_{max} y la K_m, Están disminuidas - En la gráfica, van paralelas



A inhibición competitiva e non competitiva poden distinguirse cinéticamente. A 1ª caracterízase porque aumenta o valor de K_M da enzima. A 2ª caracterízase porque o valor de K_M no varía, pero non se alcada a V máxima.

5.7. REGULACIÓN ENZIMÁTICA

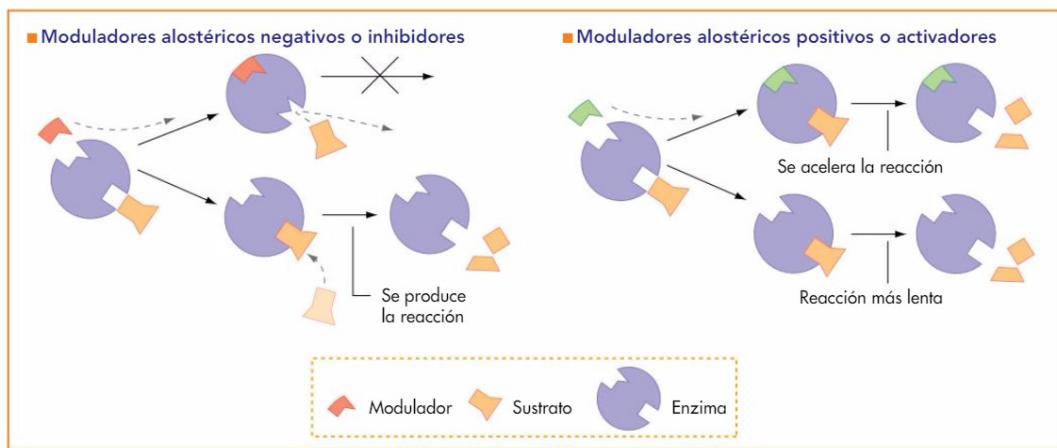
ENCIMAS ALOSTÉRICAS

Son fundamentais na regulación das rutas metabólicas.

Las enzimas poseen distintas conformacións interconvertibles con distinto grado de actividade. O cambio de conformación débese a unión

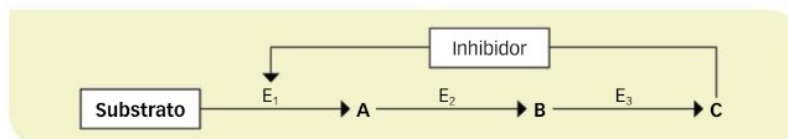
As encimas alostéricas poseen ademais dun **centro activo**, un **centro regulador** ou alostérico ao que se pode unir unha sustancia chamada **ligando**, que cambia a conformación da encima.

O ligando pode ser un **inhibidor** ou modulador negativo ou ben un **activador** ou modulador positivo.

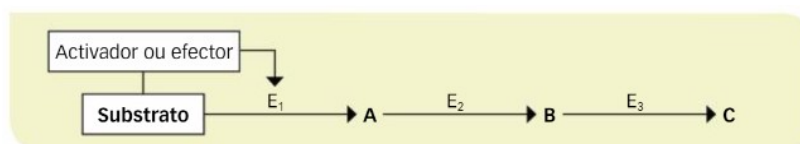


Xeralmente, nas rutas metabólicas a 1ª enzima (ou unha das primeiras) é unha enzima alostérica que regula a velocidade da ruta e a adapta as necesidades da célula.

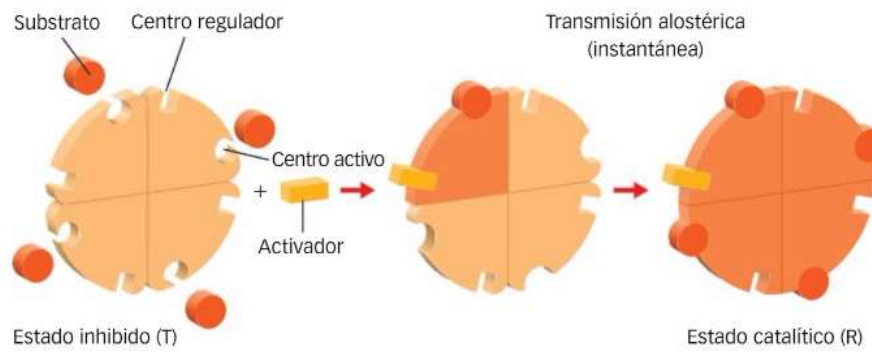
Nunha cadea de reaccións, o **produto final** pode ser un modulador negativo da encima que cataliza a primeira etapa. O resultado deste proceso é que se mantén a cantidade de produto dentro duns límites. Este tipo de regulación denomínase **retroinhibición** ou **feed-back**:



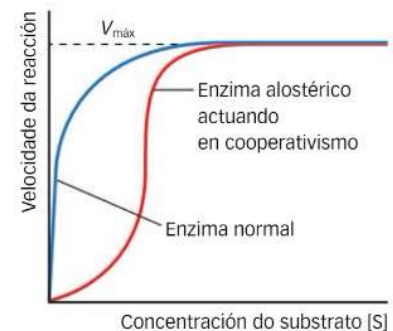
Cando a concentración de produto diminúe, a **substancia inicial** é a que ao fixarse sobre o centro regulador provoca a transición alostérica á forma activa da encima, polo que esta empeza a actuar sobre o substrato. Este tipo de regulación denomínase **indución encimática**.



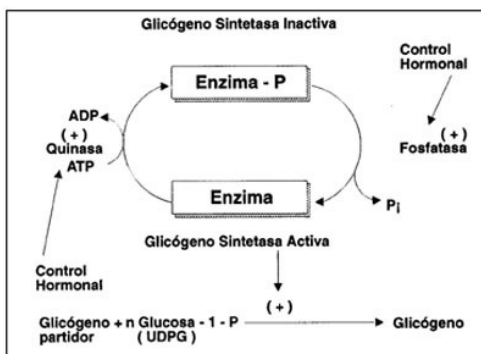
As encimas alostéricas adoitan ter estrutura cuaternaria, é dicir, son oligómeros formadas por varias subunidades cada un das cales posúe un centro activo e, polo menos, un centro regulador. Cando se une un ligando ó centro regulador dun protómero, a conformación deste varía e o seu centro activo se fai funcional. A variación de conformación deste protómero transmítese instantaneamente ós outros protómeros asociados, que tamén se activan. Este efecto denomínase transmisión alostérica e fai que o encima pase do estado inhibido (T) ó estado activo ou catalítico (R).



A velocidade de reacción en función da concentración de substrato nos encimas alostéricos ten forma sigmoidea (non hiperbólica coma no resto de encimas) debido a que o incremento de velocidade ó inicio da reacción non é tan rápida porque a encima ten que unirse ó ligando e ó substrato para actuar. En cambio, a transmisión alostérica fai que nun breve espacio de tempo se activen moitas subunidades, polo que finalmente a velocidade máxima se iguala coa doutra encima non alostérica.



Regulación por modificación covalente.

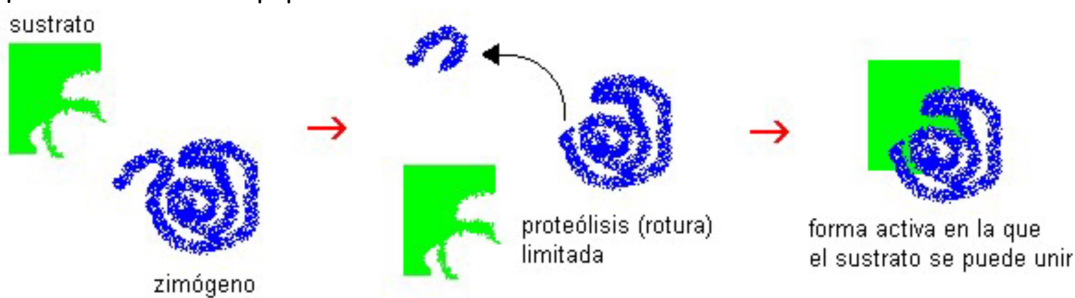


Consiste en modificar a conformación dunha encima, pola unión reversible, de tipo covalente, entre grupos químicos dea encima e unha molécula de baixa masa molecular.

Os cambios máis frecuentes son as fosforilacións e desfosforilacións, tamén pode haber metilacións...

Escisión proteica

A actividade dalgunhas encimas non son activas ata que sobre elas actúan outras encimas ou ións. Estas encimas denomínanse **cimóxenos** ou **proencimas**. Por exemplo, o pepsinóxeno estomacal actívase co HCl que o transforma en pepsina.



5.8. NOMENCLATURA E CLASIFICACIÓN DAS ENCIMAS

A nomenclatura máis habitual das encimas é engadir ao nome do substrato o sufixo **-ase**. Exemplo: sacarase, amilase... Con todo, moitas encimas conservan a súa antiga denominación: pepsina, tripsina... Actualmente utilízase unha nomenclatura sistemática con catro cifras para cada encima, sendo a primeira cifra a máis xeral (indícame a súa función) e a última a que me proporciona o código específico da encima. Así, o nome de cada encima alude tanto ao substrato como ao tipo de reacción que catalizan.

Segundo a función que exercen distínguense 6 clases de encimas:

- **Oxidoredutases:** catalizan reaccións de oxidación ou redución. As máis importantes son as deshidroxenases (separan hidróxenos do substrato) e as oxidases (toman electróns do substrato e cédennlos ao osíxeno molecular).
- **Transferases:** transfiren radicais ou grupos funcionais dunhas moléculas a outras.
- **Hidrolases:** rompen enlaces mediante a adición dunha molécula de auga ao substrato.
- **Liasas:** catalizan a liberación de grupos funcionais diversos ($-\text{NH}_2$, CO_2 , H_2O), en moléculas que posúen un dobre enlace na súa estrutura e tamén catalizan a ruptura de moléculas sen intervención da auga.
- **Isomerases:** catalizan reaccións de isomerización.
- **Ligases ou sintetases:** unen moléculas mediante a enerxía proporcionada pola desfosforilación do ATP.

5.9. COENCIMAS

As coencimas son cofactores orgánicos que se unen ao apoencima (parte proteica dunha encima) mediante enlaces débiles, polo que a unión coencima-apoencima é temporal e dura soamente durante o proceso catalítico.

As coencimas actúan como transportadores de grupos químicos, polo que, a diferenza da apoencima, a coencima si se modifica durante a reacción, pero unha vez acabada esta volven ser funcionais.

Pódense distinguir dous tipos de coencimas:

- **As coencimas de oxidación e redución.** Son as que transportan protóns (H^+) e electróns (e^-). As principais son:
 - **NAD⁺:** Nicotinamida-adenina-dinucleótido = nicotín-adenín-dinucleótido.
 - **NADP⁺:** Fosfato de nicotinamida-adenina-dinucleótido = nicotín-adenín-dinucleótido fosfato.
 - **FAD:** Flavín-adenín-dinucleótido.
- **As coencimas de transferencia.** Son as que transportan radicais moleculares. As principais son:
 - **Adenosín trifosfato (ATP):** transporta grupos fosfato e ademais acumula e transfire enerxía duns procesos a outros.
 - **Coencima A:** transporta grupos acetilo ($-\text{CO}-\text{CH}_3$).

5.10. VITAMINAS

Son moléculas de moi variada complexidade, que pertencen a varias clases de principios inmediatos. Salvo excepcións non poden ser sintetizadas polos animais, polo que precisan inxerilas na dieta. Son substancias lábiles que se alteran coa calor, cambios de pH, luz..., de aí a necesidade de inxerir alimentos frescos (froitas e ensaladas).

Moitas das vitaminas son precursores das coencimas e de moléculas activas no metabolismo.

As necesidades diarias das vitaminas son moi pequenas, pero a pesar diso, a ausencia de vitaminas no organismo provoca enfermidades carenciais de diversa gravidade.

- **Avitaminose:** ausencia total dunha ou varias vitaminas.
- **Hipovitaminose:** presenza insuficiente de determinadas vitaminas na dieta.
- **Hipervitaminose:** exceso de vitaminas.

Atendendo á súa solubilidade na auga as vitaminas clasifícanse en:

- **Liposolubles:** son insolubles en auga e solubles en disolventes non polares. Son de natureza lipídica (son terpenos ou esteroides). Son as vitaminas A, D, E e K.
- **Hidrosolubles:** son solubles en auga e xeralmente actúan como coenzimas ou precursores de coenzimas. Son as vitaminas do complexo B e a vitamina C.

VITAMINAS Y COENZIMAS					
NOMBRE	NECESIDAD DIARIA	FUENTE	COENZIMA, DERIVADO O FORMA ACTIVA	FUNCIÓN	ENFERMEDAD CARENCIAL
Vitamina C Ácido ascórbico	75 mg	Leche, fruta (cítricos) y hortalizas (tomates)	—	Antioxidante, cofactor de hidroxilación, coenzima en la síntesis de colágeno	Escorbuto, propensión a infecciones diversas
Vitamina B₁ Tiamina o aneurina	0,5-1,0 mg	Cereales, legumbres, levaduras y bacterias	Cocarboxilasa (pirofosfato de tiamina, TPP)	Transferencia de grupos aldehídos	Beriberi (polineuritis)
Vitamina B₂ Riboflavina	1 mg	Hígado, queso, leche, huevo, vegetales de hoja verde	FAD, FMN	Transferencia de H ⁺ (e ⁻) en la respiración celular	Dermatitis, inflamación y agrietamiento de la lengua, comisura de la boca, etc.
Vitamina B₃ Ácido nicotínico o niacina	Síntesis propia a partir de triptófano	Carnes, pescados, queso, leche y vegetales	NADP ⁺ , NAD ⁺	Transferencia de H ⁺ (e ⁻) en procesos de oxidación, y en respiración celular, vasodilatación	Pelagra humana (dermatitis, diarrea y demencia)
Vitamina B₅ Ácido pantoténico	3-5 mg	Tejidos animales, vegetales verdes	Coenzima A, imprescindible en el metabolismo celular	Transferencia de grupos acilo, detoxificador, formación de anticuerpos, ácidos grasos y hormonas, antiestrés	Palpitación, dolor y quemaduras en los pies, alteraciones nerviosas y circulatoria, pelagra de pollos
Vitamina B₆ Piridoxina	2 mg	Hígado, carne, cereales, legumbres	Piridoxal fosfato	Transferencia de grupos amino en el metabolismo de los aminoácidos	Acrodermia (dermatitis), trastornos del aparato digestivo, convulsiones

VITAMINAS Y COENZIMAS

Vitamina B₈ o Vitamina H Biotina	0,25 mg	Producida por bacterias intestinales; chocolate, yema de huevo	Biocitina (biotinil-lisina)	Transferencia de grupos carboxilo, desarrollo de glándulas sexuales, sebáceas y sudoríparas	Dermatitis, caída del pelo, anemia
Vitamina B₉ Ácido fólico	1-2 mg	Producida por bacterias intestinales; hígado, cereales	Ácido tetrahidrofólico	Transferencia de grupos monocarbonados, antianémica, síntesis de eritrocitos	Anemia, trombocitopenia, insomnio, depresión del sistema inmunitario
Vitamina B₁₂ Cobalamina	0,001 mg	Producida por bacterias intestinales; hígado, carne y pescados	Coenzima B ₁₂ (5'-desoxiadenosil cobalamina)	Metabolismo de ácidos nucleicos, formación de glóbulos rojos, síntesis de neurotransmisores	Anemia perniciosa (factor extrínseco), trastornos nerviosos, ulceraciones en la boca
Vitamina A Retinol o axeroftol	1,5-2 mg	Hortalizas verdes y amarillas, hígado, aceite de hígado de bacalao, huevos	11- <i>cis</i> -retinal	Ciclo visual, crecimiento, protección y mantenimiento del tejido epitelial	Ceguera nocturna, xeroftalmia, desecación epitelial, detención del crecimiento
Vitamina D D₂ Ergocalciferol D₃ Colecalciferol	0,025 mg	Hígado, aceite de hígado de bacalao, yema de huevo	1,2-Dihidroxi-colecalciferol	Metabolismo del Ca ²⁺ , esencial en el crecimiento y mantenimiento de los huesos	Raquitismo en niños, deformaciones óseas en adultos
Vitamina E Tocoferol	5 mg	Aceites vegetales, semillas de cereales	—	Inhibe la oxidación de ácidos grasos insaturados	Envejecimiento celular, impide el crecimiento
Vitamina K Filoquinona	0,001 mg	Vegetales de hoja verde, derivados de pescados	—	Imprescindible en el proceso de coagulación sanguínea, ya que participa en la biosíntesis de protrombina	Retardo de la coagulación sanguínea, hemorragias