

ENZIMAS

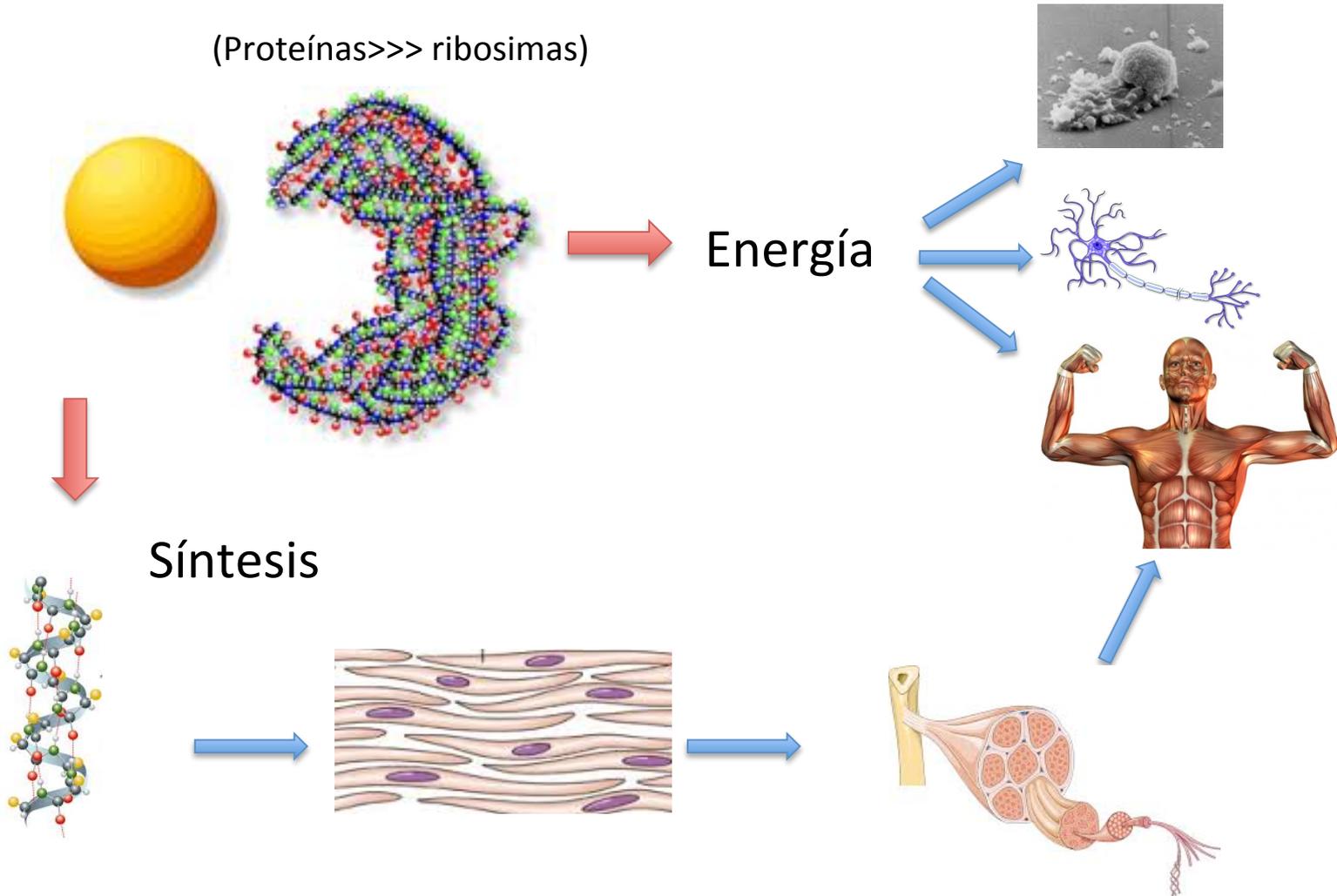
QUÍMICA BIOLÓGICA
FCEN UNCUYO
MARIA BELEN HAPON
2018



Las enzimas. Que son y como actúan. Efecto del pH y la temperatura. Concepto de sustratos, co-factores y co-enzimas. Sitios catalíticos y sitios reguladores. Cinética enzimática. Enzimas alostéricas. Regulación enzimática. Inhibición reversible e irreversible. Inhibición competitiva y no competitiva. Tipos de enzimas: degradativas (proteasas, lipasas, glicosidasas, nucleasas), de óxido-reducción, transferasas, isomerasas, etc. Pro-enzimas.

Las enzimas. ¿Qué son? ¿Cómo actúan?

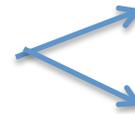
(Proteínas>>> ribosimas)



Las enzimas. Que son y como actúan



Actividad enzimática



Sangre

Extracto celular

Las enzimas. Que son y como actúan



Actividad enzimática

Sangre

Extracto celular

- Defectos genéticos
- Deficiencia nutricional
- Infección viral o bacteriana

Enfermedad



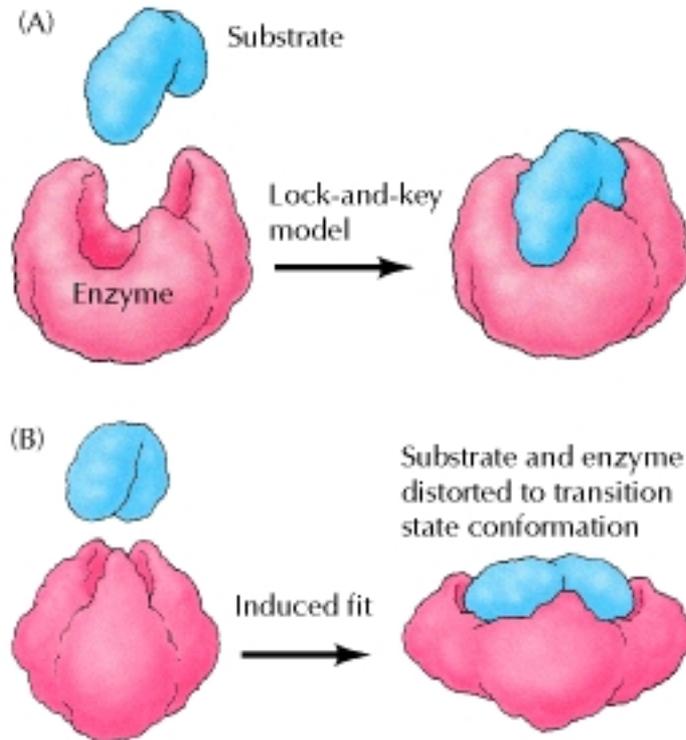
- Terapia génica
- Fármacos

Las enzimas. Que son y como actúan

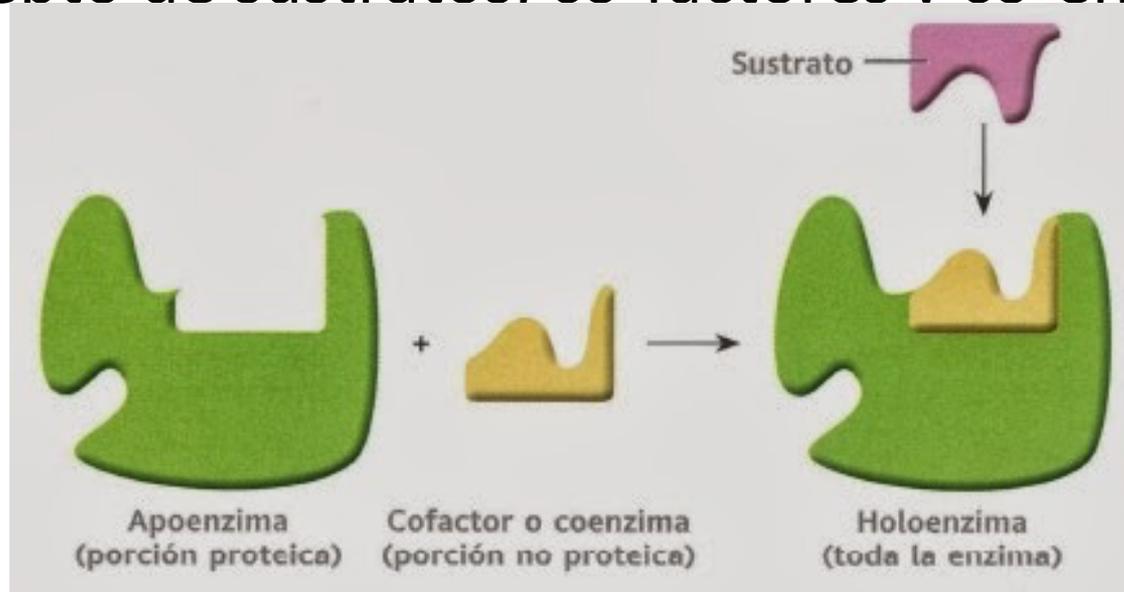
- Las enzimas que catalizan la conversión de uno o mas compuestos (sustratos) en uno mas compuestos (productos) diferentes **aumentan la velocidad de reacción** con respecto a una reacción no catalizada, por un factor de al menos 10^6 .
- Como todos los **catalizadores**, las enzimas no se consumen ni se alteran como consecuencia del proceso de la reacción.
- Son **catalizadores selectivos**, las enzimas son específicas tanto para el tipo de reacción catalizada como también para los sustratos y aquellos relacionados estructuralmente.
- Las enzimas son **catalizadores estereo-específicos** y normalmente catalizan reacciones con solo un esteroisómero de un compuesto, por ejemplo, las azucares D y no las L; o los aminoácidos L no los D.
- Ya que **se unen a los sustratos a través de al menos tres puntos de unión** las enzimas pueden convertir sustratos no quirales en quirales.

La catálisis tiene lugar en el sitio activo

En el modelo de encaje inducido, el sustrato se une a una conformación distorsionada en ambos tanto el sustrato como la enzima. Esta distorsión arrima el sustrato a la conformación de estado de transición, y de este modo acelera la reacción. Pero el sitio activo es mucho más que un sitio de reconocimiento para la unión del sustrato. Provee un ambiente tridimensional que permite separar al sustrato del solvente y también facilita la catálisis.



Concepto de sustratos, co-factores v co-enzimas.



Sustrato: uno o mas compuestos que sufren reacciones químicas catalizadas por enzimas, resultando en uno o mas productos con una velocidad 10^6 veces mayor a la reacción sin catalizar.

Cofactor: son moléculas necesarias para la actividad de la enzima, se une temporalmente y en forma disociable a la enzima o al sustrato (ATP). Pueden ser iones metálicos o moléculas orgánicas termoestables de bajo peso molecular.

Coenzimas: son transportadores transitorios de grupos químicos necesarios para la reacción desde su punto de generación hacia el sitio de reacción como grupos acilo, metilos y oligosacáridos.

Grupo prostético: Se unen a la estructura de la proteína de manera covalente o no covalente y estable a la estructura de la proteína (FMN, FAD, Tiamina, biotina, Co, Cu, Mg, Mn, Se y Zn) molécula

Apoenzima: parte proteica del enzima (no activa)

Holoenzima: apoenzima + cofactor

Concepto de sustratos, co-factores y co-enzimas.

Some Inorganic Elements That Serve as Cofactors for Enzymes

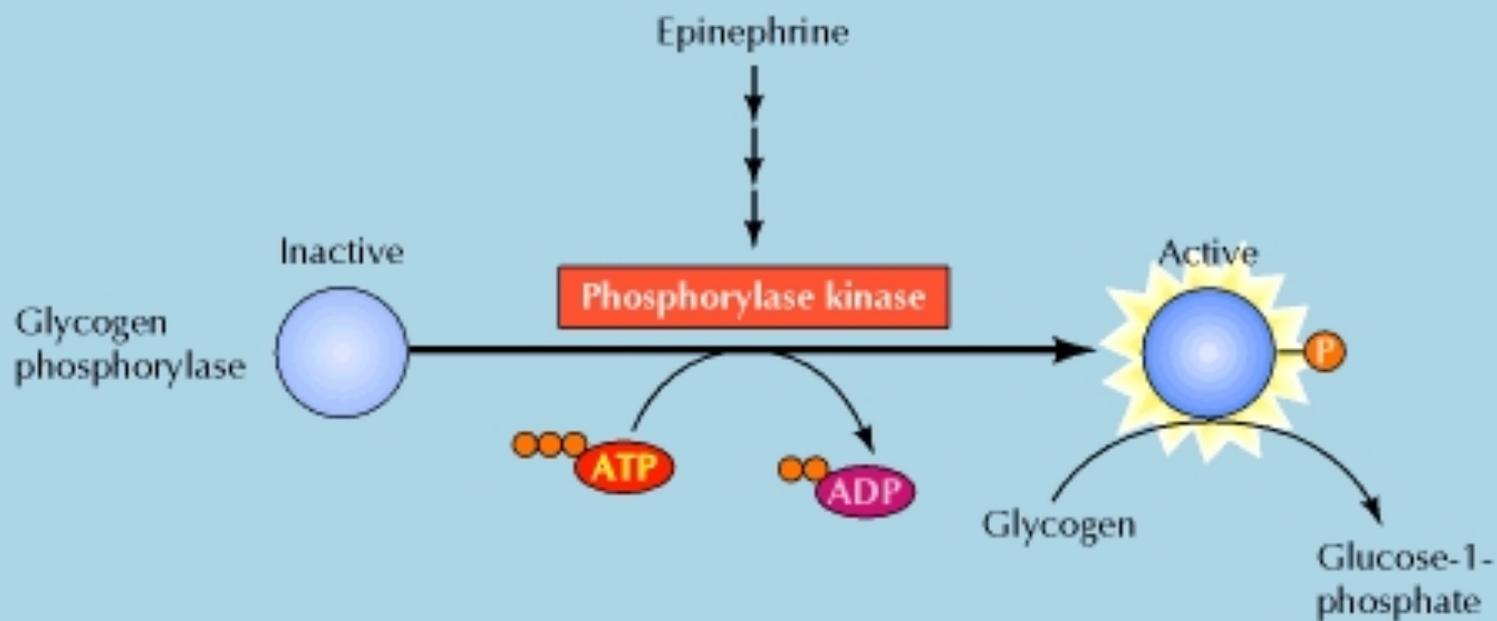
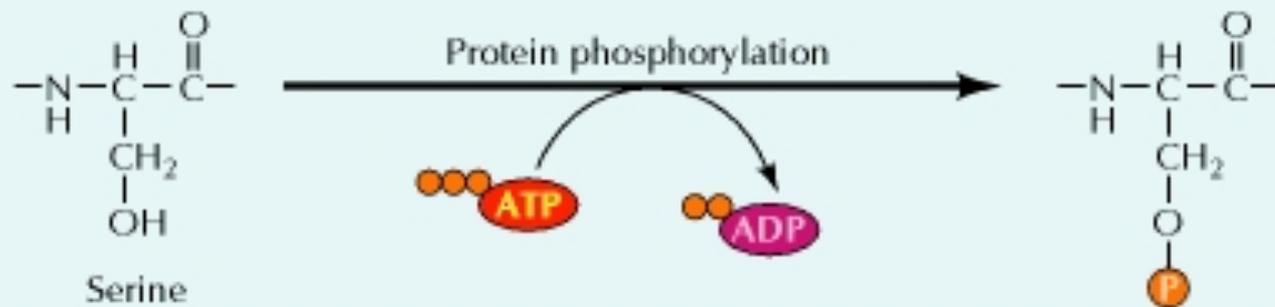
Cu ²⁺	Cytochrome oxidase
Fe ²⁺ or Fe ³⁺	Cytochrome oxidase, catalase, peroxidase
K ⁺	Pyruvate kinase
Mg ²⁺	Hexokinase, glucose 6-phosphatase, pyruvate kinase
Mn ²⁺	Arginase, ribonucleotide reductase
Mo	Dinitrogenase
Ni ²⁺	Urease
Se	Glutathione peroxidase
Zn ²⁺	Carbonic anhydrase, alcohol dehydrogenase, carboxypeptidases A and B

Las coenzimas sirven como reactivos en la transferencia de grupos

Vitamin	Coenzyme	Typical reaction type	Consequences of deficiency
Thiamine (B ₁)	Thiamine pyrophosphate	Aldehyde transfer	Beriberi (weight loss, heart problems, neurological dysfunction)
Riboflavin (B ₂)	Flavin adenine dinucleotide (FAD)	Oxidation–reduction	Cheliosis and angular stomatitis (lesions of the mouth), dermatitis
Pyridoxine (B ₆)	Pyridoxal phosphate	Group transfer to or from amino acids	Depression, confusion, convulsions
Nicotinic acid (niacin)	Nicotinamide adenine dinucleotide (NAD ⁺)	Oxidation–reduction	Pellagra (dermatitis, depression, diarrhea)
Pantothenic acid	Coenzyme A	Acyl–group transfer	Hypertension
Biotin	Biotin–lysine complexes (biocytin)	ATP-dependent carboxylation and carboxyl–group transfer	Rash about the eyebrows, muscle pain, fatigue (rare)
Folic acid	Tetrahydrofolate	Transfer of one-carbon components; thymine synthesis	Anemia, neural-tube defects in development
B ₁₂	5'-Deoxyadenosyl cobalamin	Transfer of methyl groups; intramolecular rearrangements	Anemia, pernicious anemia, methylmalonic acidosis
C (ascorbic acid)		Antioxidant	Scurvy (swollen and bleeding gums, subdermal hemorrhages)

Mecanismos de regulación enzimática

- **Regulación alostérica:** reversible, cambio conformacional, generalmente multiméricas, retroalimentación por producto formado.
- **Modificación covalente:** fosforilación, ADP-ribosilación, metilación, ubiquitinación, sumolización.
- **Activación o desactivación por clivaje:** zimógenos, cascadas de activación, inactivación.



¿Cómo les asignamos un nombre a las enzimas?

1-Nombre recomendado: corto y apropiado para su uso coloquial, por ej. Creatin-quinasa.

2-Nombre sistemático: identifica la reacción que cataliza, por ejemplo ATP-creatinfosfotransferasa.

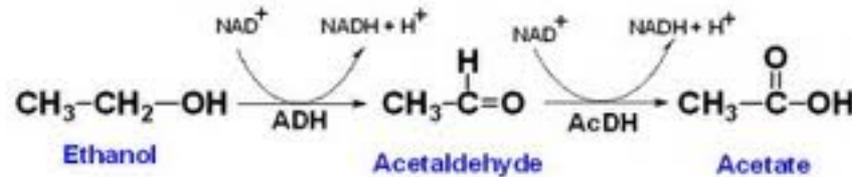
3-Número de clasificación: asignado por convenciones internacionales de especialistas que se utilizan como identificador inequívoco, por ej. en publicaciones científicas, EC2.7.3.2

- 1. **Oxidoreductasas** (catalizan oxidaciones y reducciones)
- 2. **Transferasas** (catalizan la transferencia de restos con grupos glucosidos, metilos, fosfatos)
- 3. **Hydrolasas** (catalizan la ruptura hidrolítica de $C-C$, $C-O$, $C-N$, y *otros tipos de uniones*)
- 4. **Liasas** (catalizan la ruptura de enlaces $C-C$, $C-O$, $C-N$, y otros tipos de uniones por eliminación de un átomo dejando un doble enlace.
- 5. **Isomerasas** (catalizan cambios geométricos o estructurales dentro de una misma molécula)
- 6. **Ligasas** (catalizan la unión de dos moléculas acoplada a la hidrólisis del ATP)

- Según la IUB el nombre de la hexoquinasa es:
- ATP:D-hexose 6-phosphotransferase E.C. 2.7.1.1. Este nombre identifica a la hexoquinasa como un miembro de la clase 2 (transferasas), subclase 7 (transferasas de grupos fosfato), sub-subclase 1 (alcohol es el aceptor del fosfato), y "hexose-6" indica el alcohol fosforilado es en el carbono 6 de la hexosa.

Las enzimas se clasifican según el tipo de reacción en que intervengan

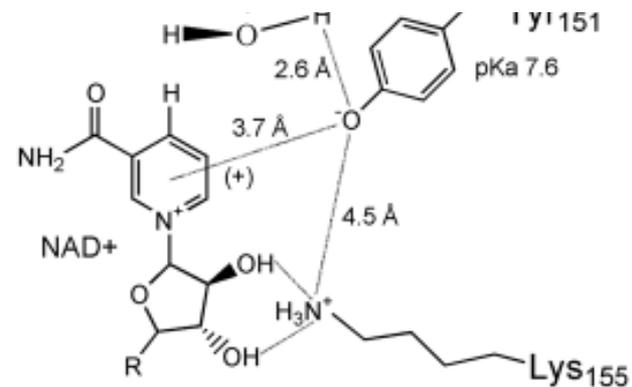
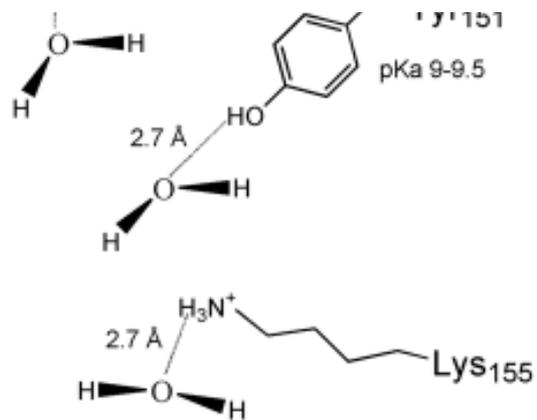
- **1. Oxidoreductasas** (catalizan oxidaciones y reducciones)



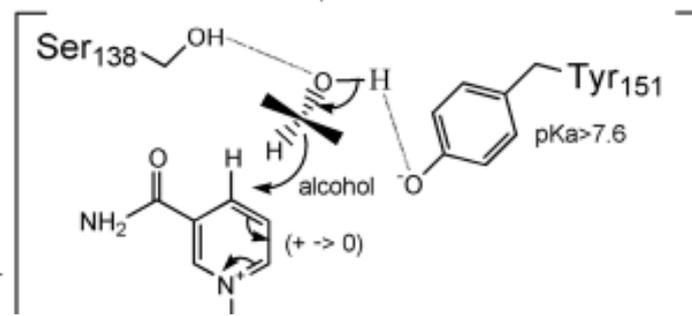
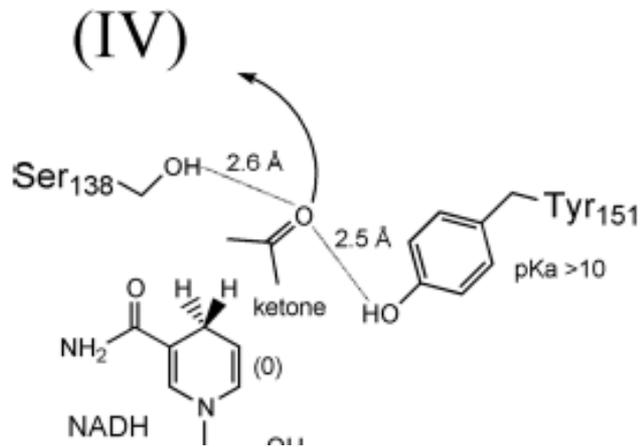
La alcohol deshidrogenasa (ADH) (EC 1.1.1.1) es una enzima descubierta a mediados de los años 1960 en la mosca *Drosophila melanogaster* y es un dímero con un peso molecular de 80 kDa. Las alcohol deshidrogenasas son un grupo de siete enzimas que están frecuentemente presentes en muchos organismos y facilitan la interconversión entre alcoholes y aldehídos o cetonas con la reducción de NAD^+ a NADH .

Como cofactores en la reacción es posible la utilización de zinc o hierro dependiendo del tipo de alcohol deshidrogenasa.

En los humanos y muchos otros animales, sirven para eliminar alcoholes que podrían ser tóxicos; en las levaduras y muchas bacterias, algunas alcohol deshidrogenasas catalizan la reacción opuesta como parte de la fermentación alcohólica.

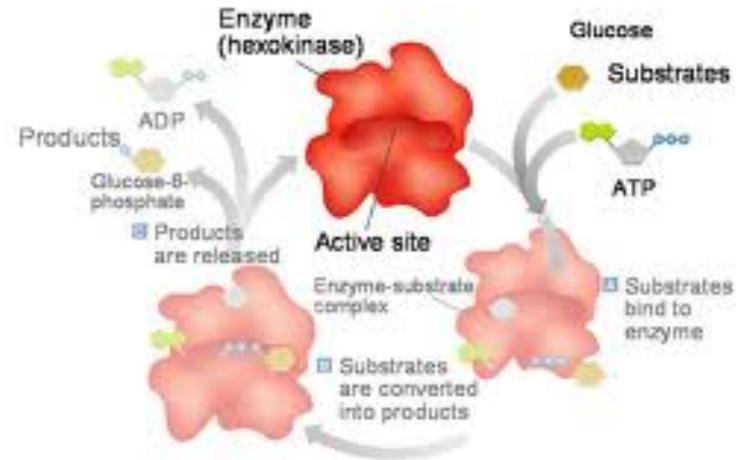
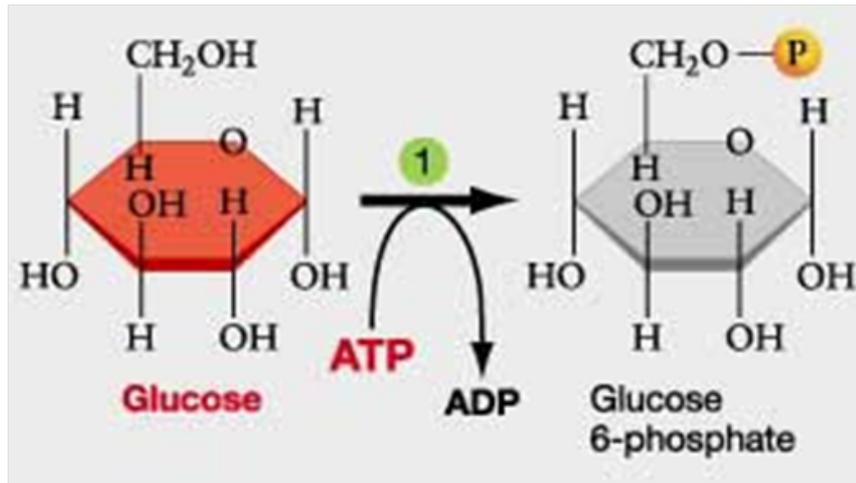


(III)



Las enzimas se clasifican según el tipo de reacción en que intervengan

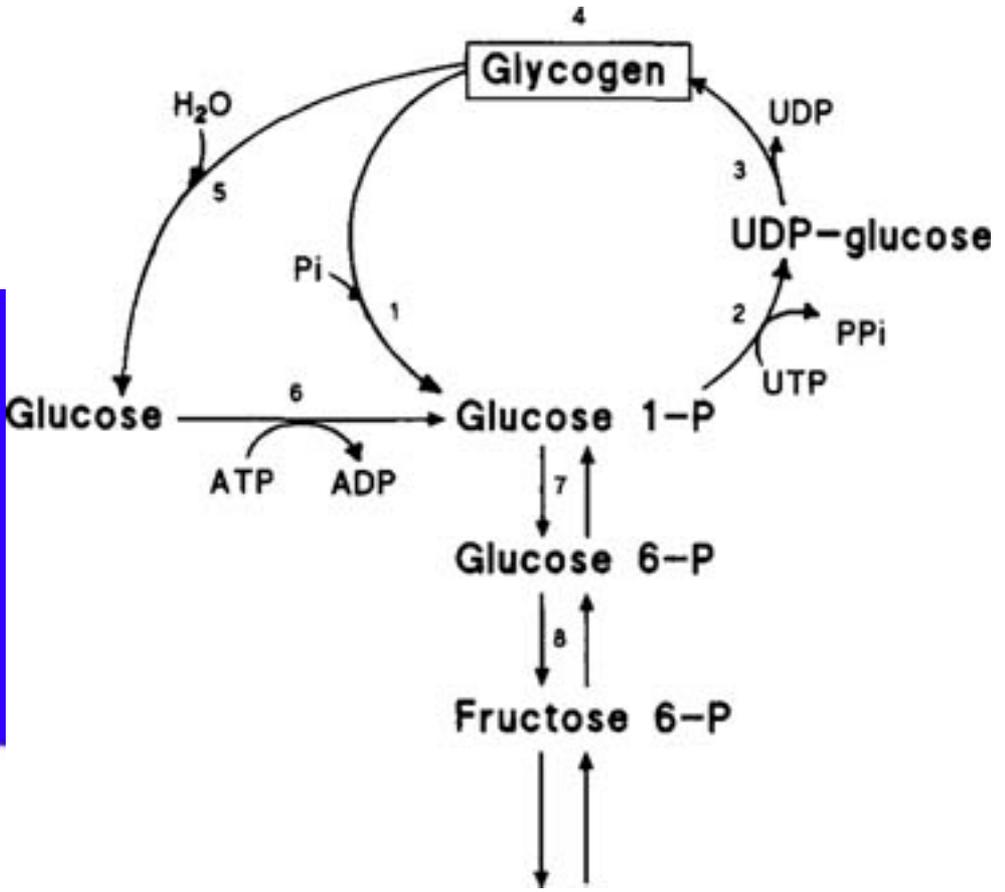
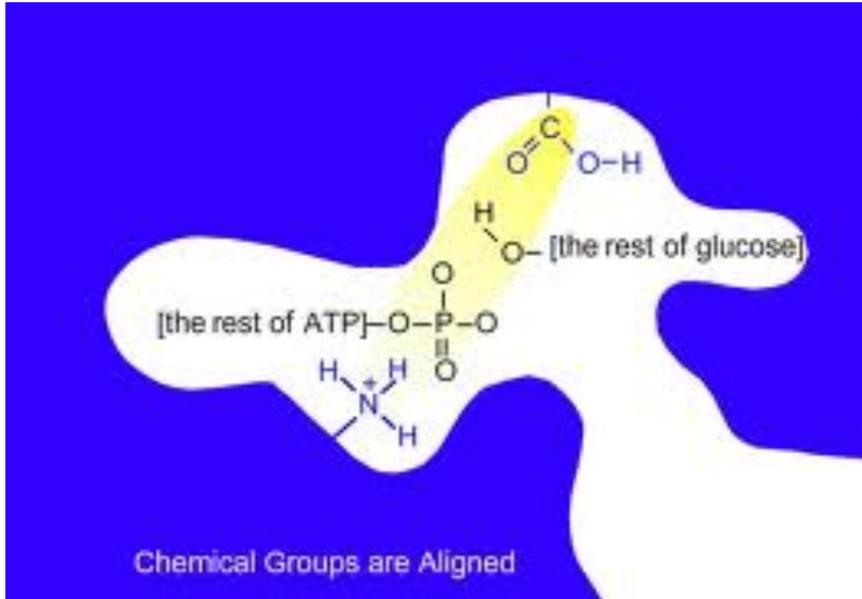
- 2. **Transferasas** (catalizan la transferencia de restos con grupos glucosidos, metilos, fosfatos)



Las hexoquinasas son un grupo de enzimas del tipo quinasa, que pueden transferir un grupo fosfato desde una molécula de "alta energía" a otra, que actuará como aceptora de este fosfato, denominada sustrato. Ésta transferencia se denomina fosforilación.

Por otra parte, el prefijo hexo indica que esta enzima puede fosforilar a cualquier hexosa (un monosacárido - azúcar- como la glucosa o fructosa), por tanto, es una enzima de baja especificidad.

Su rol en la célula es variado, sin embargo se encuentra asociada mayormente al metabolismo celular, y específicamente, el rol de mayor importancia se encuentra en la glucólisis, dónde esta enzima fosforila a una molécula de glucosa, a partir de ATP, con lo cual se inicia la vía principal de metabolismo de azúcares, esto es, el camino principal por dónde los seres vivos obtienen energía a partir de éstos compuestos.



Las enzimas se clasifican según el tipo de reacción en que intervengan

- 3. **Hydrolasas** (catalizan la ruptura hidrolítica de $C-C$, $C-O$, $C-N$, y otros tipos de uniones)
- EC 3.1: Actúan sobre enlaces éster. (Esterasas, nucleasas, fosfodiesterasas, lipasas, fosfatasas)
- EC 3.2: Glicosilasas.
- EC 3.3: Actúan sobre enlaces éter.
- EC 3.4: Actúan sobre enlaces peptídicos. (Peptidasas)
- EC 3.5: Actúan sobre enlaces carbono-nitrógeno no peptídicos.
- EC 3.6: Actúan sobre los anhídridos de los ácidos. (Helicasas, GTPasa)
- EC 3.7: Actúan sobre los enlaces carbono-carbono.
- EC 3.8: Actúan sobre los enlaces haluro.
- EC 3.9: Actúan sobre los enlaces fósforo-nitrógeno.
- EC 3.10: Actúan sobre los enlaces azufre-nitrógeno.
- EC 3.11: Actúan sobre los enlaces carbono-fósforo.
- EC 3.12: Actúan sobre los enlaces azufre-azufre.
- EC 3.13: Actúan sobre los enlaces carbono-azufre.

Las enzimas se clasifican según el tipo de reacción en que intervengan

- 3. **Hidrolasas** (catalizan la ruptura hidrolítica de $C-C$, $C-O$, $C-N$, y otros tipos de uniones)
- La lipasa es una enzima ubicua que se usa en el organismo para disgregar las grasas de los alimentos de manera que se puedan absorber. Su función principal es catalizar la hidrólisis de triacilglicerol a glicerol. Las lipasas se encuentran en gran variedad de seres vivos.

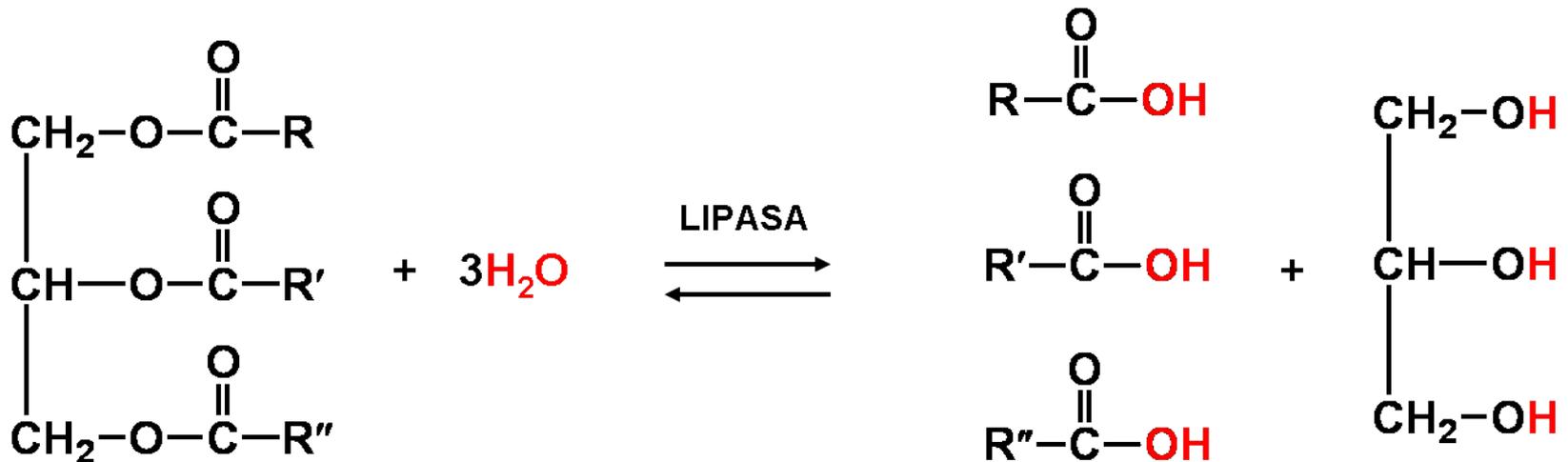
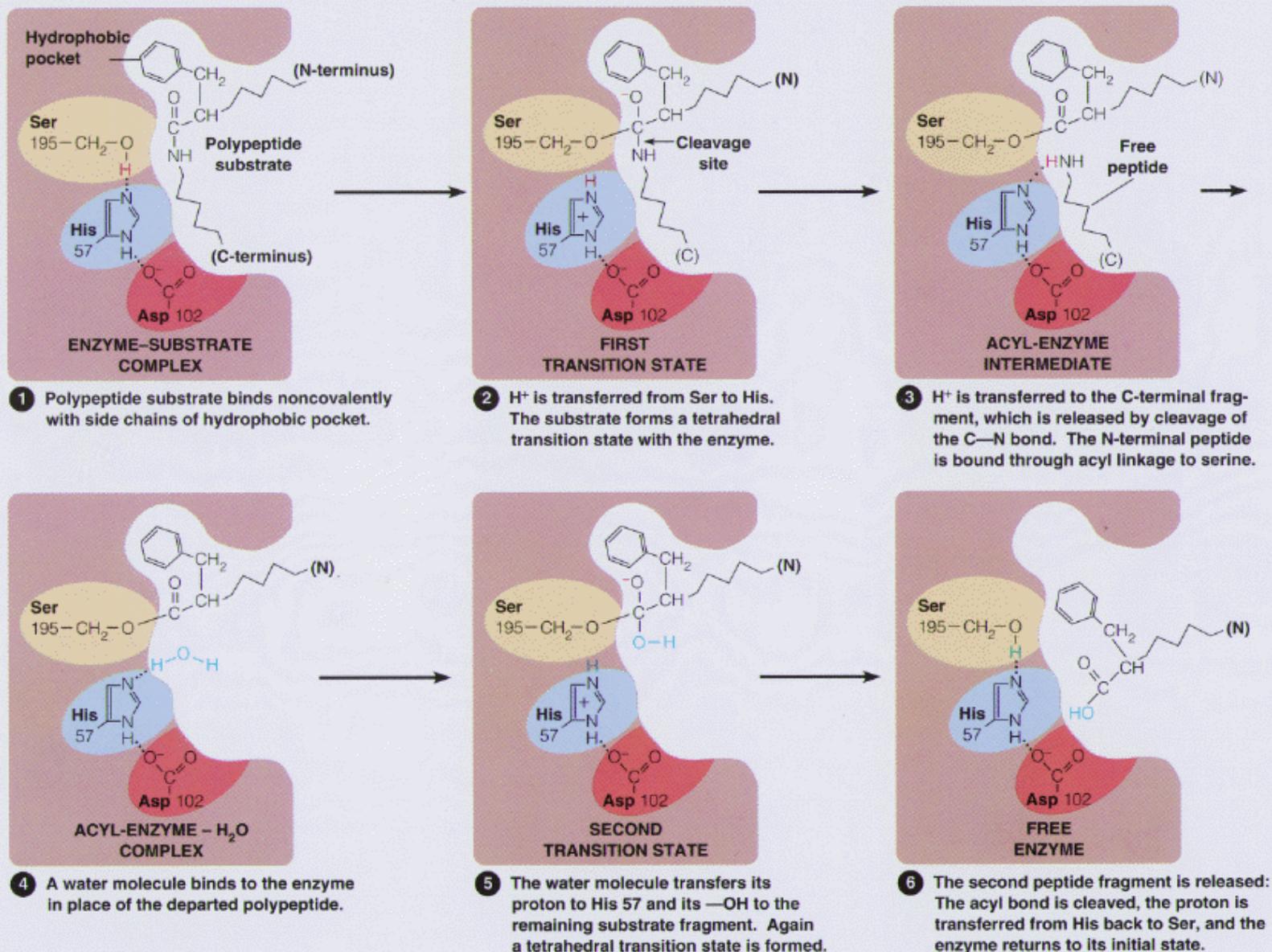


Figure 11.13 Catalysis of peptide bond hydrolysis by chymotrypsin

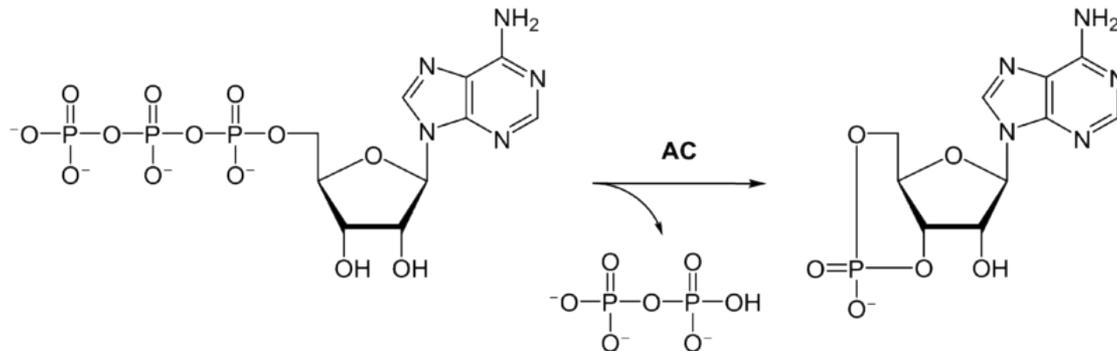


Las enzimas se clasifican según el tipo de reacción en que intervengan

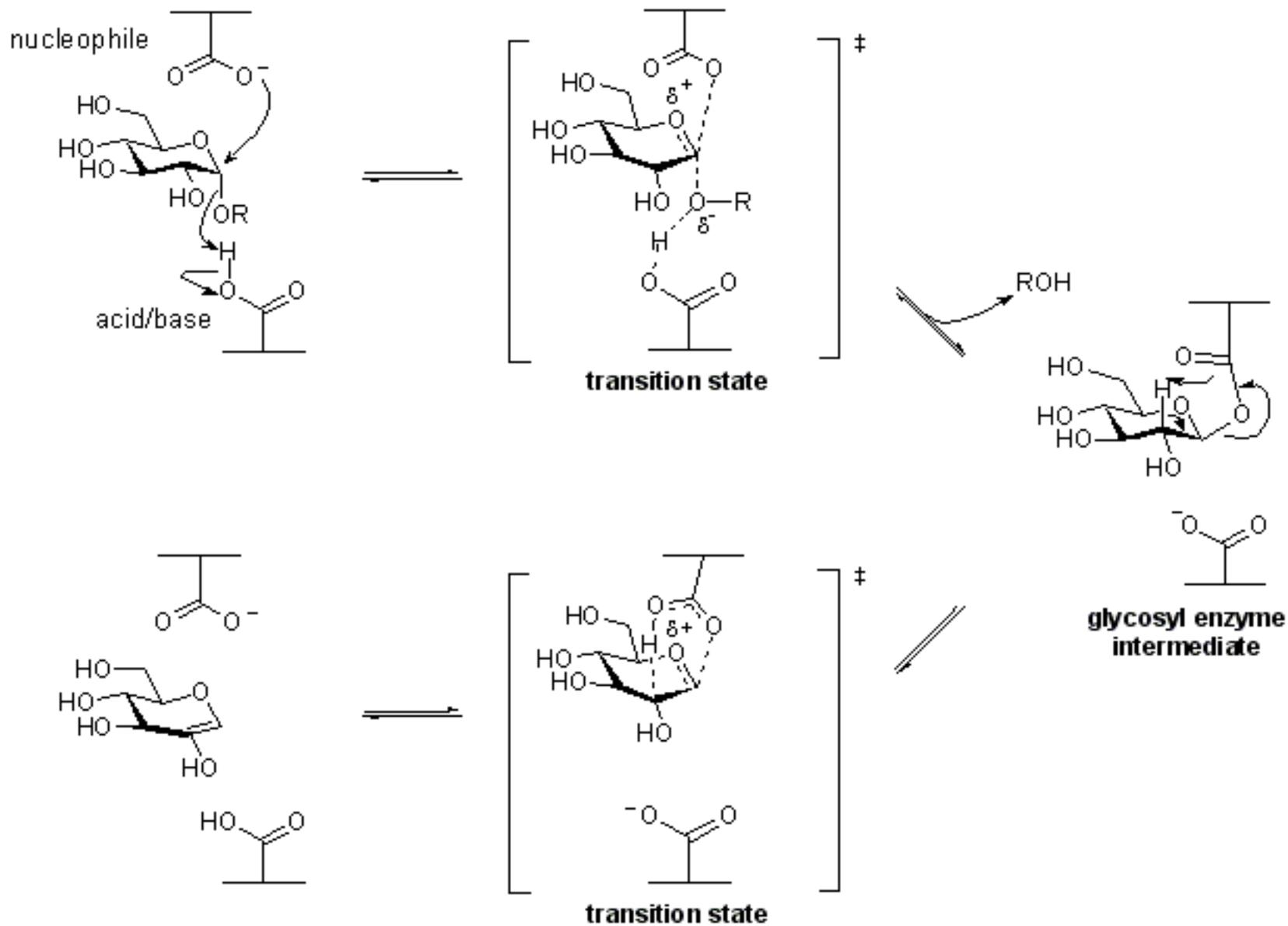
- **4. Liasas** (catalizan la ruptura de enlaces C—C, C—O, C—N, y otros tipos de uniones por eliminación de un átomo dejando un doble enlace).
- En bioquímica, una liasa es una enzima que cataliza la ruptura de enlaces químicos en compuestos orgánicos por un mecanismo distinto a la hidrólisis o la oxidación, reacciones que son realizadas por enzimas específicas llamadas hidrolasas y deshidrogenasas respectivamente. Resultado del proceso de ruptura se forman frecuentemente nuevos dobles enlaces o nuevas estructuras en anillo.
- Los nombres sistemáticos de estas enzimas son "substrato grupo liasa". Los nombres comunes incluyen descarboxilasas, deshidratasas, aldolasas, etc
- EC 4.1, incluye enzimas que rompen enlaces carbono-carbono como las descarboxilasas (EC 4.1.1), aldehído liasas (EC 4.1.2), oxoácido liasas (4.1.3) y otros (4.1.99).
- EC 4.2, incluye enzimas que rompen enlaces carbono-oxígeno como las deshidratasas.
- EC 4.3, incluye enzimas que rompen enlaces carbono-nitrógeno.
- EC 4.4, incluye enzimas que rompen enlaces carbono-azufre.
- EC 4.5, incluye enzimas que rompen enlaces carbono-halógeno.
- EC 4.6, incluye enzimas que rompen enlaces carbono-fósforo como la adenilato ciclasa y la guanilato ciclasa.
- EC 4.99, incluye otros tipos de liasas como la ferroquelatasa.

Las enzimas se clasifican según el tipo de reacción en que intervengan

- 4. **Liasas** (catalizan la ruptura de enlaces C—C, C—O, C—N, y otros tipos de uniones por eliminación de un átomo dejando un doble enlace).



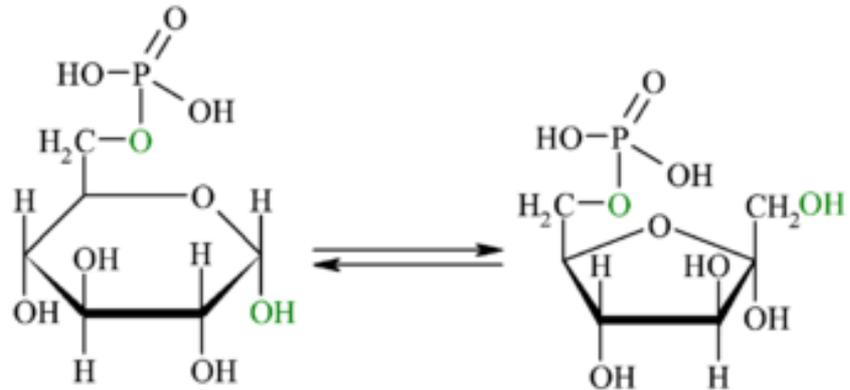
Adenilato ciclasa cataliza la conversión de ATP a AMPc, una importante molécula en la transducción de la señal en eucariotas, conocida como un segundo mensajero, y pirofosfato:

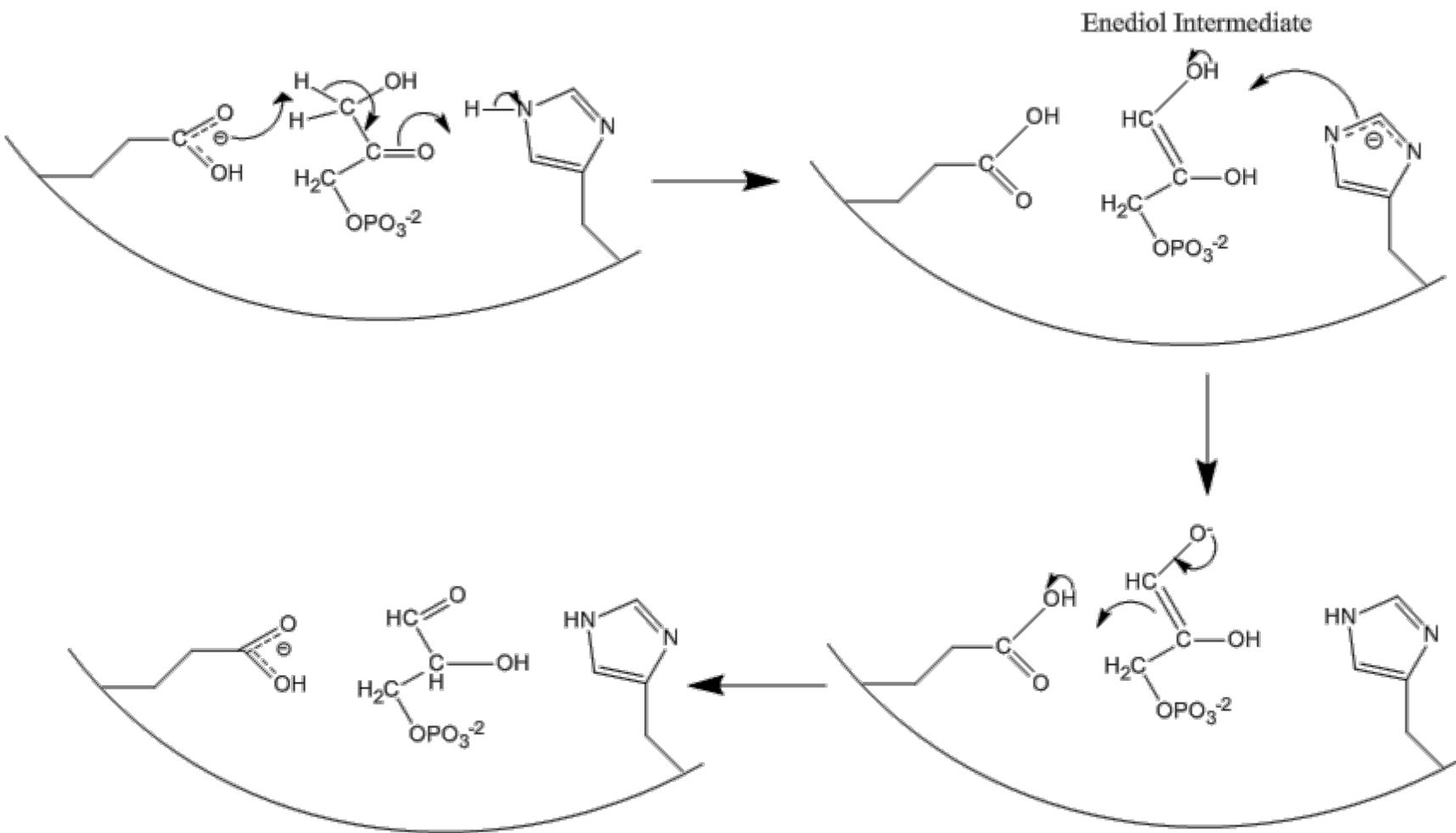


Las enzimas se clasifican según el tipo de reacción en que intervengan

- **5. Isomerasas** (catalizan cambios geométricos o estructurales dentro de una misma molécula)
- En bioquímica, una enzima isomerasa es una enzima que transforma un isómero de un compuesto químico en otro. Podrá, por ejemplo, transformar una molécula de glucosa en una de galactosa.
- Son isómeros dos cuerpos químicos que tienen la misma fórmula molecular pero unas características distintas debido a la organización diferente de los átomos en la molécula.

La glucosa-6-fosfato isomerasa es una enzima, presente en gran parte de los seres vivos; cataliza la reacción reversible de glucosa-6-fosfato a fructosa-6-fosfato. En el citoplasma, forma parte de las rutas metabólicas de la glucólisis y la gluconeogénesis, y en la matriz extracelular funciona como factor neurotrófico para cierto tipo de neuronas.

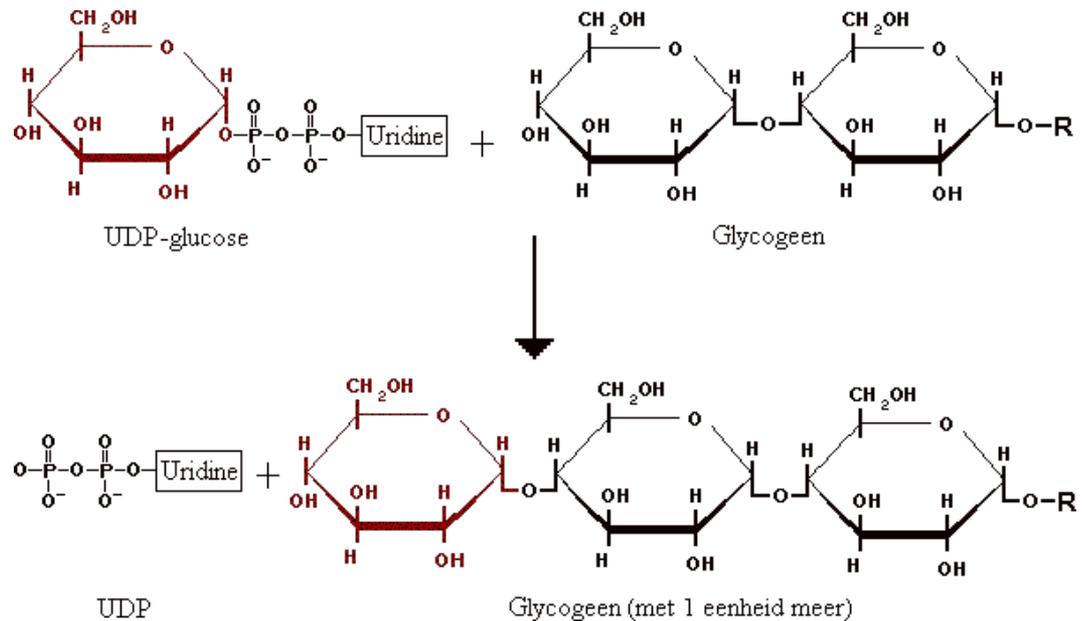


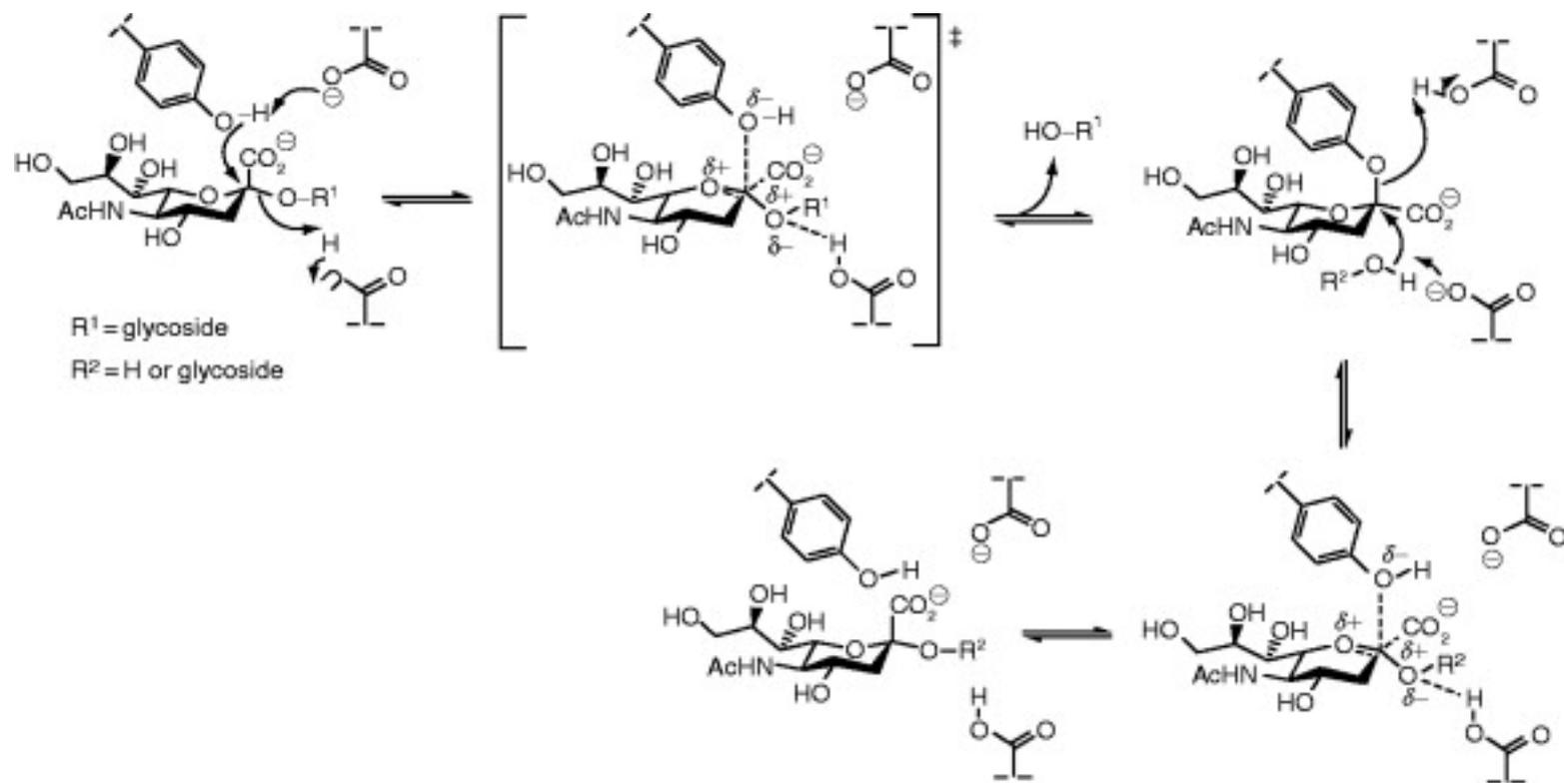


Las enzimas se clasifican según el tipo de reacción en que intervengan

- **6. Ligasas** (catalizan la unión de dos moléculas acoplada a la hidrólisis del ATP)
- Una ligasa (del latín ligar "pegar") es una enzima capaz de catalizar la unión entre dos moléculas de gran tamaño, dando lugar a un nuevo enlace químico; generalmente, sucede junto con la hidrólisis de un compuesto de alta energía, como el ATP, que proporciona energía para que dicha reacción tenga lugar.
- Otros nombres comunes para llamar a las ligasas son: sintetasa, porque es usada para sintetizar nuevas moléculas, o carboxilasa cuando son usadas para añadir dióxido de carbono a una molécula.

Glucógeno sintasa es una enzima que participa en la síntesis de glucógeno. Esta enzima está regulada de forma alostérica a través del AMPc.





LAS ISOENZIMAS SON DISTINTAS ENZIMAS QUE CATALIZAN LA MISMA REACCION

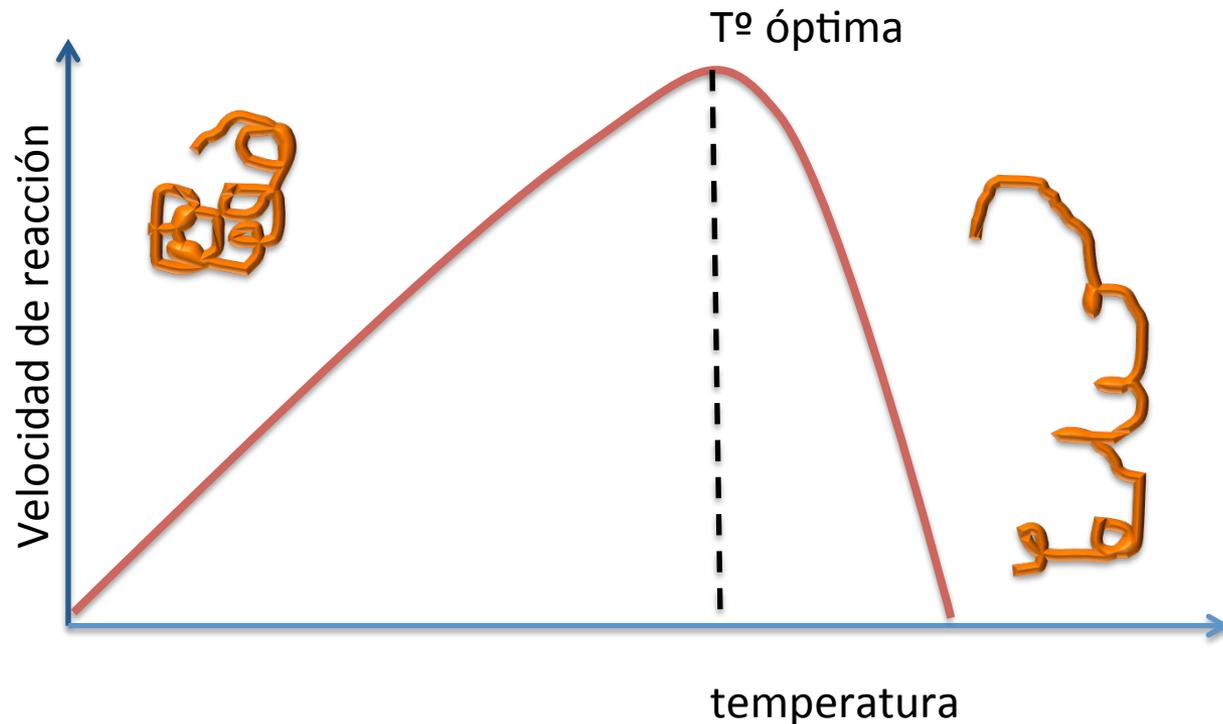
- Los organismos superiores frecuentemente poseen distintas versiones de la misma enzima, cada una de las cuales **cataliza la misma reacción**.
- Como miembros de otras familias de proteínas, estas isoenzimas **provienen de la duplicación génica**.
- Las isoenzimas pueden mostrar **diferencias** sutiles en propiedades tales como la sensibilidad a determinados **factores regulatorios o afinidad por el sustrato** (por ejemplo hexoquinasa y glucoquinasa) que se adaptan a determinados tejidos o circunstancias.
- Algunas isoenzimas pueden también aumentar su supervivencia ya que proveen copias de reserva para enzimas esenciales.

. Efecto del pH y la temperatura.

- Factores que afectan la velocidad de reacción
- El aumento de temperatura aumenta la energía cinética de las moléculas y la frecuencia de colisión de las moléculas reactantes.

Temperatura

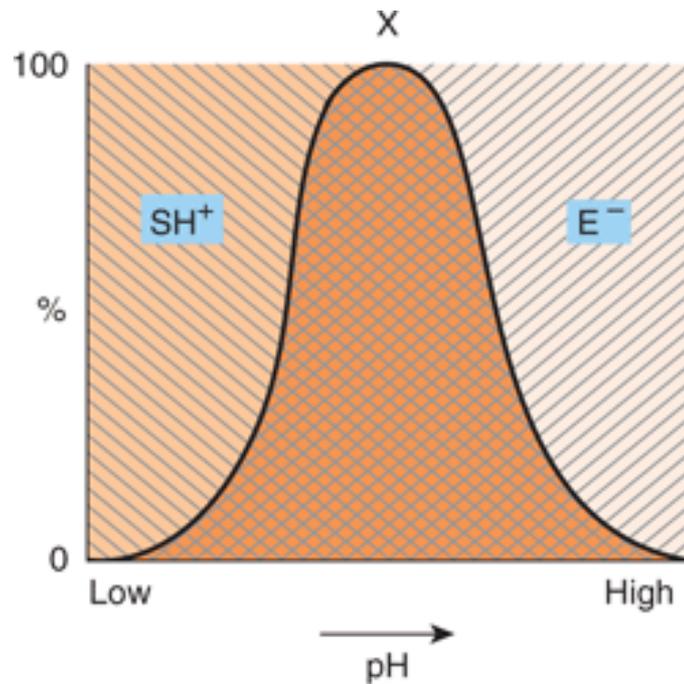
- Sin embargo, la energía calórica también aumenta la energía cinética de la enzima a tal punto que disuelve las interacciones no covalentes que mantienen la estructura tridimensional. La cadena polipeptídica que comienza desdoblarse, o se desnatura, con la consecuente pérdida de actividad.
- El **Q10, o coeficiente de temperatura**, es el factor por el cual la velocidad del proceso biológico aumenta cada 10°C de aumento de la temperatura.



Concentración de ión hidrógeno

- La velocidad a la cual se llevan a cabo las reacciones biológicas presentan una gran dependencia a la presencia del ión hidrógeno, refleja el balance entre la enzima desnaturalizada a altos y bajos pH y el efecto del estado de carga de la enzima, el sustrato o ambos.
- La mayoría de las enzimas intracelulares exhiben una actividad óptima a valores de pH de entre 5 y 9
- Los grupos cargados comúnmente son los grupos carboxilos (negativos) y aminas protonadas (positivos). La ganancia o pérdida de grupos cargados críticos para la actividad, afectan adversamente la unión del sustrato con la consecuente pérdida o disminución de la actividad

Concentración de ión hidrógeno



Source: Murray RK, Bender DA, Botham KM, Kennelly PJ, Rodwell VW, Weil PA: *Harper's Illustrated Biochemistry, 28th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>

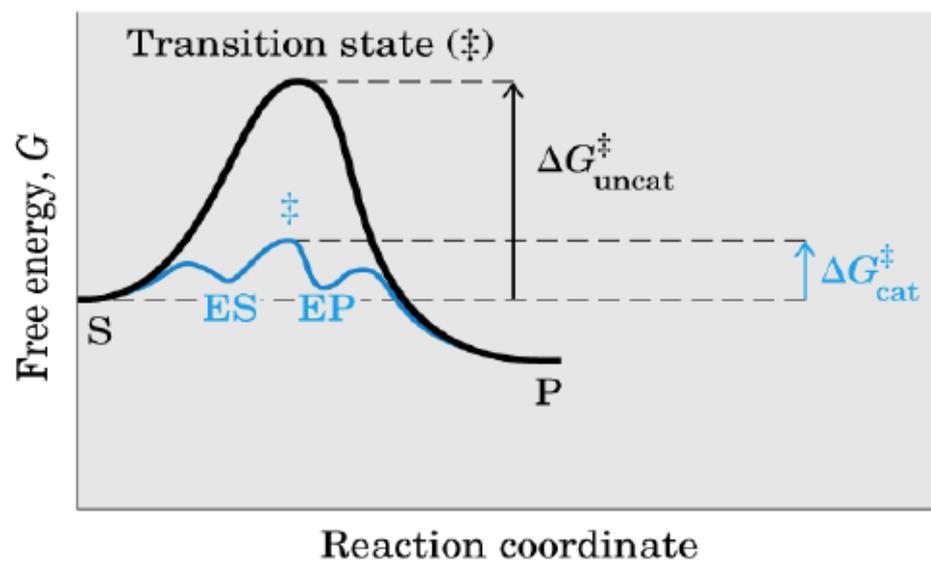
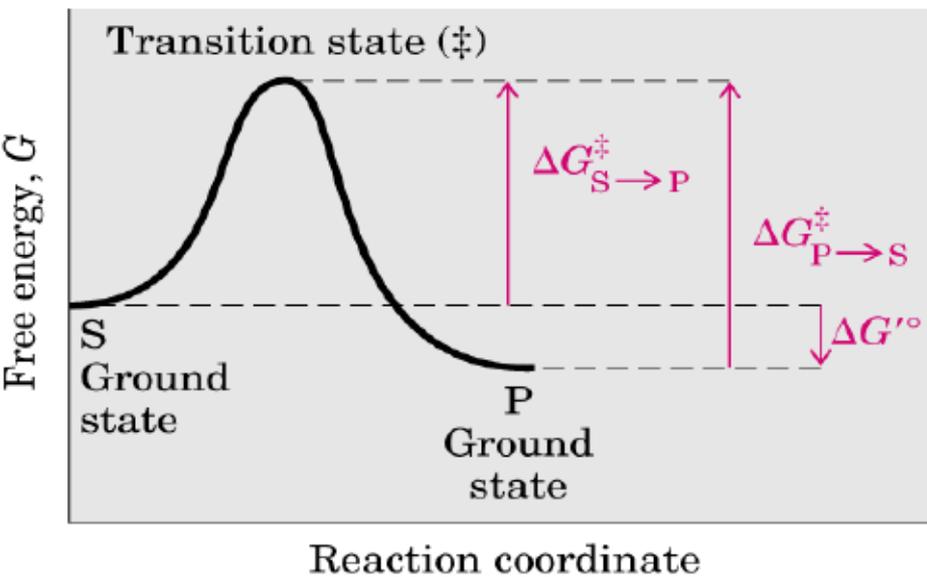
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

Cinética enzimática

- La **cinética enzimática** es el campo de la bioquímica que se ocupa de la medición cuantitativa de las reacciones de catálisis enzimática y del estudio de los factores que las afectan.
- Un grupo completo y balanceado de actividades enzimáticas es de fundamental importancia para mantener la homeostasis.
- Es por eso que la cinética enzimática es importante para entender como condiciones fisiológicas estresantes como la anoxia, acidosis alcalosis metabólica, toxinas y agentes farmacológicos afectan tal balance.
- El análisis cinético puede revelar el número y el orden de pasos individuales para que las enzimas transformen sustratos en productos.
- Junto con la mutagénesis directa y otras técnicas que prueban estructuras proteicas, el análisis cinético puede mostrar detalles del mecanismo de catálisis de una determinada enzima.

Cinética enzimática

- La participación de las enzimas en virtualmente todos los procesos fisiológicos los convierten en blancos de elección para la utilización de drogas que curan o disminuyen enfermedades humanas, agentes de uso industrial o ecológicos.
- La cinética enzimática aplicada representa la principal herramienta por la cual los científicos identifican y caracterizan agentes que selectivamente inhiben la eficiencia de los procesos catalizados por enzimas o las utilizan para otros beneficios.
- Es por eso que la cinética enzimática cumple un papel central y crítico en el descubrimiento de nuevas drogas y para la comparación farmacodinámica, así como también para elucidar el modo de acción de determinadas drogas, agroquímicos, agentes de uso cosmético o de limpieza y también como agentes biológicos utilizados para preservar la naturaleza.



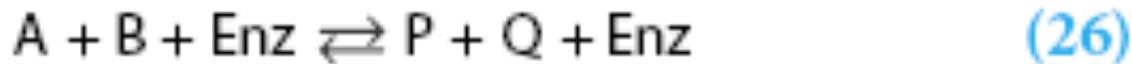
Las **enzimas** disminuyen la barrera de la energía de activación para determinada reacción.

- Todas las enzimas aceleran la velocidad de reacción mediante la disminución de la energía de formación GF para la formación de los estados de transición.
- **El ambiente del sitio activo** disminuye la energía de formación mediante la estabilización de los intermediarios de transición.
- La estabilización puede darse por :
 1. La posición de grupos ácido base disponibles para la transferencia de protones o el desarrollo de un estado de transición intermedio.
 2. La disposición de grupos cargados o iones metálicos que estabilizan las cargas desarrolladas.
 3. Ó por la disposición de los sustratos dentro de la cadena ya que su geometría permite la aproximación para el estado de transición.

Las enzimas no afectan la constante de equilibrio K_{eq}

- Si bien las enzimas pueden sufrir modificaciones transitorias durante el proceso de catálisis, siempre terminan intactas después que se completa la reacción.
- **ΔG^0 para la reacción final**, es función exclusivamente de los reactantes de las etapas iniciales y finales de la reacción

$$\Delta G^0 = -RT \ln K_{eq} \quad (25)$$



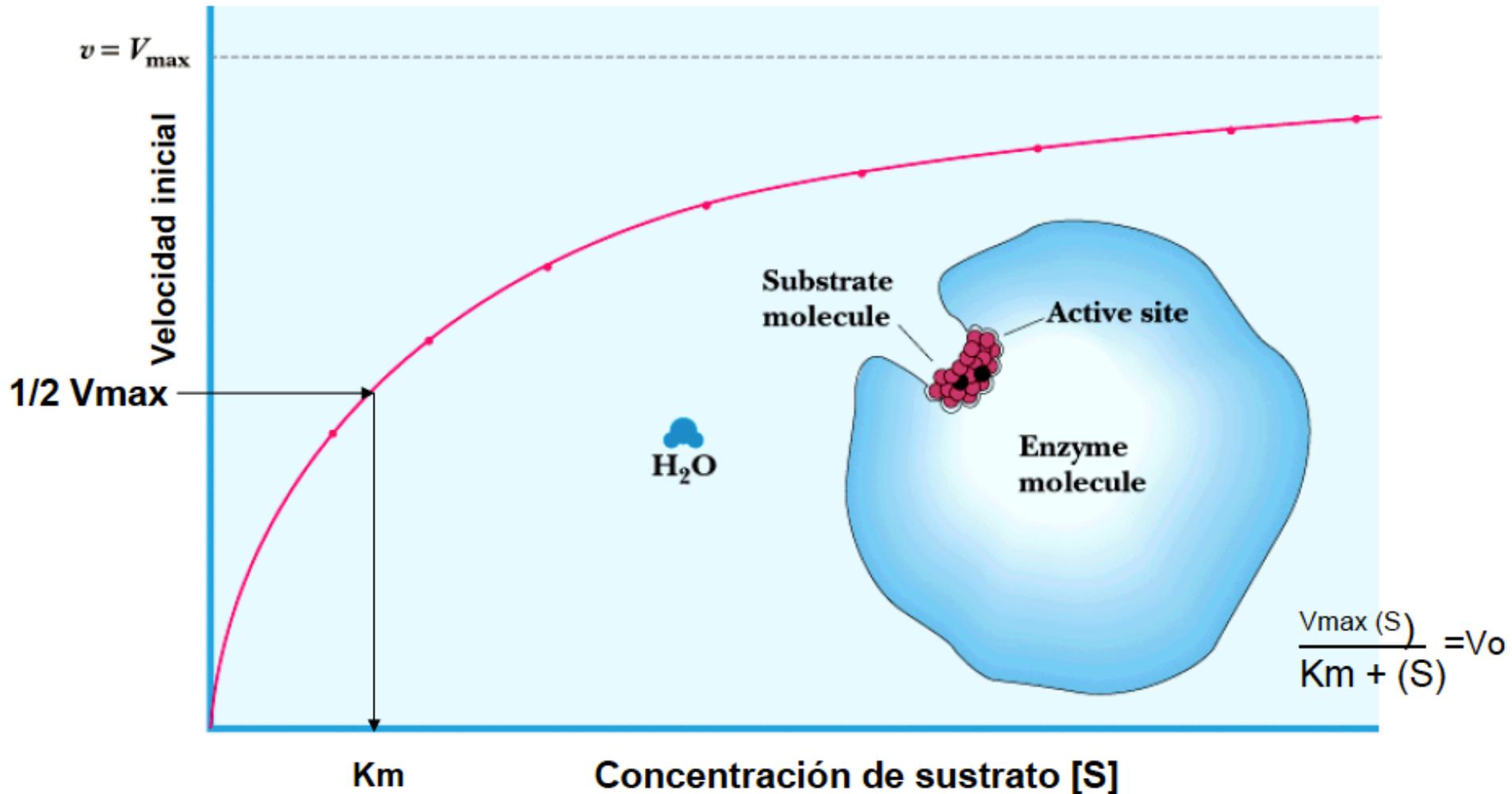
$$K_{eq} = \frac{[P][Q][\text{Enz}]}{[A][B][\text{Enz}]} \quad (27)$$

$$K_{eq} = \frac{[P][Q]}{[A][B]} \quad (28)$$

Los ensayos de las reacciones enzimáticas generalmente miden la velocidad inicial.

- La mayoría de las mediciones de la velocidad de las reacciones catalizadas por enzimas emplean períodos cortos y condiciones que se aproximan a **la velocidad inicial**.
- Bajo estas condiciones solo se acumulan trazas del producto, permitiendo que la **reacción inversa sea despreciable**.
- La velocidad inicial **V_0** de la reacción es por eso esencialmente la misma de la reacción que continúa .
- Los ensayos de la actividad enzimática siempre utilizan un exceso de sustrato respecto de la enzima (10^3 – 10^7 molar). Bajo estas condiciones, **V_0 es proporcional a la concentración de la enzima**.
- Midiendo la velocidad inicial entonces nos permite **estimar la cantidad de enzima presente en una muestra biológica**.

La concentración del sustrato afecta la velocidad de reacción



La ecuación de Michaelis-Menten muestra el efecto de la concentración de sustrato

$$v_i = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]} \quad (29)$$



1. Cuando $[S]$ es mucho menor que K_m , el término $K_m + [S]$ es esencialmente equivalente a K_m . Si $K_m + [S]$ por K_m reducimos la ecuación a (29)

$$v_i = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]} \quad v_i = \frac{V_{\max} [S]}{K_m} = \left(\frac{V_{\max}}{K_m} \right) [S] \quad (30)$$

En donde significa que es “aproximadamente igual a”. Debido a que V_{\max} y K_m son ambas constantes, su proporción es constante también. En otras palabras, cuando $[S]$ es considerablemente menor que K_m , v_o es proporcional a $[S]$. La velocidad de la reacción inicial por lo tanto es proporcional a $[S]$.

La ecuación de Michaelis-Menten muestra el efecto de la concentración de sustrato

- **2. Cuando** $[S]$ es mucho mayor que K_m , entonces el término $K_m + [S]$ es esencialmente igual a $[S]$. Reemplazando $K_m + [S]$ por $[S]$ reduce la ecuación (29) a:

$$v_i = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]} \quad v_i = \frac{V_{\max} [S]}{[S]} = V_{\max} \quad (31)$$

Entonces, cuando $[S]$ excede significativamente K_m , la velocidad de la reacción es máxima y no es afectada por mayores concentraciones de sustrato.

La ecuación de Michaelis-Menten muestra el efecto de la concentración de sustrato

3. Cuando $[S] = K_m$ la ecuación (32) establece que cuando $[S]$ es igual a K_m , la velocidad inicial es la mitad del valor máximo. La ecuación (32) también muestra que k_m la concentración de sustrato a la cual la velocidad inicial es la mitad del valor máximo

$$v_i = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]} = \frac{V_{\max} [S]}{2[S]} = \frac{V_{\max}}{2} \quad (32)$$

En resumen, la ecuación de Michaelis Menten, es la **ecuación de la velocidad** para una reacción de **un solo sustrato** catalizada **enzimáticamente**.

La forma lineal de la ecuación de Michaelis-Menten se usa para determinar K_m & V_{max}

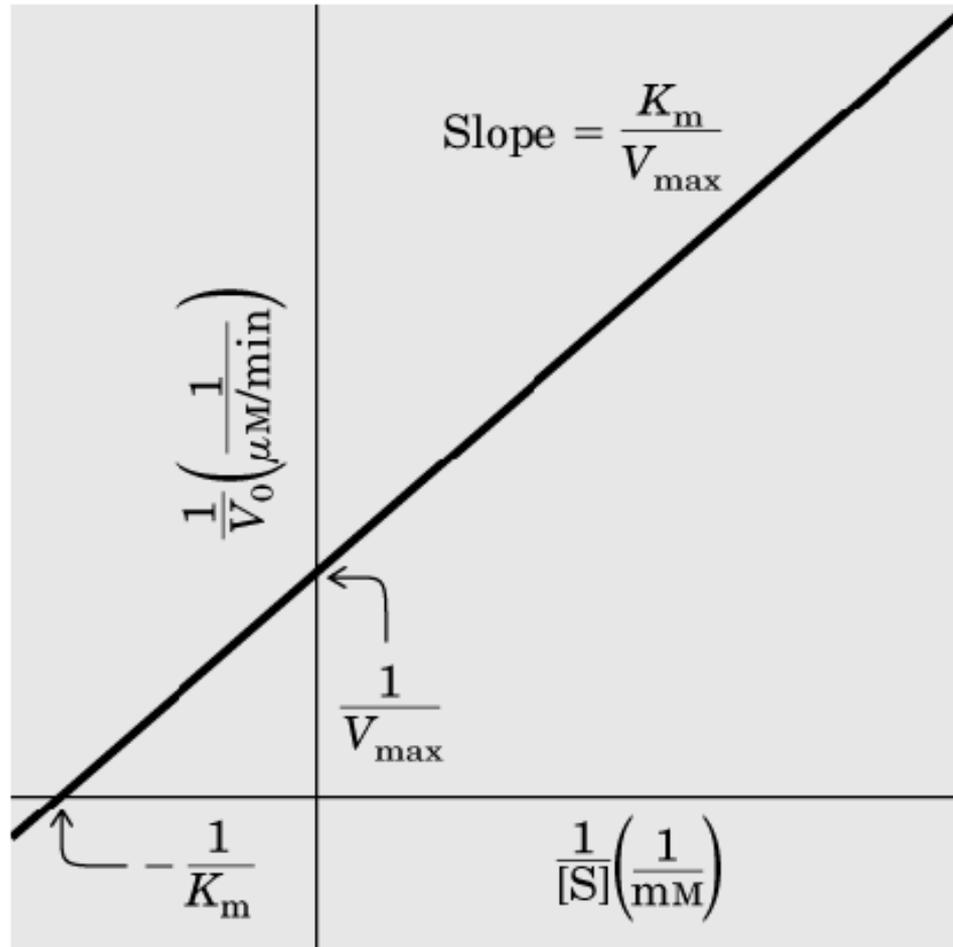
$$v_i = \frac{V_{max} [S]}{K_m + [S]} \quad (29)$$

$$\frac{1}{v_i} = \frac{K_m + [S]}{V_{max} [S]} \quad (33)$$

$$\frac{1}{v_i} = \frac{K_m}{V_{max} [S]} + \frac{[S]}{V_{max} [S]} \quad (34)$$

$$\frac{1}{v_i} = \left(\frac{K_m}{V_{max}} \right) \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}} \quad (35)$$

La doble recíproca o ecuación de Lineweaver-Burk o el gráfico de $1/v_i$ versus $1/[S]$ se usa para evaluar K_m y V_{max} .



El análisis cinético distingue entre la inhibición competitiva y no competitiva

- La estructura de los **inhibidores competitivos** más clásicos se parecen a la estructura del sustrato, por lo tanto se los denomina **análogos**.
- En la inhibición competitiva **el inhibidor se une a la parte del sitio activo** que une el sustrato. Por lo tanto bloquea la unión del sustrato .
- Los efectos de los inhibidores competitivos **pueden ser revertidos aumentando la concentración de sustrato**.

El análisis cinético distingue entre la inhibición competitiva y no competitiva



$$K_i = \frac{[E][I]}{[E + I]} = \frac{k_1}{k_{-1}} \quad (46)$$

Los inhibidores competitivos actúan disminuyendo el número de moléculas de enzima libre disponibles para unir el sustrato, por ejemplo para formar ES, y por lo tanto eventualmente forman productos tal como se describe a continuación:

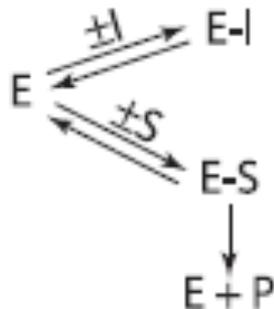
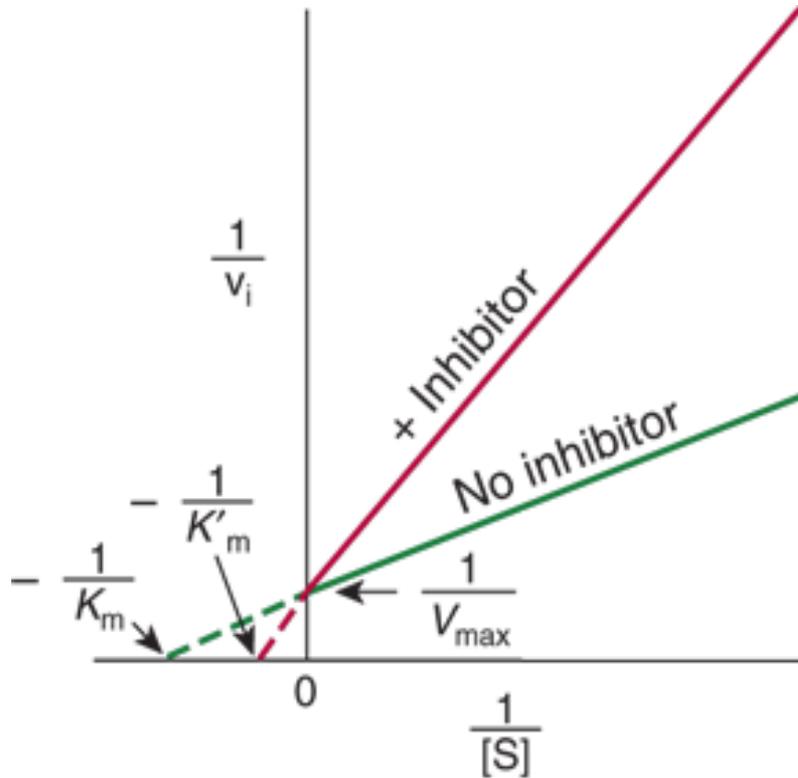


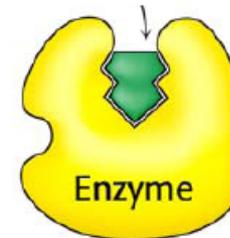
Gráfico de Lineweaver-Burk para inhibidores competitivos.

- La inhibición se revierte a altas [S], la velocidad max. es independiente de su presencia.
- Mientras menor es K_i , la inhibición es mas efectiva.
- El inhibidor competitivo no tiene efecto sobre la V_{max} , pero aumenta el k'_m .



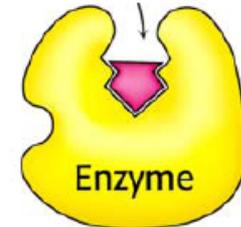
$$x = \frac{-1}{K_m} \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right) \quad (47)$$

Sustrato



Enzyme

Inhibidor competitivo



Enzyme

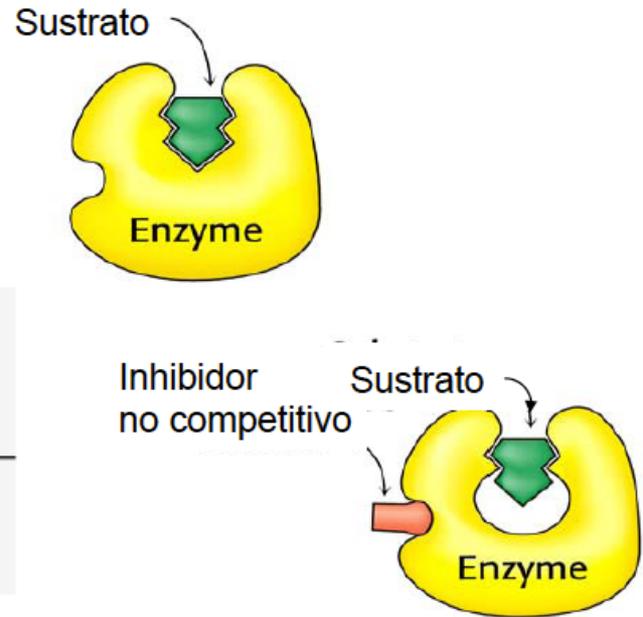
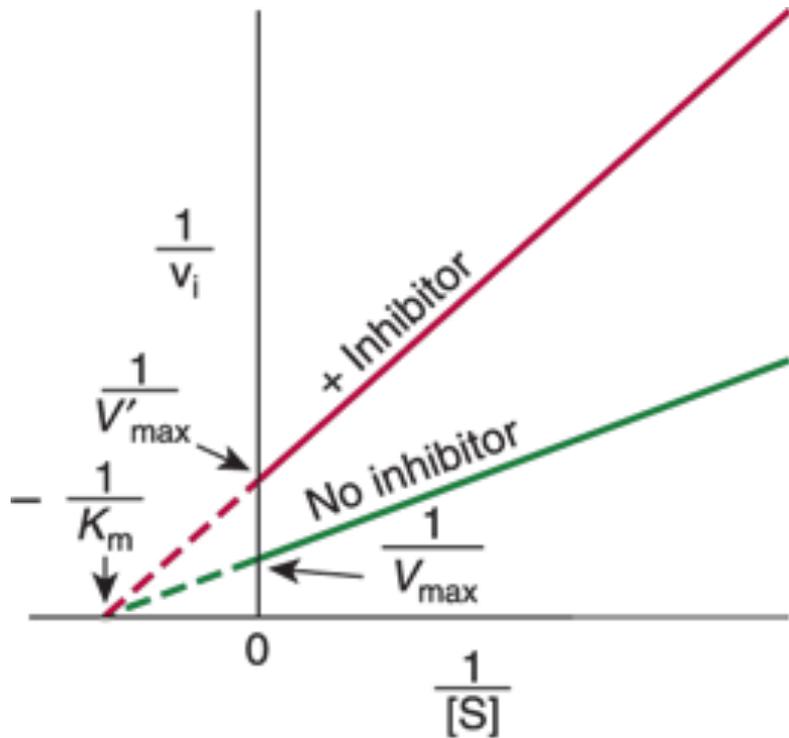
Source: Murray RK, Bender DA, Botham KM, Kennelly PJ, Rodwell VW, Weil PA: *Harper's Illustrated Biochemistry*, 28th Edition: <http://www.accessmedicine.com>

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

El análisis cinético distingue entre la inhibición competitiva y no competitiva

- Para los inhibidores **no competitivos**, la unión del inhibidor **no afecta la unión del sustrato**.
- Sin embargo, el complejo enzima- inhibidor puede unir el sustrato, esta eficiencia para transformar el sustrato en producto, se ve reflejado ya que la ***V_{max}***, ***disminuye***.
- Los inhibidores no competitivos **se unen a la enzima en sitios distinto al sitio de unión al sustrato** y generalmente no tienen semejanza estructural con el mismo.
- La **km no se ve modificada**.

Gráfico de Lineweaver-Burk para inibidores no competitivos.

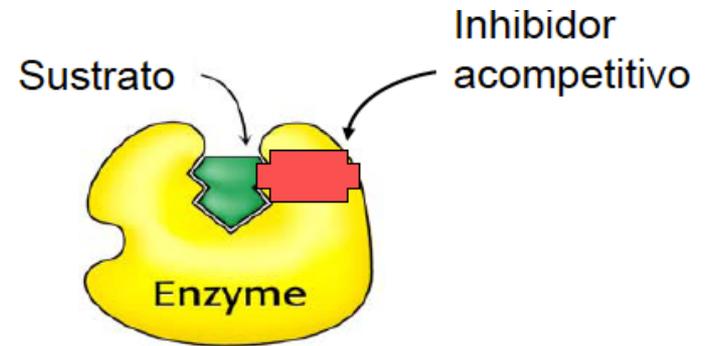
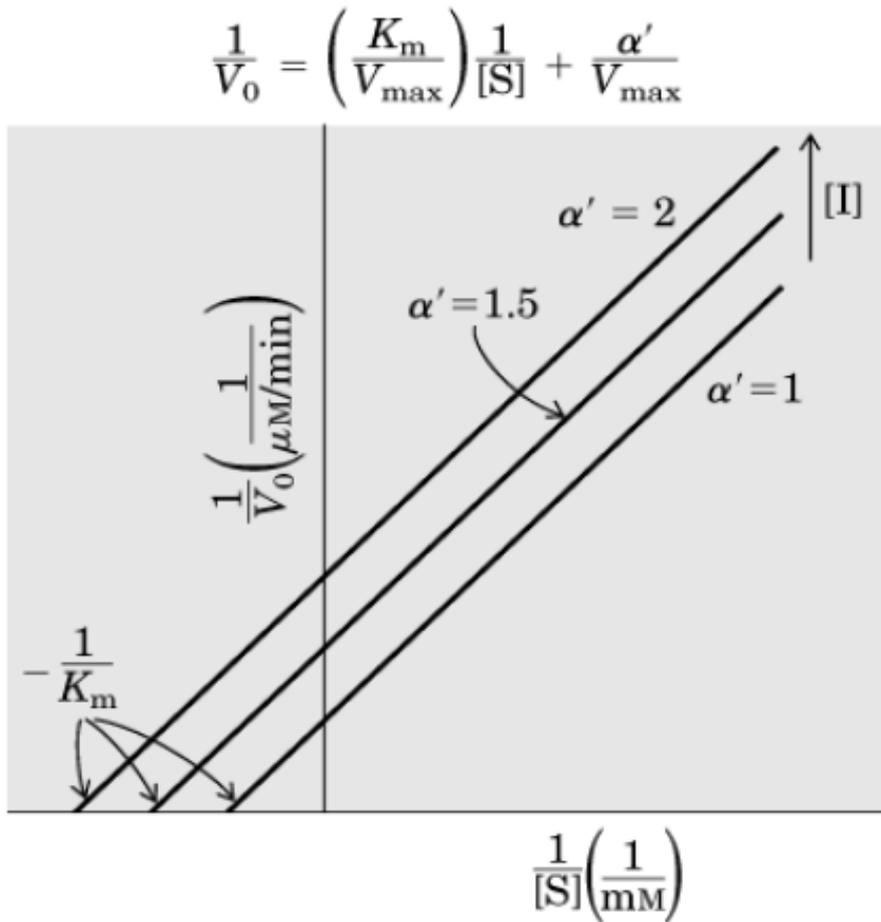


Source: Murray RK, Bender DA, Botham KM, Kennelly PJ, Rodwell VW, Weil PA: *Harper's Illustrated Biochemistry, 28th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

Inhibidor acompetitivo

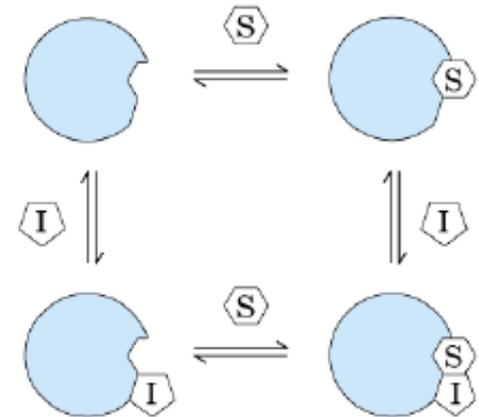
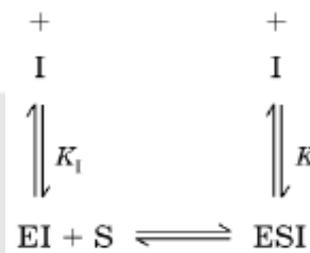
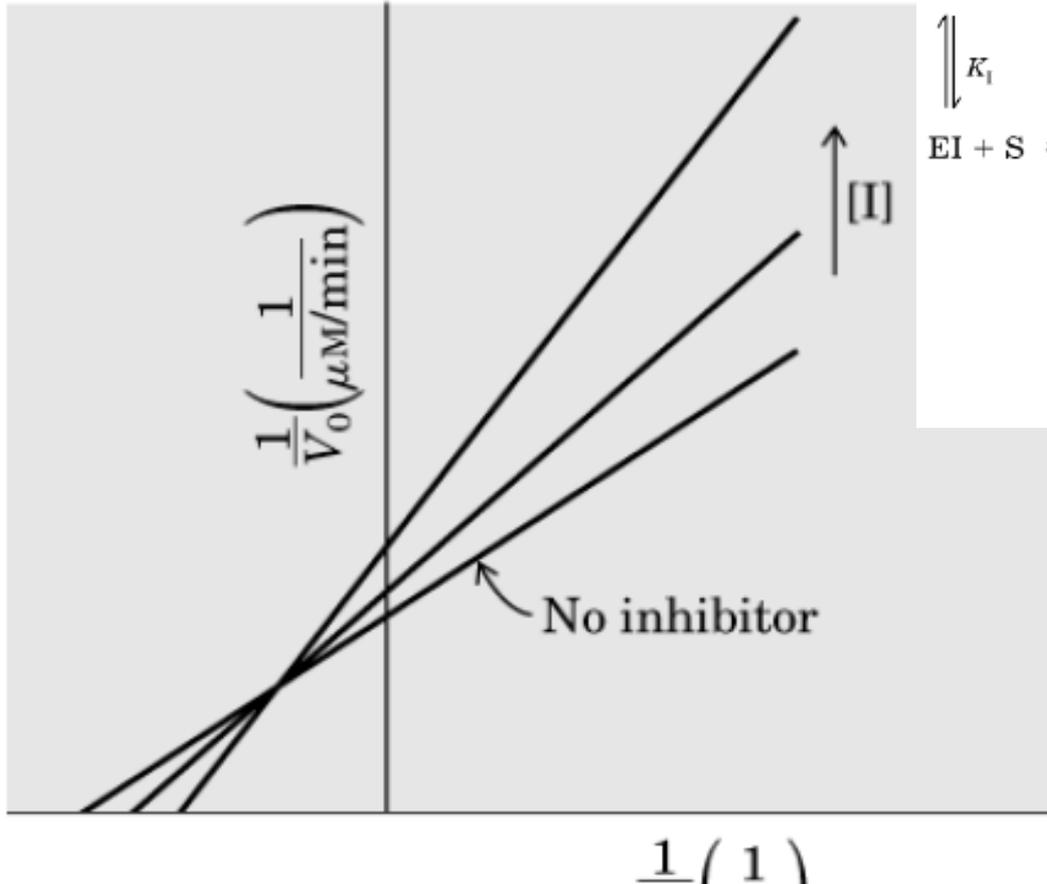
El inhibidor no se une a la enzima sola, se une al complejo enzima sustrato impidiendo que la reacción tenga lugar. Es frecuente en las reacciones que tienen más de un sustrato



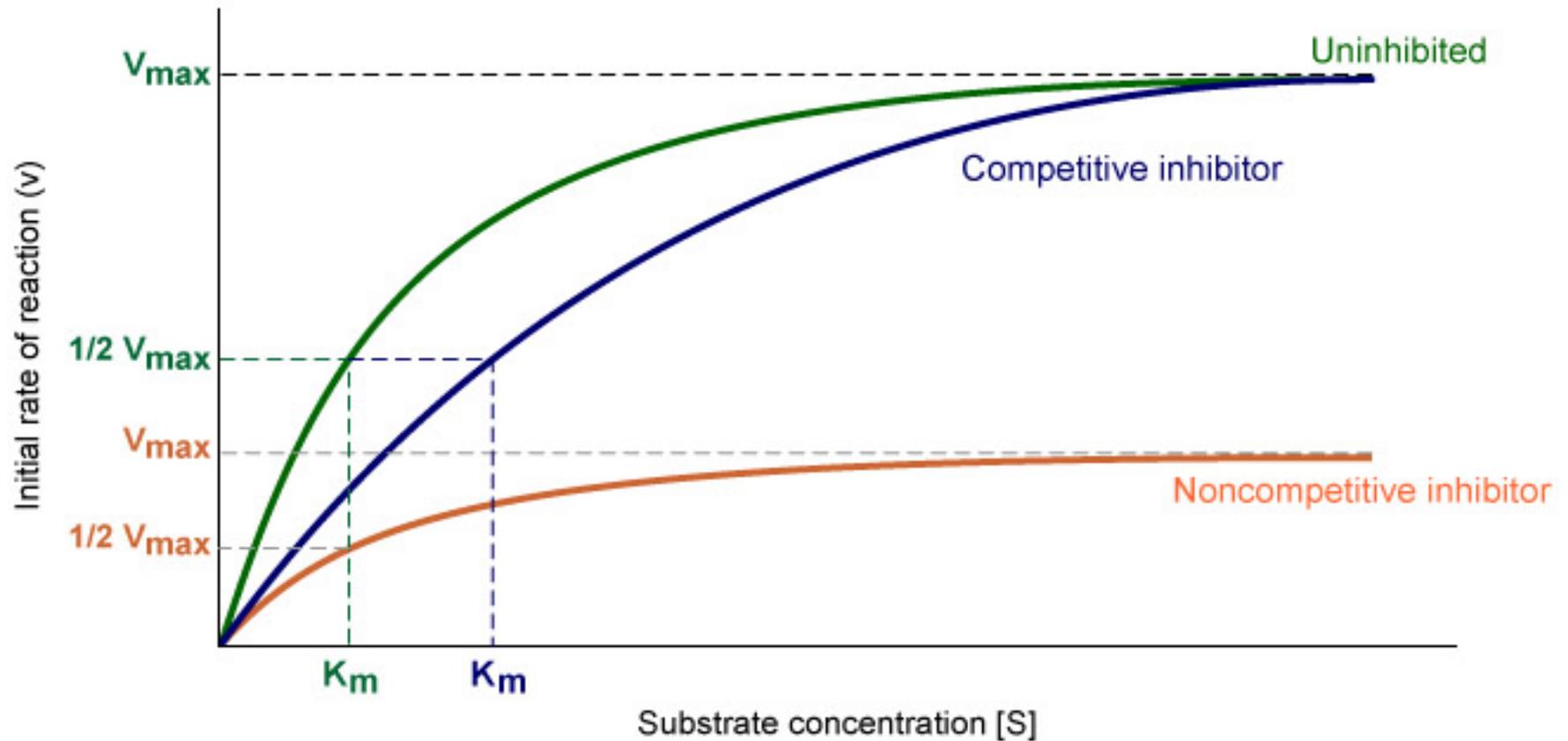
Inhibición mixta

Generalmente estas enzimas tienen uno o más sustratos, se une al complejo enzima sustrato y la enzima sola en un lugar distinto al sitio activo.

$$\frac{1}{V_0} = \left(\frac{\alpha K_m}{V_{\max}} \right) \frac{1}{[S]} + \frac{\alpha'}{V_{\max}}$$



The Effects of Inhibition on Enzyme Kinetics



Inhibidores irreversibles

- Existe una variedad de otros inhibidores que actúan irreversiblemente **modificando químicamente la enzima.**
- Estas modificaciones generalmente involucran la **formación de uniones covalentes entre residuos de aminoácidos esenciales para la unión del sustrato, para la reacción o para el mantenimiento de la conformación de la enzima activa.**
- Debido a que estas cargas covalentes son relativamente estables, una enzima que ha sido **“envenenada” por un inhibidor irreversible tales como átomos de metales pesados o agentes alquilantes, permanece inhibida aun despues que se ha eliminado el inhibidor del medio circundante.**

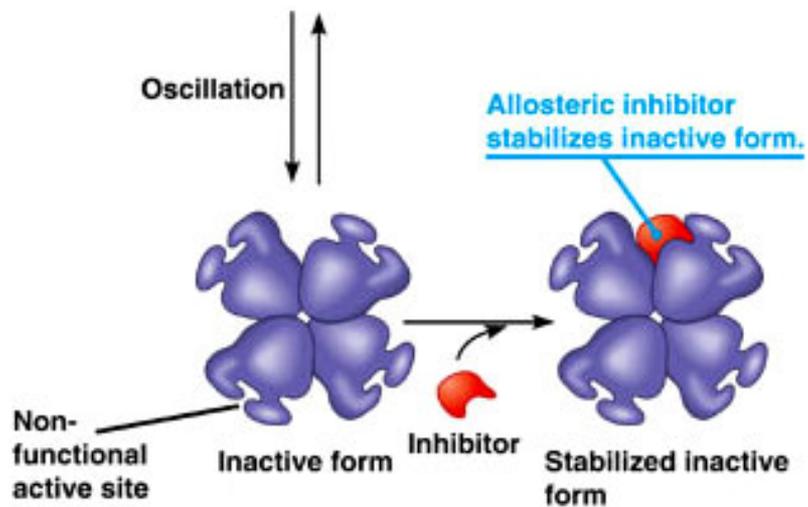
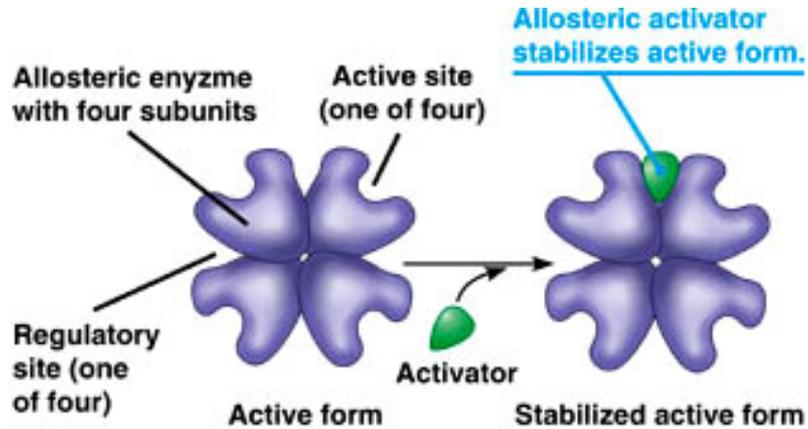
Inhibidores irreversibles



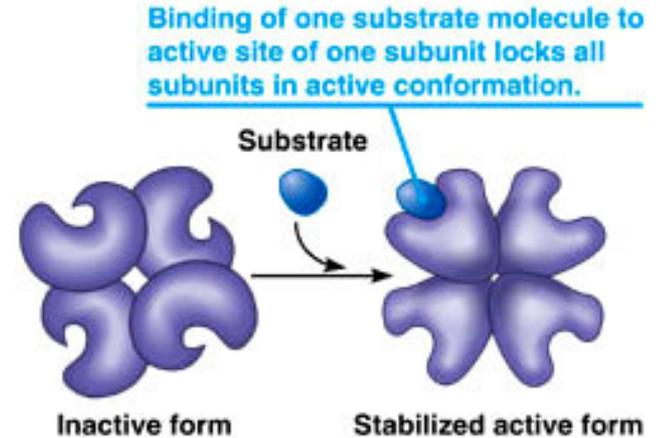
Enzimas alostéricas

- Las enzimas alostéricas son aquellos enzimas (proteínas globulares que catalizan reacciones químicas) que presentan **centros alostéricos, activadores e inhibidores**, además del habitual centro activo.
- A este **centro alostérico se fija un ligando que modifica la actividad del enzima**. Los ligandos que se unen a los centros alostéricos se conocen como efectores o moduladores alostéricos.
- La gráfica que presentan estos enzimas obedece a una **cinética sigmoidea** (forma de Σ característica) de la velocidad inicial frente a la concentración de sustrato, tal como se puede ver en la imagen. Esto es una consecuencia de la interacción entre el centro del sustrato, el centro del activador y el centro del inhibidor.
- La mayoría de los enzimas alostéricos se encuentran **al inicio o en las ramificaciones de las rutas metabólicas**.

Enzimas alostéricas



(a) Allosteric activators and inhibitors



(b) Cooperativity: another type of allosteric activation

