

ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL

FACULTAD DE INGENIERIA MECANICA Y  
CIENCIAS DE LA PRODUCCION

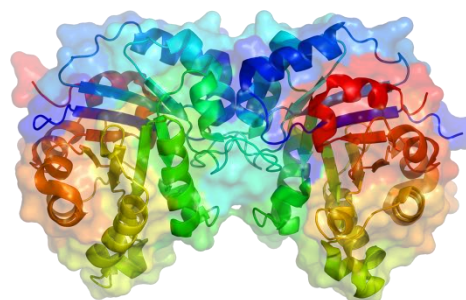
INGENIERIA EN ALIMENTOS

BIOQUIMICA



# ENZIMAS

---



## **INTEGRANTES:**

 *Dayaneth Rivera*

 *Ivette Sornoza*

 *Sabrina Urriola*

*M.Sc. María Fernanda Morales*

*Junio 30, 2014*

---

*Termino I 2014 - 2015*

# INTRODUCCIÓN

---

El presente trabajo de investigación se refiere al tema de los enzimas, que se puede definir como sustancias proteicas que actúan como catalizadores biológicos, llevando a cabo diferentes reacciones químicas a un grado de especificidad elevado, siempre y cuando la reacción sea termodinámicamente posible. En las reacciones termodinámicamente posibles, los enzimas van a actuar sobre los sustratos, los cuales se convierten en un complejo productivo Enzima-Sustrato, del cual va a resultar productos y el enzima, el cual va a poder ser usado en próximas reacciones. Estas reacciones mediadas por los enzimas, se denominan reacciones enzimáticas.

Estas sustancias proteicas tienen la principal característica de ser sustancias extremadamente selectivas con los sustratos que van a reaccionar, para lo cual la velocidad de reacción crece; por esta característica de selectividad es que existe una enzima específica para una reacción específica, es decir, no todas las enzimas van a cumplir su papel de catalizador en cualquier reacción.

El trabajo de los enzimas se ve afectado por diversos factores que alteran a las proteínas, entre estos tenemos, la temperatura, el pH, la fuerza iónica, la concentración del sustrato,, la concentración del enzima e incluso por otros factores; para lo cual los enzimas requieren ciertas condiciones para trabajar óptimamente.

Por otro lado, tenemos los cofactores enzimáticos que son sustancias no proteicas que cumplen con la función de colaborar en la catálisis; éstos se combinan con los enzimas para potenciar de esta manera su acción catalítica.

La velocidad de una reacción cualquiera está determinada por la concentración del reactivo y por una constante de velocidad (K); esta velocidad de reacción varia dependiendo del grado de la reacción.

# PROPIEDADES GENERALES

---

Una enzima es una proteína que actúa como catalizador biológico, llevando a cabo reacciones bioquímicas a muy altas velocidades, no se consume durante la reacción y en general presenta un elevado grado de especificidad. Las enzimas así como cualquier otra estructura presentan propiedades generales que las logran caracterizar en su totalidad.

## *1) Son los catalizadores de las reacciones químicas de los sistemas biológicos.*

Los catalizadores son sustancias que modulan o influyen en la velocidad de las reacciones sin alterar su punto de equilibrio. Los únicos catalizadores del mundo son las enzimas, estas aceleran las reacciones químicas de los sistemas biológicos, participan en una reacción y experimentan cambios físicos durante ella, pero regresan a su estado original cuando la reacción termina. Las enzimas hacen posible la vida en la tierra; en ausencia de estas, la mayoría de las transformaciones químicas requeridas para mantener activas las células tardarían mucho tiempo en efectuarse o simplemente no procederían.

## *2) Las enzimas aceleran las reacciones químicas de los sistemas biológicos.*

Las moléculas en enzimas son catalizadores extraordinarios, muy eficientes para acelerar la transformación de sustratos en productos finales. Una sola molécula de enzima puede efectuar el cambio de 10 000 a 1 millón de moléculas de sustrato por minuto.

## *3) No cambian la constante de equilibrio de las reacciones que catalizan.*

La concentración de la enzima no tiene efecto sobre la constante de equilibrio. Dicho de otra manera, puesto que las enzimas afectan a las velocidades y no a las constantes de velocidad, ellas no pueden afectar a  $K_{eq}$  (constante de equilibrio), que es una relación de constantes de velocidad. De aquí que la  $K_{eq}$  de una reacción sea la misma independientemente de que se alcance el equilibrio con catálisis enzimática o sin ella.

## *4) Poseen un elevado grado de especificidad de sustrato*

La gran mayoría de las enzimas tiene la capacidad de catalizar reacciones más o menos específicas; es decir, su intervalo de acción se limita a un determinado tipo de compuesto que debe reunir ciertas características para que pueda ser utilizado como sustrato. En concreto esto significa que las células generalmente producen diferentes enzimas para cada compuesto que metabolizan. Además, cada enzima interviene en un solo paso o cambio del sustrato.

## *5) La mayoría de las enzimas son proteínas.*

Todas las enzimas se presentan como proteínas, tienen una estructura tridimensional globular, están formadas generalmente por una sola cadena

polipeptídica, y sólo logran ser activas cuando los polímeros desarrollan una conformación que permite establecer su centro activo. La mayoría de las enzimas están constituidas por más de 100 aminoácidos, los cuales confieren a la molécula una masa mayor de 10kDa y un diámetro de 25Å.

6) *No se consumen ni se alteran durante el proceso químico que están catalizando, pudiendo actuar una y otra vez.*

Las enzimas no se consumen ni se alteran durante la reacción, por lo que pueden actuar en pequeñas cantidades ya que una misma enzima puede catalizar varias reacciones.

7) *Aceleran la velocidad de la reacción al disminuir la energía de activación.*

Las enzimas son moléculas que están para disminuir la energía de activación solo de las reacciones necesarias para la supervivencia celular.

Enzima y sustrato	Unión al centro activo	Formación de productos
		

# FACTORES QUE INFLUYEN EN EL TRABAJO ENZIMÁTICO

---

Debido a su naturaleza química, a las enzimas les afectan los mismos factores que alteran a las proteínas; por esta razón, cada una de ellas requiere de ciertas condiciones para trabajar óptimamente como la temperatura, el pH, la fuerza iónica, etcétera. Otros factores que influyen en el trabajo enzimático son: concentración de la enzima y concentración del sustrato

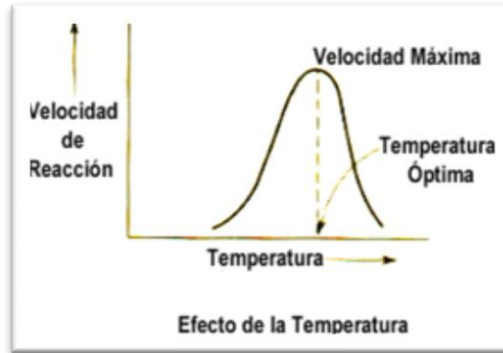
## *1. Efecto de la temperatura.*

Como sucede en la mayoría de las reacciones químicas, la velocidad de las enzimas aumenta con la temperatura, debido al incremento en la energía cinética de las moléculas reactantes (en general, por cada 10°C de incremento, duplica e incluso triplica la velocidad de reacción), pero esto ocurre sólo en el intervalo de temperatura en el que la enzima es estable y retiene su capacidad catalítica; en casos extremos, cuando se incrementa mucho la temperatura, se favorece la desnaturalización y consecuentemente esta proteína pierde su capacidad catalizadora. Por esta razón, cada enzima tiene un intervalo óptimo de temperatura en el cual se logra la mayor actividad; la mayoría tiene su temperatura óptima entre 30°C y 40°C, y se inactiva a más de 55°C. La desnaturalización puede ser reversible o irreversible, por lo que la enzima en ciertas condiciones, llega a recuperar su función después de un tratamiento térmico.

Habitualmente cuando el efecto de la temperatura no es muy intenso, se puede regenerar nuevamente su actividad al adquirir otra vez su estructura tridimensional de origen. Pero, a medida que esta es mayor, se favorece la inactivación irreversible y el sitio activo se pierde sin tener la oportunidad de regenerarse al enfriarse el sistema. Habitualmente la desnaturalización a alta temperatura es irreversible, debido a que se rompen las fuerzas débiles de enlace al aumentar la vibración térmica de los átomos componentes, fenómeno que daña la estructura tridimensional.

Temperaturas extremadamente bajas, detienen la actividad enzimática pero no las destruyen. Muchas enzimas se pueden conservar metiéndolas a 0°C o temperaturas más bajas, logrando recuperar su actividad después de descongelarse, según la intensidad y la forma en la que se efectuó el congelamiento.

*Para casi todas las enzimas, las temperaturas óptimas son iguales o mayores a las de las células en las que se encuentra.*



## 2. Efecto del pH.

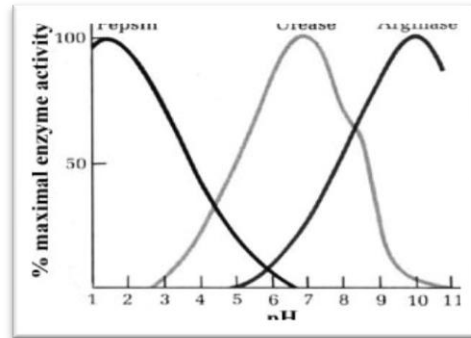
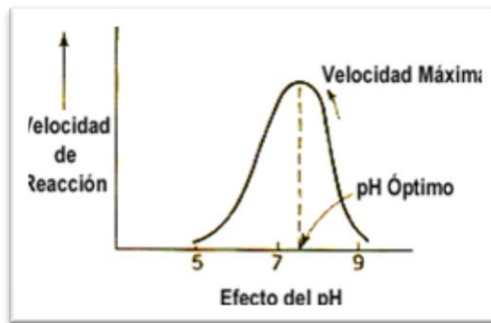
La actividad de las enzimas depende mucho de la concentración de iones de hidrógeno del medio, ya que esto afecta el grado de ionización de los aminoácidos del sitio activo, del sustrato, o del complejo enzima-sustrato; todo eso llega a influir en la afinidad que tenga la enzima por el sustrato.

Las enzimas poseen grupos químicos ionizables (carboxilos  $-\text{COOH}$ ; amino  $-\text{NH}_2$ ; tiol  $-\text{SH}$ ; imidazol, etc.) en las cadenas laterales de sus aminoácidos. Según el pH del medio, estos grupos pueden tener carga eléctrica positiva, negativa o neutra. Como la conformación de las proteínas depende, en parte, de sus cargas eléctricas, habrá un pH en el cual la conformación será la más adecuada para la actividad catalítica.

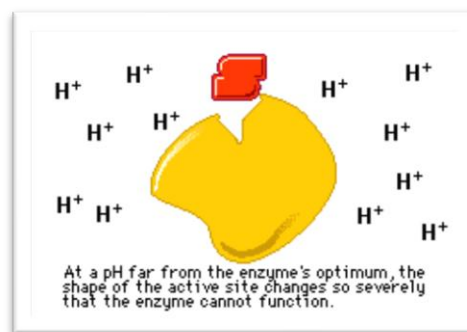
En los casos en el que los sustratos son no ionizables (la mayoría de los hidratos de carbono y lípidos), los grupos iónicos de las enzimas son los únicos afectados por el pH.

Por esta razón, todas las enzimas presentan una máxima actividad catalítica a un cierto valor óptimo de pH, en un intervalo de 5 a 8 (El pH óptimo de la mayoría de los enzimas es próximo a 7), aun cuando existen excepciones muy importantes, como en el caso de la pepsina del estómago, que tiene un pH óptimo de 1.8, u otros como la tripsina tienen un pH óptimo algo alcalino (pH óptimo = 7,8).

*La mayoría de los enzimas son muy sensibles a los cambios de pH. Desviaciones de pocas décimas por encima o por debajo del pH óptimo pueden afectar drásticamente su actividad. Así, la pepsina gástrica tiene un pH óptimo de 2, la ureasa lo tiene a pH 7 y la arginasa lo tiene a pH 10 (Figura de la izquierda). Como ligeros cambios del pH pueden provocar la desnaturalización de la proteína, los seres vivos han desarrollado sistemas más o menos complejos para mantener estable el pH intracelular: Los amortiguadores fisiológicos.*



Las enzimas además pueden experimentar cambios de conformación con las variaciones del pH. Podría ser necesario un grupo cargado distal a la región del sustrato donde se ha fijado, para conservar una estructura activa terciaria o cuaternaria. Conforme cambia la carga en este grupo, la proteína puede desenrollarse, volverse más compacta o disociarse en protómeros, todo lo cual conduce a la pérdida de la actividad. Dependiendo de la gravedad de estos cambios, la actividad puede ser restablecida o no cuando la enzima regresa a su pH óptimo.



### 3. Concentración del sustrato

A mayor concentración del sustrato, a una concentración fija de la enzima se obtiene la velocidad máxima. Después de que se alcanza esta velocidad, un aumento en la concentración del sustrato no tiene efecto en la velocidad de la reacción. Algunas enzimas permanecen libres en concentraciones bajas de sustrato y no se alcanza la máxima velocidad. Cuando el sustrato se encuentra en exceso, toda la enzima se transforma en ES y la reacción se realiza a su máxima velocidad.

### 4. Concentración de la enzima

Siempre y cuando haya sustrato disponible, un aumento en la concentración de la enzima aumenta la velocidad enzimática hacia cierto límite.

### *5. Efectos de otros agentes*

Las enzimas se ven afectadas también por otros factores como son la actividad de agua, pues la mayoría de los biopolímeros requieren de agua para desarrollar su conformación estable con características de agentes biológicamente activo; sin embargo, algunas enzimas llegan a actuar con un mínimo de agua, como ocurre con las lipasas que contienen los aceites puros. En este caso la amplia disponibilidad del sustrato hace que las reacciones se logren aun en condiciones de sequedad.

Por otra parte, los metales pesados, como mercurio, plata y plomo, inhiben la acción enzimática, mientras que el calcio, el magnesio, el sodio, el potasio, el manganeso, el hierro y el zinc, actúan como agentes activadores de muchas otras. Estos activadores se denominan Cofactores. Este efecto activador se debe probablemente a que forman parte del sitio activo, que se requieren para la creación del complejo enzima-sustrato, o que ayudan a mantener la conformación tridimensional. Casi un tercio de los enzimas conocidos requieren cofactores. Cuando el cofactor es una molécula orgánica se llama coenzima.



# COFACTORES ENZIMÁTICOS

Existen enzimas que son proteínas simples y otras que requieren para su función la presencia de sustancias no proteicas que colaboran en la catálisis: los cofactores. Los Cofactores son sustancias que se combinan con el enzima potenciando su acción catalítica.

## Minerales y su función como cofactores

Estos cofactores suelen ser iones metálicos como hierro ( $\text{Fe}^{++}$ ), cobre ( $\text{Cu}^{++}$ ), magnesio ( $\text{Mg}^{++}$ ), manganeso ( $\text{Mn}^{++}$ ) y zinc ( $\text{Zn}^{++}$ ), a estos cofactores se los conoce como coenzimas inorgánicas.

Some Inorganic Elements That Serve as Cofactors for Enzymes

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

Mineral	Funciones	Deficiencias	Fuentes alimenticias
Calcio	<ul style="list-style-type: none"> <li>Constituyentes en huesos y dientes.</li> <li>Interviene en la coagulación de la sangre.</li> <li>Interviene en la excitabilidad y contracción del músculo.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Raquitismo</li> <li>Osteomalacia</li> <li>Rigidez en las articulaciones y debilidad muscular.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Leches y derivados</li> </ul>
Magnesio	<ul style="list-style-type: none"> <li>Constituyentes en huesos y dientes.</li> <li>Necesario para la transmisión del impulso nervioso.</li> <li>Interviene en la relajación muscular.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Contracciones musculares.</li> <li>Temblores.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Cereales integrales</li> <li>Frutos secos</li> <li>Mariscos</li> </ul>
Sodio	<ul style="list-style-type: none"> <li>Necesario para la transmisión y generación del impulso nervioso.</li> <li>Contribuye en el equilibrio ácido-base</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Anorexia.</li> <li>Pérdida de peso.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Sal común</li> <li>Embutidos</li> </ul>
Fosforo	<ul style="list-style-type: none"> <li>Constituyentes en huesos y dientes.</li> <li>Tiene el papel de almacenar y utilizar el ATP.</li> <li>Contribuye en el equilibrio ácido-base</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Raquitismo</li> <li>Calcificación de tejidos blandos.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Carne</li> <li>Lácteos</li> <li>Cereales</li> </ul>
Potasio	<ul style="list-style-type: none"> <li>Contribuye en el equilibrio ácido-base</li> <li>Necesario para la transmisión y generación del impulso nervioso.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Reducción de apetito.</li> <li>Crecimiento lento.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Carnes</li> <li>Lácteos</li> <li>Frutas</li> </ul>

De estos cofactores enzimáticos podemos resaltar los de mayor importancia:

- *Magnesio*
  - Cofactor de enzimas que transfieren grupos fosfatos desde el ATP.
  - Cofactor de la enzima acetilcolinesterasa.
- *Cobre*
  - Cofactor de enzimas Cu-dependientes que intervienen en la formación de: hemoglobina, colágeno, lecitina, mielina.
- *Zinc*
  - Cofactor de metalo-enzimas (anhidrasa carbónica, fosfatasa alcalina, carboxipeptidasa, ARN polimerasa, ADN polimerasa, etc.).
- *Hierro*
  - Constitución como cofactor de enzimas oxidasas (peroxidasa, catalasas, citocromo C, etc.)
- *Manganeso*
  - Cofactor de enzimas como la arginasa y la ribonucleotidoreductasa

Cuando el cofactor es una molécula de naturaleza orgánica se le llama coenzima.

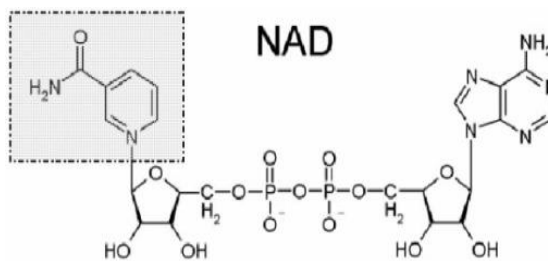
Some Coenzymes That Serve as Transient Carriers of Specific Atoms or Functional Groups*		
Coenzyme	Examples of chemical groups transferred	Dietary precursor in mammals
Biocytin	CO <sub>2</sub>	Biotin
Coenzyme A	Acyl groups	Pantothenic acid and other compounds
5'-Deoxyadenosylcobalamin (coenzyme B <sub>12</sub> )	H atoms and alkyl groups	Vitamin B <sub>12</sub>
Flavin adenine dinucleotide	Electrons	Riboflavin (vitamin B <sub>2</sub> )
Lipoate	Electrons and acyl groups	Not required in diet
Nicotinamide adenine dinucleotide	Hydride ion (: H <sup>-</sup> )	Nicotinic acid (niacin)
Pyridoxal phosphate	Amino groups	Pyridoxine (vitamin B <sub>6</sub> )
Tetrahydrofolate	One-carbon groups	Folate
Thiamine pyrophosphate	Aldehydes	Thiamine (vitamin B <sub>1</sub> )

La principal función de las coenzimas es actuar como intermediarios metabólicos. El metabolismo conlleva una amplia gama de reacciones químicas, pero la mayoría corresponden a unos tipos básicos de reacciones que implican la transferencia de grupos funcionales. Esta química común permite a las células utilizar un pequeño conjunto de intermediarios metabólicos para transportar grupos químicos entre las diferentes reacciones. Estos intermediarios en la transferencia de grupos son las coenzimas.

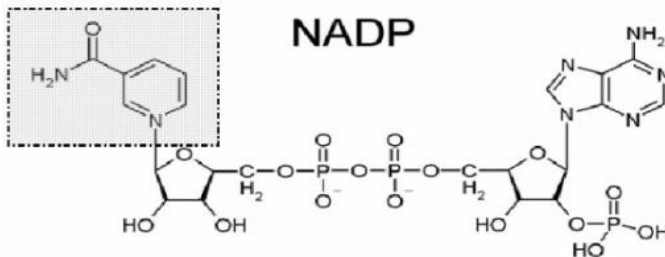
Cada clase de reacción de transferencia de grupo se lleva a cabo por una coenzima particular, que es el sustrato de un conjunto de enzimas que la producen, y un conjunto de enzimas que la consumen. Un ejemplo de esto son las deshidrogenasas, que utilizan la nicotinamida adenina dinucleótido (NADH) como cofactor. Aquí, cientos de enzimas diferentes eliminan los electrones de sus sustratos y reducen el  $\text{NAD}^+$  a NADH. Esta coenzima reducida es entonces un sustrato para cualquiera de las reductasas presentes en la célula que necesitan reducir sus sustratos.

Las coenzimas más importantes son:

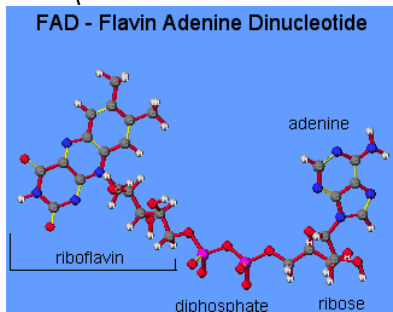
- NAD (NicotinamínadenínDinucleótico)



- NADP (NicotidamínAdenínDinucleótido Fosfato)



- FAD (FlavínAdenínDinucleótido)



## Vitaminas hidrosolubles y su función como coenzimas

El principal papel de las vitaminas es actuar como coenzimas en el organismo, aunque las vitaminas tienen otras funciones en el cuerpo. Las coenzimas también se fabrican a partir de nucleótidos, como la adenosina trifosfato (que es el transportador bioquímico de los grupos fosfato), o la coenzima A (que transporta grupos acilo). La mayoría de las coenzimas se encuentran en una enorme variedad de especies, y algunas son universales para todas las formas de vida.

Vitaminas y sus derivados				No vitaminas	
Coenzima	Vitamina	Componente adicional	Grupo químico transferido	Coenzima	Grupo químico transferido
NAD + y NADP +	Niacina (B3)	ADP	Electrones	Adenosina trifosfato (ATP)	Grupo fosfato
Coenzima A	Acido pantoténico (B5)	ADP	Grupo acetilo y otros grupos acilo	S-Adenosil metionina	Grupo metilo
Acido tetrahidrofólico	Acido fólico (B9)	Residuos de glutamato	Grupos metilo, formilo, metileno y formimino	3'-Fosfoadenosina-5'-fosfosulfato	Grupo sulfato
Filoquinona (K <sub>1</sub> ) Menaquinona (K <sub>2</sub> ) Menadiona(K <sub>3</sub> ) <sup>+</sup>	Vitamina K	Ninguno	Grupo carbonilo y electrones	Coenzima Q	Electrones
Acido ascórbico	Vitamina C	Ninguno	Electrones	Tetrahidrobiopterina	Atomo de oxígeno y electrones
Coenzima F420	Riboflavina (B2)	Aminoácidos	Electrones	Citidina trifosfato	Diácilgliceroles y grupos lipídicos
				Azúcares nucleótidos	Monosacáridos
				Glutatión	Electrones
				Coenzima M	Grupo metilo

VITAMINA		FUNCIONES	FUENTES
LIPOSOLUBLES	A o retinol betacaroteno (precursor de la vitamina A)	✓ Forma parte de los huesos y dientes. ✓ Interviene en la contracción muscular y en la coagulación sanguínea. ✓ Previene la presión arterial alta.	Lácteos, pescados enlatados con sus espinas, legumbres, frutas secas, hortalizas de color verde intenso.
	D o colecalciferol	✓ Regula la absorción y el depósito de calcio y fósforo en los huesos.	Carnes, frutos de mar, vísceras, huevo, legumbres, cereales integrales, lácteos, frutas secas y semillas.
	E o tocoferol	✓ Protege las paredes de los vasos sanguíneos. ✓ Es antioxidante y previene enfermedades cardiovasculares.	Aceites vegetales, frutas secas, semillas, germen de trigo.
	K o filoquinona	✓ Interviene en la coagulación de la sangre.	Hortalizas de color verde intenso, vísceras, carnes, lácteos.
HIDROSOLUBLES	B <sub>1</sub> o tiamina	✓ Interviene en el metabolismo de los hidratos de carbono, principalmente. ✓ Regula la función nerviosa, muscular y cardíaca. ✓ Mejora la digestión y previene el beriberi.	Cereales integrales, germen de trigo, levadura de cerveza en polvo, frutas secas, semillas, legumbres, vísceras, carnes.
	B <sub>2</sub> o riboflavina	✓ Interviene en el metabolismo de los hidratos de carbono, proteínas y grasas. ✓ Mejora la digestión y mantiene sana la piel.	Lácteos, carnes, vísceras, huevo, frutas secas y semillas, germen de trigo, levadura de cerveza en polvo.
	B <sub>3</sub> o niacina	✓ Interviene en el metabolismo energético (conversión de hidratos de carbono, proteínas y grasas en energía). ✓ Mejora el funcionamiento cardiovascular. ✓ Mantiene la piel saludable. ✓ Mejora el funcionamiento de los sistemas nervioso y digestivo. ✓ Previene la pelagra.	Carnes, vísceras, frutas secas, semillas, germen de trigo, levadura de cerveza en polvo.
	B <sub>6</sub> o piridoxina	✓ Forma parte de la estructura de huesos y dientes. ✓ Interviene en la formación de los glóbulos rojos y previene la anemia. ✓ Participa en la producción de anticuerpos.	Carnes, vísceras, cereales integrales, legumbres, frutas secas y semillas, levadura de cerveza en polvo, germen de trigo.
	B <sub>9</sub> o ácido fólico	✓ Interviene en la formación de glóbulos rojos y previene la anemia. ✓ Previene enfermedades cardiovasculares y malformaciones fetales.	Levadura de cerveza en polvo, germen de trigo, vísceras, hortalizas de color verde intenso, cereales integrales, carnes, legumbres.
	B <sub>12</sub> o cobalamina	✓ Interviene en la maduración de los glóbulos rojos y previene la anemia. ✓ Mejora la función del sistema nervioso. ✓ Interviene en el metabolismo de los hidratos de carbono, proteínas y grasas.	Lácteos, huevo, carnes y vísceras.
	C o ácido ascórbico	✓ Interviene en la formación de huesos, dientes y cartílagos y en el mantenimiento del tejido conectivo. ✓ Mejora la asimilación del hierro vegetal, es antioxidante y antiinfecciosa.	Citricos, kiwi, frutillas, kinoto, crucíferas (brócoli, coliflor, repollo), espinaca, acelga, tomate crudo, berro.
	H o biotina	✓ Interviene en la formación de los ácidos grasos.	Carnes, verduras, levadura de cerveza.

# DEFINICIONES

## *Coenzima*

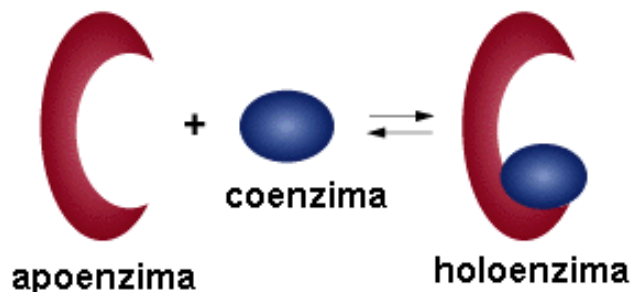
Las coenzimas son cofactores orgánicos no proteicos, termoestables que unidos a una Apoenzima constituyen la holoenzima o forma catalíticamente activa de la enzima. Las coenzimas tienen baja masa molecular y son esenciales en el mecanismo de catálisis, ya sea aceptando o donando electrones a los grupos funcionales que transportan de una enzima a otra. Y estas coenzimas tienen la facilidad de modificarse durante una reacción química.

## *Apoenzima*

La apoenzima es una proteína sin actividad que constituye la holoenzima o enzima activa. Es la parte proteica de la enzima desprovista de los cofactores o grupos prostéticos que pueden ser necesarios para que la enzima sea funcionalmente activa. La apoenzima es catalíticamente inactiva. Para que la apoenzima pueda catalizar debe haber una coenzima que generalmente es una vitamina. Tiene en su molécula un centro activo, en donde se relaciona con el sustrato, relación llave-candado.

## *Grupos prostéticos*

Un grupo prostético es el componente no aminoacídico que forma parte de la estructura de algunas proteínas y que se halla fuertemente unido al resto de la molécula. Las proteínas con grupo prostético reciben el nombre de heteroproteínas (o proteínas conjugadas). Hay enzimas que son proteínas conjugadas; se trata de enzimas que requieren algún cofactor éste se halla ligado con fuerza de manera permanente en la estructura molecular. Si un cofactor enzimático sólo se une a la enzima durante la catálisis no debe ser considerado un grupo prostético.



# NOMENCLATURA Y CLASIFICACIÓN

Desde sus inicios la nomenclatura enzimática ha sido poco sistemática, y carece de los lineamientos necesarios para darles nombres adecuados. Existen muchas enzimas cuyos nombres no ofrecen ninguna información sobre su actividad o sus propiedades, como es el caso de la tripsina, la quimotripsina, la pepsina y algunas otras. Unas se han designado con el nombre del descubridor, otras, como la papaína, de acuerdo con su procedencia (papaya), y en otros casos, como la lactasa, según el sustrato que utilizan, que en este caso es la lactosa.

Debido a esta falta de homogeneidad en la nomenclatura, se integró la Comisión de enzimas de la Unión Internacional de Bioquímica (UIB), que desarrolló un método que identifica cada una con cuatro dígitos separados por puntos encabezado por las letras EC (enzyme commission), que caracteriza al tipo de reacción según la clase (primer dígito), subclase (segundo dígito), sub-subclase (tercer dígito), y un cuarto dígito que es para la enzima específica.

- El primer dígito de la nomenclatura, representa el grupo al que pertenecen:

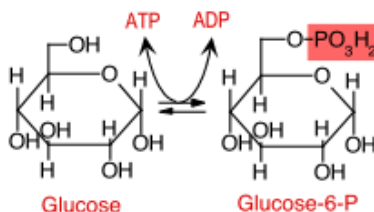
## 1) Oxido-reductasas

Catalizan reacciones de oxido-reducción, es decir, transferencia de hidrógeno (H) o electrones (e-) de un sustrato a otro. Entre estos tenemos la succinato deshidrogenasa o la citocromo c oxidasa.



## 2) Transferasas:

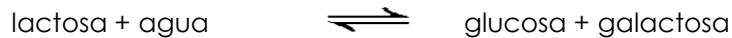
Catalizan la transferencia de un grupo químico (distinto del hidrógeno) de un sustrato a otro. Por ejemplo la glucoquinasa, que cataliza la reacción de transferencia de un grupo fosfórico del ATP al carbono 6 de la glucosa para formar glucosa-6-fosfato y ADP.





### 3) Hidrolasas:

Llevan a cabo la ruptura de enlaces químicos con la introducción de una molécula de agua. Un ejemplo es la lactasa, que cataliza la reacción de rompimiento de la molécula de lactosa mediante la adición de una molécula de agua, para formar glucosa y galactosa.



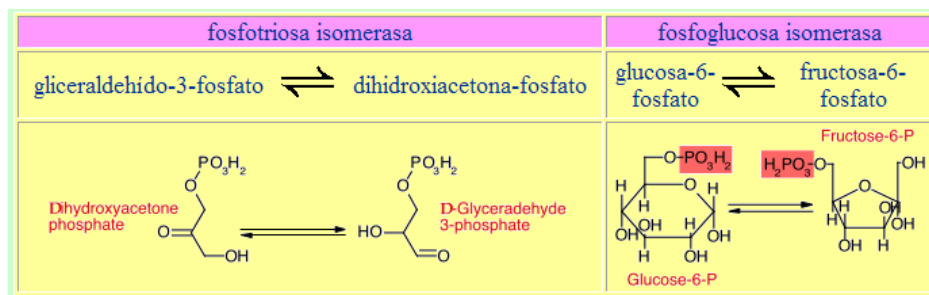
### 4) Liasas:

Catalizan reacciones de ruptura o soldadura de sustratos sin la participación del agua. Un ejemplo es la acetacetato descarboxilasa, que cataliza la reacción:



### 5) Isomerasas:

Catalizan las isomerizaciones de distintos compuestos. Entre ellas tenemos la fosfotriosaisomerasa y la fosfoglucosaisomerasa, que catalizan las reacciones representadas en la tabla inferior:



- El segundo dígito corresponde al tipo de enlace sobre el cual actúa la enzima.

En el caso de hidrolasas, se refiere al tipo de enlace que hidroliza: el 3.1 es de enlaces éster; el 3.2 de glucosídicos; el 3.4 de peptídicos; etcétera. Las reacciones y las enzimas que las catalizan se dividen en 6 clases principales, cada una con 4 a 13 subclases

- El tercer dígito representa al sustrato sobre el cual actúa la enzima.

Por ejemplo, si tenemos una hidrolasa de uniones éster (3.1), el tercer enlace indicara si es un enlace éster carboxílico (3.1.1), tioéster (3.1.2), monofosfato (3.1.3), etcétera.

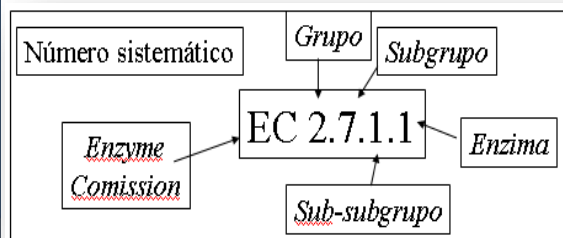
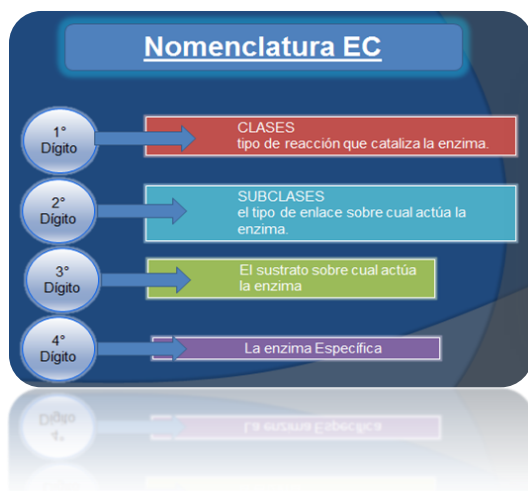
- El cuarto dígito indica específicamente la acción de la enzima en cuestión.

Class	Example (reaction type)	Reaction Catalyzed
1. Oxidoreductases	Alcohol dehydrogenase (EC 1.1.1.1) (oxidation with NAD <sup>+</sup> )	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} \xrightarrow{\text{NAD}^+} \text{CH}_3\text{C}(=\text{O})\text{H} + \text{NADH} + \text{H}^+$ <p><b>Ethanol</b> → <b>Acetaldehyde</b></p>
2. Transferases	Hexokinase (EC 2.7.1.2) (phosphorylation)	$\text{D-Glucose} + \text{ATP} \rightarrow \text{D-Glucose-6-phosphate} + \text{ADP}$
3. Hydrolases	Carboxypeptidase A (EC 3.4.17.1) (peptide bond cleavage)	$\text{---N-CH(R}_{n-1}\text{)-C(=O)-N-CH(R}_n\text{)-COO}^- + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{---N-CH(R}_{n-1}\text{)-COO}^- + \text{H}_3\text{N}^+\text{-CH(R}_n\text{)-COO}^-$ <p><b>C-terminus of polypeptide</b> → <b>Shortened polypeptide</b> + <b>C-terminal residue</b></p>
4. Lyases	Pyruvate decarboxylase (EC 4.1.1.1) (decarboxylation)	$\text{---COO}^- \text{---C(=O)---CH}_3 + \text{H}^+ \rightarrow \text{CO}_2 + \text{H---C(=O)---CH}_3$ <p><b>Pyruvate</b> → <b>Acetaldehyde</b></p>
5. Isomerases	Maleate isomerase (EC 5.2.1.1) (cis-trans isomerization)	$\text{Maleate} \rightleftharpoons \text{Fumarate}$
6. Ligases	Pyruvate carboxylase (EC 6.4.1.1) (carboxylation)	$\text{---COO}^- \text{---C(=O)---CH}_3 + \text{CO}_2 \xrightarrow{\text{ATP}} \text{---COO}^- \text{---C(=O)---CH}_2\text{---COO}^- + \text{ADP} + \text{P}_i$ <p><b>Pyruvate</b> → <b>Oxaloacetate</b></p>

- El nombre sistemático de una enzima se compone de 2 partes: la primera representa el nombre del sustrato u la segunda indica el tipo de reacción catalizada, seguida de la terminación -asa. Consta actualmente de 3 partes:

*Ejemplo: Identificación EC 5.3.1.1.*

Así, **E.C. 2.7.1.1** denota la clase 2 (una transferasa), subclase 7 (transferencia de fosfato), sub-clase 1 (una función alcohol como aceptor de fosfato). El último dígito denota a la enzima hexocinasa o ATP: D-hexosa-6-fosforotransferasa, enzima que cataliza la transferencia de fosfato desde el ATP al grupo hidroxilo de carbono 6 de la glucosa.



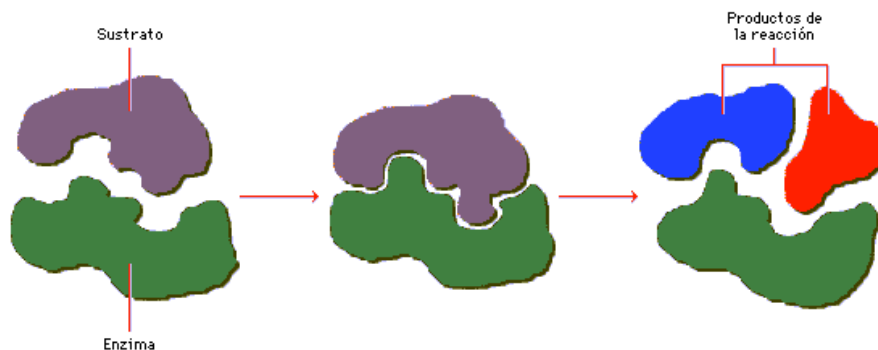


# MECANISMOS DE REACCIÓN

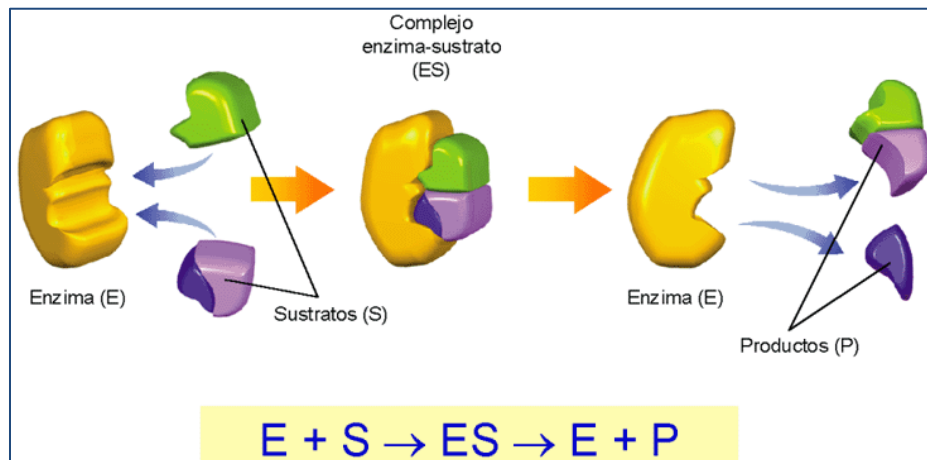
Por las notables propiedades catalíticas de las enzimas y el papel que juegan en el proceso de la vida, muchos investigadores han dado preferencia a investigar sus mecanismos de reacción.

La activación de la molécula de sustrato se produce debido a la gran afinidad química (electrónica) del sustrato por ciertas áreas de la superficie de la enzima, sitios activos. Este sitio activo corresponde a una depresión o hendidura relativamente pequeña que posee la geometría y distribución de cargas (positivas y negativas) para unirse específicamente y en forma complementaria a un determinado sustrato. El sustrato se une al sitio activo de la enzima por medio interacciones hidrofóbicas y electrostáticas, puentes de hidrógeno y fuerzas de van der Waals. Los residuos de aminoácidos de la enzima que participan en la interacción con el sustrato, se encuentran alejados unos de otros en la secuencia lineal de aminoácidos de la proteína: pero como resultado del plegamiento de ésta, se agrupan para formar el sitio activo de la enzima. Algunos de estos residuos participan solamente en la unión de sustrato y definen una región del sitio activo que se llama sitio de fijación o de unión del sustrato. Otros residuos del sitio activo, los catalíticos, se encargan directamente de la transformación del sustrato en producto y forman el sitio catalítico. Normalmente el número de residuos que intervienen en la unión del sustrato es mayor que el de los residuos catalíticos. Este sitio activo es el lugar donde a través del reconocimiento molecular ocurren reacciones de ruptura y formación de enlaces, formándose así un complejo enzima-sustrato en el que las moléculas de las sustancias reactantes (sustratos) quedan muy próximas entre sí, condición indispensable para que se lleve a cabo la reacción química de ellas. Se produce una deformación o distorsión en alguna unión de la molécula de sustrato, se hace lábil y sufre un cambio por la enzima en particular. Las moléculas alteradas pierden su afinidad por los sitios activos y por ello son puestas en libertad. Entonces las enzimas quedan libres e intactas para combinarse con más sustrato y la biosíntesis de nuevos productos iguales a los anteriores.

Se debe agregar que la activación hace que caiga o disminuya la barrera energética que el sustrato debe vencer antes de que se transforme en producto. Así, una reacción catalizada por enzimas necesita baja energía de activación para que pueda efectuarse.



Este análisis se aplica a los sustratos que han sido degradados o también se han utilizado en la biosíntesis. Aunque se puede aplicar el mismo tipo de explicación para describir la síntesis, o la construcción de compuestos complejos, a partir de otros simples. En esta forma, dos moléculas diferentes de sustrato se pueden pegar a los sitios adyacentes en la superficie de la enzima. Una sola activación del sustrato por la enzima permite el establecimiento de una unión entre las dos moléculas, de tal modo que se crea un compuesto nuevo a partir de los dos sustratos originales. Este producto tiene poca afinidad por el sitio activo y se desprende. En realidad el sitio activo y se desprende.



En realidad, el sitio activo de la superficie de una enzima es un área muy pequeña, lo que significa que las grandes porciones de la proteína no contribuyen a la especificidad enzimática o a la acción de las enzimas. Por eso, solo relativamente pocos residuos de aminoácidos están implicados directamente en el proceso catalítico ¡quizás menos de cinco! Se debe señalar también que el ajuste entre una parte de la superficie de la enzima y el sustrato no se encuentra estático, sino que es una interacción dinámica en la que el sustrato induce a cambios estructurales a la molécula de la enzima, como la mano cambia de aspecto dentro de un guante.

# ENERGÍA DE ACTIVACIÓN

En el medio acuoso de las células, las diferentes moléculas están en constante movimiento térmico "caos molecular" pero, dado que son compuestos más o menos estables, solamente podrían reaccionar para formar productos de una manera ocasional –cuando casualmente se enfrentan sus grupos reaccionantes.

Existe, de esta manera, una barrera energética a la reacción de las moléculas, y la energía extra necesaria para superar esa barrera se denomina "energía de activación".

La energía de activación se define como la cantidad de energía en calorías, necesaria para llevar a todas las moléculas de un mol de una sustancia desde un estado dado hasta un determinado estado activado.



Las enzimas, en lugar de aportar energía extra, éstas incrementan enormemente las posibilidades de reacción de las moléculas correspondientes, por medio de su capacidad para formar una gran cantidad de moléculas específicas más reactivas –y, por tanto, más inestables-. Es decir, para formar un compuesto intermediario con ellas, nos referimos al complejo enzima-sustrato.

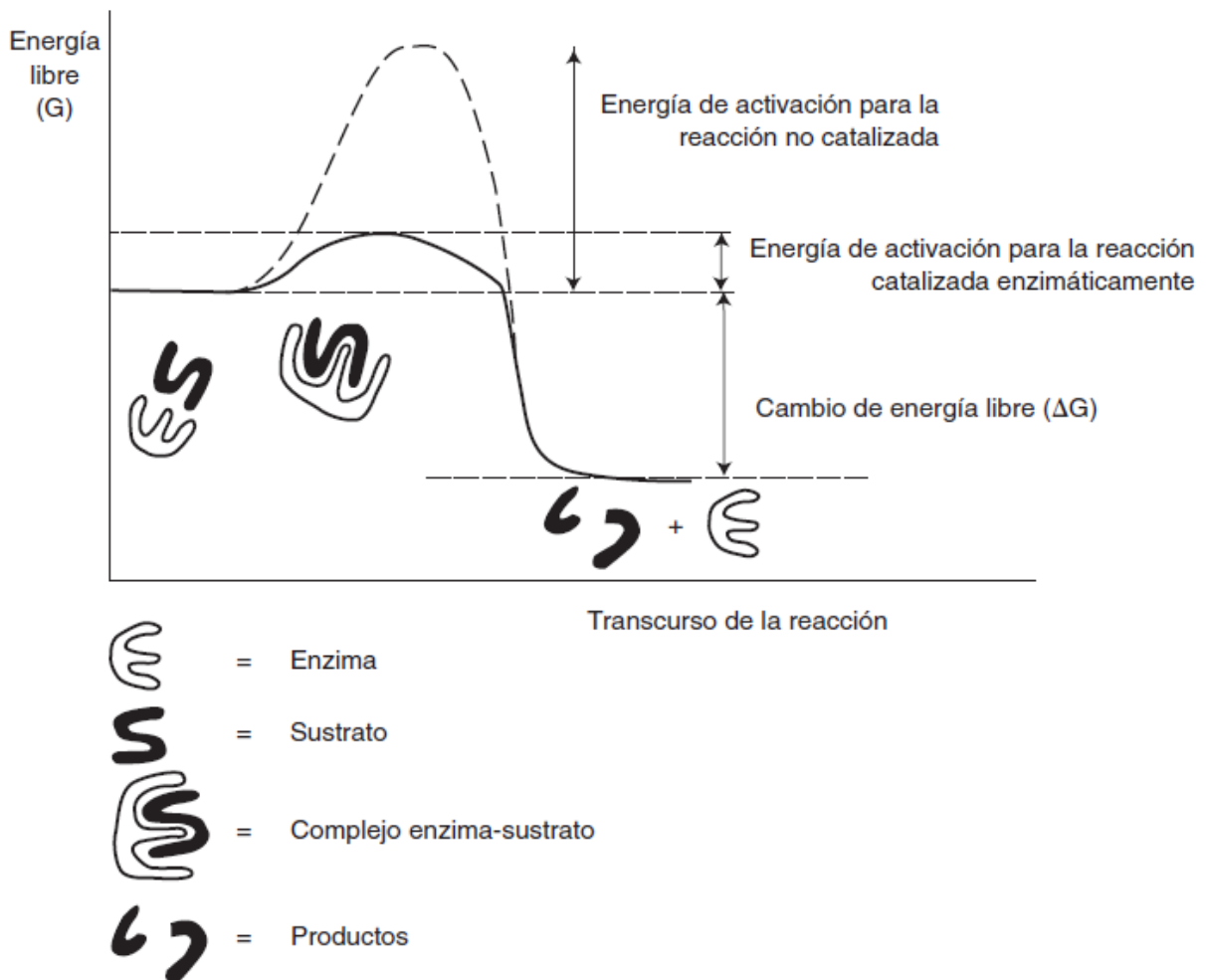
Este intermediario inestable –que representa el estado de transición de la reacción química- rápidamente se rompe para dar lugar a productos estables, y las enzimas, sin sufrir cambios por la reacción, son capaces de seguir catalizando a nuevas moléculas.

## *¿De dónde proviene la energía que proporciona un descenso espectacular de las energías de activación de reacciones específicas?*

La respuesta a estas preguntas tiene dos partes distintas pero relacionadas. La primera se basa en las reordenaciones de los enlaces covalentes durante la reacción catalizada por la enzima. Entre sustratos y grupos funcionales de las enzimas (cadenas laterales específicas de aminoácidos, iones metálicos y coenzimas) tienen lugar reacciones químicas de muchos tipos. Los grupos funcionales catalíticos de las enzimas pueden formar enlaces covalentes transitorios con una sustrato, activándolo para la reacción, o bien puede transferirse transitoriamente un grupo funcional del sustrato a la enzima. En muchos casos, estas reordenaciones solo tiene lugar en el sitio activo de la enzima. Las interacciones covalentes entre enzimas y sustrato reducen la energía de activación

(acelerando, por tanto, la reacción), proporcionando una vía de reacción alternativa y de menor energía.

La segunda parte de la explicación se basa en las interacciones no covalentes entre la enzima y el sustrato. Gran parte de la energía requerida para disminuir la energía de activación proviene generalmente de interacciones débiles no covalentes entre el sustrato y la enzima. El factor que diferencia realmente a las enzimas de la mayoría de catalizadores no enzimáticos es la formación de un complejo ES específico. La interacción entre enzima y sustrato en este complejo esta canalizada por las mismas fuerzas que estabilizan la estructura proteica, incluyendo puentes de hidrógeno e interacciones iónicas e hidrofóbicas. El establecimiento de cada interacción débil en el complejo ES viene acompañado por la liberación de una pequeña cantidad de energía libre que proporciona un cierto grado de estabilidad a la interacción. La energía proveniente de la interacción enzima-sustrato se denomina energía de fijación,  $\Delta G_B$ . Su significado se extiende más allá del de una simple estabilización de la interacción enzima-sustrato- la energía de fijación es la principal fuente de energía libre utilizada por las enzimas para disminuir la energía de activación de las reacciones.



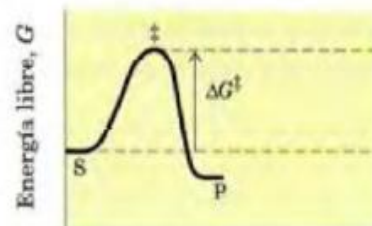
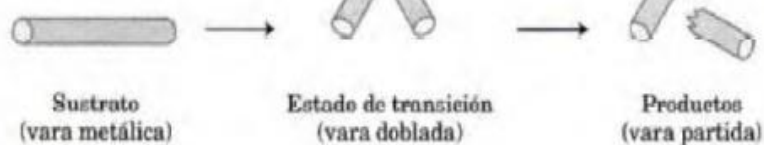
### *¿Cómo utiliza una enzima la energía de fijación para disminuir la energía de activación de la reacción?*

La noción moderna de la catálisis enzimática propuesta por primera vez por Michael Polanyi (1921) y por Haldane en 1930 y después elaborada por Linus Pauling en 1946 dice que para que una enzima catalice una reacción ha de ser complementario al estado de transición de la reacción. Ello significa que las interacciones óptimas entre sustrato y enzima solo pueden tener lugar en el estado de transición. Esto lo podemos analizar con el siguiente ejemplo ilustrativo: la vara de metal se fija en la varasa, pero solo se utilizan unas cuantas interacciones para formar el complejo ES. El sustrato ligado aun ha de experimentar el aumento de energía libre necesario para alcanzar el estado de transición. Ahora, sin embargo, el incremento de energía libre requerido para llevar la vara una conformación curva y parcialmente partida queda nivelado por las interacciones magnéticas (ENERGÍA DE FIJACIÓN) que se forman entre la enzima y el sustrato en el estado de transición. Muchas de estas interacciones se dan en partes de la vara distantes del punto de rotura; así, las interacciones entre el enzima y partes no reactivas del sustrato proporcionan una cierta cantidad de la energía necesaria para catalizar su rotura. Esta "fractura energética" se traduce en una energía de activación neta inferior y una mayor velocidad de reacción.

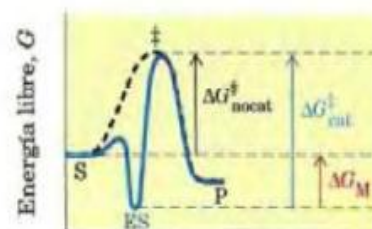
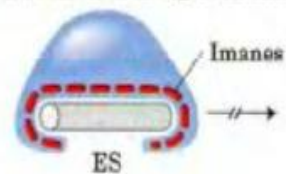
En el complejo ES se forman algunas interacciones débiles, pero el complemento total de las interacciones débiles posibles entre sustrato y enzima solo se forma cuando el sustrato alcanza el estado de transición. La energía de fijación liberada por la formación de esas interacciones equilibra parcialmente la energía requerida para llegar a la cima de la colina energética. La suma de la energía de activación desfavorable (+) y la energía de fijación favorable (-) da como resultado la energía de activación neta menor. El estado de transición tampoco es estable en la enzima, sino que representa un tiempo breve en el que pasa un sustrato en la cima energética. Pero la reacción catalizada por la enzima es mucho más rápida que el proceso sin catalizar, porque la colina es mucho mas baja ahora.

*"Las interacciones de fijación débiles entre el enzima y el sustrato proporcionan la fuerza impulsora principal de la catálisis enzimática."*

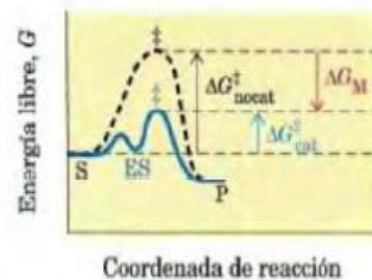
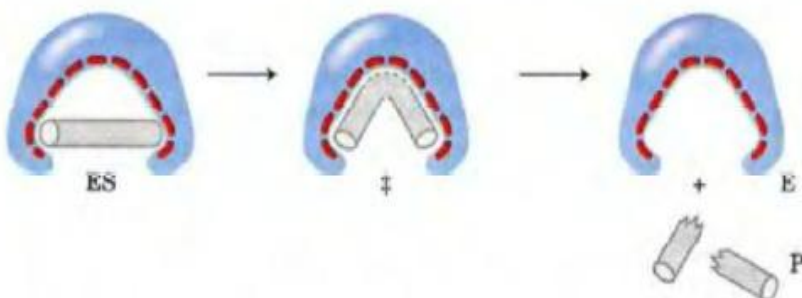
(a) Sin enzima



(b) Enzima complementario al sustrato



(c) Enzima complementario al estado de transición



# CINÉTICA ENZIMÁTICA

## ECUACIÓN DE VELOCIDAD Y CONSTANTE DE VELOCIDAD

La velocidad de una reacción cualquiera viene determinada por la concentración de reactivo o reactivos y por una constante de velocidad usualmente representada por el símbolo **K**. para una reacción unimolecular  $S \rightarrow P$ , la velocidad de la reacción,  $V$ , que representa la cantidad de sustrato  $S$  que ha reaccionado por unidad de tiempo, viene expresada por una ecuación de la velocidad:

$$V = k[S]$$

En esta reacción la velocidad solo depende de la concentración de  $S$ . Es lo que se denomina una reacción de primer orden.

El factor  $K$  es una constante de proporcionalidad que refleja la probabilidad de reacción bajo un conjunto de condiciones (pH, temperatura, etc.). Aquí,  $K$  es una constante de velocidad de primer orden y sus unidades son tiempos inversos, como por ejemplo  $S^{-1}$ .

Si la velocidad de la reacción depende de la concentración de dos compuestos diferentes, o si reaccionan dos moléculas del mismo compuesto, la reacción es de segundo orden (con unidades  $M^{-1} S^{-1}$ ). La ecuación de velocidad tiene entonces la forma:

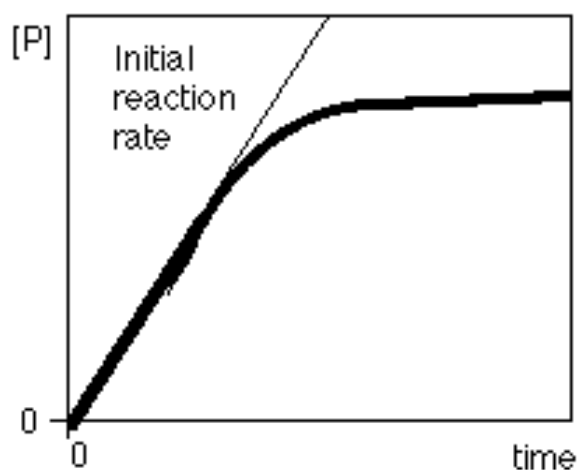
$$V = k[S_1][S_2]$$

## VELOCIDAD INICIAL

Antes de comenzar con el estudio de la cinética enzimática es conveniente aclarar el significado de velocidad inicial en una reacción. La figura llamada curva de avance de la reacción, muestra la aparición del producto ( $P$ ) en función del tiempo ( $t$ ). En los primeros minutos, la formación del producto es una función lineal del tiempo. Es en esta región en donde se obtiene la velocidad inicial de la reacción, la cual corresponde, desde un punto de vista matemático, a la pendiente de la recta. Generalmente esta relación lineal se mantiene cuando el consumo de sustrato no va más allá del 5% de la concentración inicial. Sin embargo, a tiempos más largos, el sistema se desvía de este comportamiento lineal. Esto se puede deber a que la concentración del sustrato se va consumiendo

(disminuye) de forma apreciable, a que la enzima se inhibe con el producto o a la inactivación de la misma enzima conforme pasa el tiempo. Por tanto, cuando se realiza un estudio de cinética enzimática, es fundamental que las velocidades que se obtengan sean las iniciales.

De esta forma, la medida de  $V_0$  se realiza antes de que se consuma el 5% del total del sustrato, de forma que pueda considerarse la  $[S]$  como esencialmente constante a lo largo del experimento. Además, en estas condiciones no es necesario considerar la reacción inversa, ya que la cantidad de producto formada es tan pequeña que la reacción inversa apenas ocurre. De esta forma se simplifican enormemente las ecuaciones de velocidad.



## ORDEN DE LA REACCIÓN

La velocidad inicial en una reacción química en la que participan 2 reactantes depende de la concentración de cada uno de ellos y de su tendencia inherente a reaccionar. Si se mantienen constantes las condiciones de la reacción, pero se duplica la concentración de uno de los reactantes, se registra una duplicación de la velocidad de la reacción. Ocurre lo mismo en la velocidad de la reacción si se duplica la concentración del otro reactante. Se trata de un caso en el que la velocidad de una reacción es proporcional a la concentración de dos reactantes. A una reacción así, se le llama de **segundo orden**.

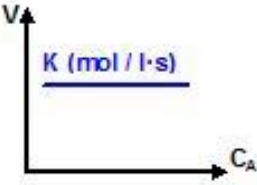
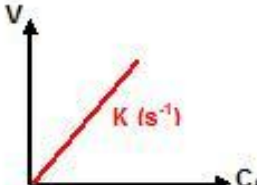
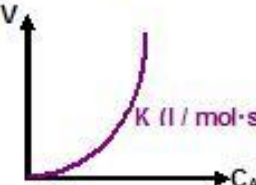
Si la velocidad de la reacción es proporcional a la concentración de solamente uno de los reactantes y a su tendencia inherente a reaccionar, se tendrá una reacción de **primer orden**. Es el caso por ejemplo en que un reactante se descompone en dos productos; o bien, una reacción en la que uno de los dos reactantes es el agua y el otro reactante esta



disuelto en el agua. La adición de mas reactante disuelto en el agua aumentará proporcionalmente la velocidad de la reacción.

Las reacciones de **orden cero**, se refieren a aquéllas en las que la velocidad de la reacción es independiente de la concentración de reactantes.

Para una reacción catalizada por una enzima, se tiene diferentes órdenes de reacción, dependiendo de la concentración del sustrato. En el ejemplo de la gráfica se tiene una concentración fija y constante de enzima que no varía a lo largo del experimento. Lo único que cambia es la concentración del sustrato. A bajas concentraciones de sustrato, la velocidad de la reacción depende de la tendencia inherente a reaccionar en la superficie de la enzima y de la concentración del sustrato, por lo que la velocidad aumenta al aumentar la concentración del sustrato. En esta parte de la curva se tiene una típica reacción de primer orden. En el extremo derecho de la grafica, a concentraciones muy grandes de sustrato, la velocidad de la reacción no aumenta al incrementarse la concentración del sustrato, por lo que en tales circunstancias se trata de una reacción de orden cero.

Reacciones de orden cero $n = 0$	Reacciones de primer orden $n = 1$	Reacciones de segundo orden $n = 2$
		
$V = KC_A^0$  $V = K$ <i>En una reacción de orden cero, la velocidad de reacción es constante y entonces, independiente de la concentración del reactante A.</i>	$V = KC_A^1$  $V = C_A$ <i>En una reacción de primer orden, la velocidad de reacción es directamente proporcional a la concentración del reactante A.</i>	$V = KC_A^2$  <i>En una reacción de segundo orden, la velocidad es proporcional al cuadrado de la concentración el reactante A.</i>

# MODELOS EN CINÉTICA ENZIMÁTICA

Si se ensayan diferentes concentraciones de sustrato, y para cada una de ella se calcula la velocidad inicial, se obtiene, para un gran número de enzimas, una gráfica semejante a la de la figura anterior; en ella la dependencia de la velocidad inicial con respecto a la concentración de sustrato es una función hiperbólica. Sin embargo, estos resultados no tienen más significado que el de describir, fenomenológicamente, el comportamiento de una enzima particular en condiciones experimentales muy específicas. Es de esperarse que, si se cambian algunas de estas variables, por ejemplo la concentración de la enzima, el pH o la temperatura, se van a obtener diferentes hipérbolas rectangulares, cada una de ellas sin aparente conexión con las otras.

## EL MODELO CINÉTICO DE MICHAELIS-MENTEN

El planteamiento del modelo se inicia con la suposición de que las reacciones catalizadas por una enzima proceden en dos pasos. En la primera etapa, la enzima se une al sustrato para dar el complejo enzima-sustrato [ES] en donde  $k_1$  es la constante de velocidad de segundo orden que describe la interacción de la enzima con el sustrato;  $k_2$  es la constante de velocidad de primer orden para la disociación del complejo ES y  $K_s$  la constante de equilibrio para la disociación del complejo ES.

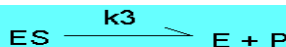


Donde:

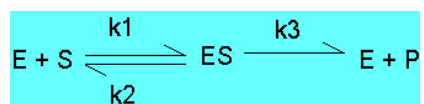
[E]: es la concentración de enzima libre

[S]: es la concentración de sustrato libre

En la segunda etapa, el complejo ES forma el producto (P) y lo libera con una constante de velocidad de primer orden que se llama constante catalítica ( $k_3$ ), debido a que está asociada al proceso catalítico de la transformación del sustrato en producto. En los primeros momentos de la reacción la concentración del producto P es despreciable y se hace la suposición simplificadora de que puede ignorarse la reacción inversa  $P \rightarrow S$ .



Al juntar las dos etapas resulta el siguiente esquema:



En este esquema,  $k_1$ ,  $k_2$  y  $k_3$  son las constantes cinéticas individuales de cada proceso y también reciben el nombre de **constantes microscópicas de velocidad**. Según esto, podemos afirmar que:

- $v_1 = k_1 [\text{E}] [\text{S}]$
- $v_2 = k_2 [\text{ES}]$
- $v_3 = k_3 [\text{ES}]$

$V_o$  se determina por la descomposición de ES para dar producto, la que viene fijada por [ES]:

$$V_o = v_3 = k_3 [\text{ES}]$$

Dado que ES no se puede medir experimentalmente con facilidad, hemos de empezar por encontrar una expresión alternativa para este término. En primer lugar introduciremos el término [E<sub>T</sub>] que representa la concentración total de enzimas (la suma de enzima libre y enzima unido al sustrato). La enzima libre o no fijada, se puede representar por tanto:

$$[\text{E}_T] = [\text{E}] + [\text{ES}]$$

Además, debido a que [S] es normalmente mucho mayor que [E<sub>T</sub>], la cantidad de sustrato fijada por la enzima en cualquier momento de la reacción es despreciable comparada con la [S] total. Con estas consideraciones, los pasos siguientes nos conducirán a una expresión de  $V_o$  en función de parámetros que se miden fácilmente.

#### Paso 1:

Las velocidades de formación y descomposición de ES vienen determinadas por las constantes de velocidad  $k_1$  (formación),  $k_2$  y  $k_3$  (descomposición), según las expresiones siguientes:

Como  $[\text{E}] = [\text{E}_T] - [\text{ES}]$ , resulta que:

$$\text{Velocidad de formación de ES} = k_1 [\text{S}] [\text{E}_T] - k_1 [\text{S}] [\text{ES}]$$

$$\text{Velocidad de descomposición de ES} = k_2 [\text{ES}] + k_3 [\text{ES}]$$

**Paso 2:**

Este modelo cinético adopta la **hipótesis del estado estacionario**, según la cual la velocidad inicial de reacción refleja un estado estacionario en el que la concentración del complejo enzima-sustrato es pequeña y constante a lo largo de la reacción (Figura). Por tanto, la velocidad de formación del complejo enzima-sustrato ( $v_1$ ) es igual a la de su disociación ( $v_2 + v_3$ ):  $= v_2 + v_3$

Con ello podremos entender el comportamiento de nuestro organismo. No ha sido muy fácil la búsqueda de la información y más aún la terminología usada en la disertación de tan importante proceso bioquímico.

# INHIBICIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

---

La actividad de una enzima se puede inhibir de diferentes maneras con agentes químicos. Si a un sistema enzimático se añaden sustancias que impidan la realización de la actividad propia de la enzima, se dice que el sistema ha sido inhibido, y la sustancia usada con estos fines se denomina inhibidor.

De acuerdo con esto, es posible clasificar los fenómenos de inhibición enzimática en diversos grupos: inhibición reversible e inhibición irreversible.

## *Inhibición reversible*

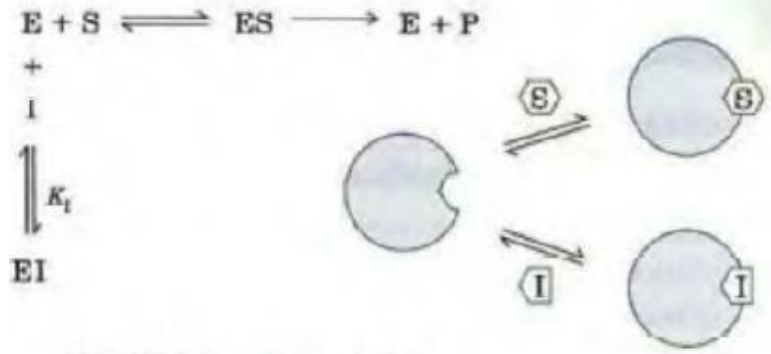
En la inhibición reversible las regiones funcionales de la molécula de la enzima no cambian y la enzima y el inhibidor se equilibran rápidamente. La inhibición reversible puede ser efectuada por alguno de los tres tipos generales de inhibidores: competitivo, no competitivo o mixto.

### ○ *Inhibición competitiva:*

En este caso el inhibidor no permite la formación del complejo enzima – sustrato normal, ya que el inhibidor es una molécula que tiene una similitud estructural con el sustrato, por lo que compite con el sustrato por el mismo sitio activo de la enzima, formándose un complejo enzima-inhibidor. Una vez que el inhibidor ocupa el lugar en el sitio activo de la enzima, el complejo enzima – inhibidor, no se separa, en vista de que la enzima es específica para su sustrato, por lo que no tiene acción sobre el inhibidor y, por lo tanto, queda bloqueada la parte activa de la enzima. El sustrato no puede entrar al lugar activo, que está ocupado por el inhibidor y, de esta manera, se impide la acción enzimática.

Al añadir el inhibidor, la actividad enzimática disminuye sin embargo, si se añaden cantidades mayores del sustrato natural de la enzima nuevamente empieza a aparecer actividad enzimática, y cuando las cantidades de sustrato natural añadido sobrepasan considerablemente a las presentes del inhibidor, la actividad enzimática se restablece por completo.

### Inhibición competitiva



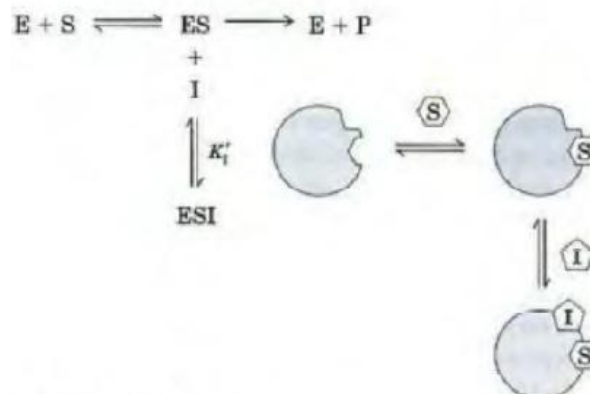
**Figura: El inhibidor competitivo calza en el sitio activo de la enzima de la misma manera o, a veces, mejor que el sustrato(S).**

### ○ *Inhibición no competitiva:*

El inhibidor y el sustrato se pueden unir en forma simultánea a la molécula de la enzima, lo que significa que los dos deben ocupar sitios de unión diferentes sobre la superficie enzimática. Un inhibidor no competitivo disminuye el número de recambio de una enzima, en tanto que un inhibidor competitivo reduce la proporción de las moléculas de la enzima que han unido el sustrato. La inhibición no competitiva es una forma de inhibición donde la unión del inhibidor con la enzima reduce su actividad pero no afecta la unión con el sustrato. Como resultado, el grado de inhibición depende solamente de la concentración de inhibidor, por lo que no se puede revertir mediante el incremento de la concentración del sustrato. El inhibidor no competitivo solo se une al complejo ES.

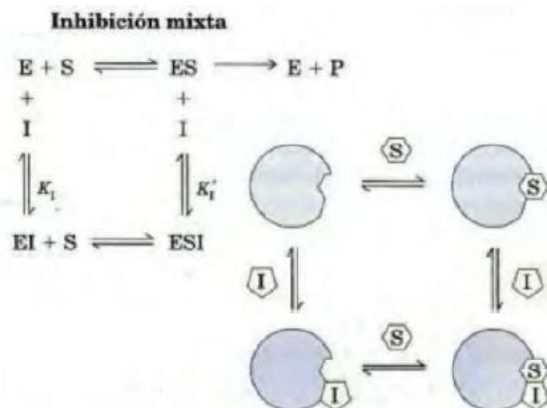
Un inhibidor competitivo aumenta el valor de  $K_m$  pero no se altera el de  $V_{max}$ . Por otra parte, un inhibidor no competitivo reduce  $V_{max}$ , pero no tiene efecto sobre  $K_m$ . De este modo puede predecirse que la inhibición competitiva se puede superar en una concentración de sustrato lo suficientemente alta, mientras que la inhibición no competitiva no puede ser invertida al incrementar la concentración del sustrato.

### Inhibición acompetitiva



### ○ *Inhibidor mixto:*

Al igual que la inhibición no competitiva, el inhibidor también se fija a un sitio distinto al del sustrato, pero se fija tanto a la enzima como al complejo enzima-sustrato (ES).



### + *Inhibición irreversible*

Los inhibidores reversibles son los que se combinan con o destruyen un grupo de la enzima que es esencial para su actividad, o aquellos que forman una asociación covalente muy estable entre el inhibidor y la enzima.

En la inhibición irreversible, ocurren modificaciones en los grupos funcionales de la molécula de la enzima. Además, el inhibidor está unido tan estrechamente a la enzima que las dos moléculas se disocian con mucha lentitud. Los inhibidores irreversibles son generalmente específicos para un tipo de enzima y no inactivan a todas las proteínas. No funcionan destruyendo la estructura proteínica, sino alterando específicamente la estructura tridimensional del sitio activo inhabilitándolo.

En estas circunstancias la actividad enzimática se reduce notablemente o incluso se pierde. Varias sustancias tóxicas para el sistema nervioso, incluyendo los agentes activos de varios insecticidas, actúan como inhibidores irreversibles de la actividad enzimática. Incluso después de que se ha eliminado el inhibidor, la actividad enzimática no puede ser restaurada ya que ha habido una modificación sustancial o crucial de la molécula de la enzima.



# MECANISMOS DE REGULACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

---

En las células vivas existen cientos de enzimas diferentes, cada una de las cuales es un catalizador muy efectivo para una o más reacciones químicas; pero todas actúan en conjunto de manera coordinada para que todas las actividades químicas en las células vivas se integren unas a las otras. Consecuencia obvia de esto es que la célula viva no sintetiza ni cataboliza más material que el necesario para desarrollar su metabolismo y crecimiento normal, actividad que requiere un control preciso, aunque ciertamente todos los procesos metabólicos principales son capaces de autorregularse.

El control del metabolismo celular implica esencialmente la regulación de la actividad enzimática. La regulación de la actividad enzimática contribuye en gran parte a preservar la homeostasia que, mantiene un entorno intracelular e intra-orgánico relativamente constante en presencia de fluctuaciones amplias en el medio ambiente externo, como cambios de temperatura, presencia o ausencia de agua o tipos específicos de alimentos.

## OBJETIVOS DE LA REGULACIÓN:

1. Producir los metabolitos necesarios y en la cantidad adecuada cuando son requeridos. (máx. economía).
2. Aprovechar la energía disponible en forma eficiente.
3. Mantener un control de las fuentes energéticas.
4. Mantener un nivel adecuado de ATP.

## Tipos de regulación de la actividad enzimática

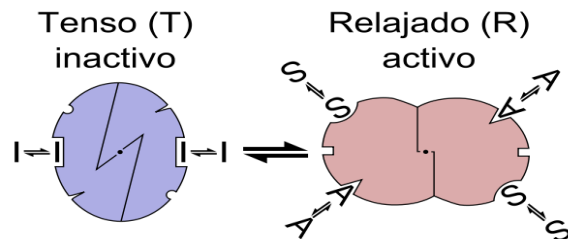
Si aumenta la concentración de sustrato o de la enzima, la velocidad de la reacción también crece; en otras palabras, a mayor cantidad de sustrato o enzima, mas grande es la elaboración de producto, en un tiempo dado. En algunas ocasiones ciertas células pueden disponer abundantemente de un sustrato definido, y no poseer la cantidad adecuada de la enzima específica para ese sustrato. La enzima, en tal caso, constituye un factor limitante del metabolismo celular en aquellas células.

La actividad enzimática puede ser modulada por cambios de pH y temperatura, como ya ha quedado expuesto. Por otra parte, la presencia de los productos finales de una reacción enzimática puede hacer que esta sea más lenta, o incluso invertir su sentido.



También existen moléculas que actúan sobre las enzimas inhibiendo su acción catalítica, bien por ocupar temporalmente el centro activo (inhibidores competitivos) o por alterar la conformación espacial de la enzima (inhibidores no competitivos)

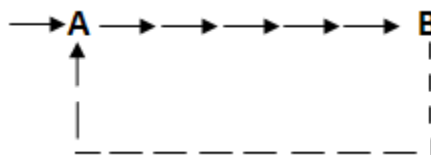
Hay enzimas, llamados enzimas alostéricos que pueden adoptar dos conformaciones interconvertibles, llamadas R (relajada) y T (tensa). Se denomina R a la más activa.



### Autorregulación.-

Es la forma más simple de regulación de un proceso enzimático dada por uno de los metabolitos producidos durante el funcionamiento de una vía metabólica. El compuesto B es sintetizado en varias etapas a partir de un precursor A. Al no existir una inhibición de la enzima que degrada A, la cantidad de B y de todos los componentes de la vía alcanzarán una concentración dependiente de la relación entre síntesis y degradación. La síntesis ininterrumpida de B sería innecesaria, y aun perjudicial, ya que se podría alcanzar concentraciones tan altas de B que llegaran a ser tóxicas para el organismo. En contraste, si B es un inhibidor de la primera enzima, al incrementar su concentración, el grado de la inhibición aumenta y disminuye la conversión de A en B; esto produce un incremento de la concentración de A. Habitualmente el compuesto A puede ser utilizado en otras vías metabólicas. El principio de este mecanismo se denomina inhibición por retroalimentación, donde el producto final (B) de la secuencia de una reacción de varios pasos inhibe una enzima que cataliza una reacción anterior en la secuencia, por lo general la primera enzima de la serie que gobierna cada paso (A).

La enzima inhibida se llama enzima reguladora y el metabolito inhibidor se denomina modulador. El substrato de enzima reguladora es diferente en estructura del inhibidor, de modo que el término alosterismo (que significa "estructura diferente") se utiliza para describir la modificación que produce en una reacción enzimática un compuesto con forma diferente a la del verdadero substrato. Los moduladores alostéricos deben unirse a la enzima en cualquier parte que no sea el sitio activo, ya que existe una estricta especificidad de ajuste entre la molécula del substrato y el centro activo de la enzima. Una vez que un modulador alostérico se une a la enzima, induce un cambio en la conformación o forma de la enzima.



Los moduladores participan en la regulación de la actividad de las enzimas por medio de cambios en la conformación durante su unión con la enzima, pero de otra manera están aún disponibles en la célula para el metabolismo. Una vez liberado el modulador del complejo con la enzima, regresa al "pool" metabólico celular.

El alosterismo es una de las principales formas de regulación en la célula debido a que puede producir cambios rápidos y fácilmente reversibles en la actividad de las enzimas (y, por lo tanto, en el metabolismo) sin depender de que el regulador tenga una estructura similar al sustrato de la enzima (lo que puede ayudar a conectar vías metabólicas).

## PROPIEDADES DE LAS ENZIMAS REGULADORAS

---

No todas las enzimas son reguladoras, solo aquellas que hacen posible el control e integración de la actividad de los sistemas multienzimáticos. Las enzimas reguladoras usualmente son mucho más grandes, complejas y difíciles de purificar que las no reguladoras. Todas tienen más de una cadena de polipéptidos, e incluso algunas tienen muchas cadenas. Todas poseen las subunidades necesarias para su función reguladora.

### *Modulador.-*

Las enzimas reguladoras están sujetas a la acción de un metabolito regulador llamado efector, modificador o modulador. El modulador modifica primordialmente la afinidad de las enzimas por sus sustratos y frecuentemente también por otros componentes de la reacción.

- *Modulador Positivo:*

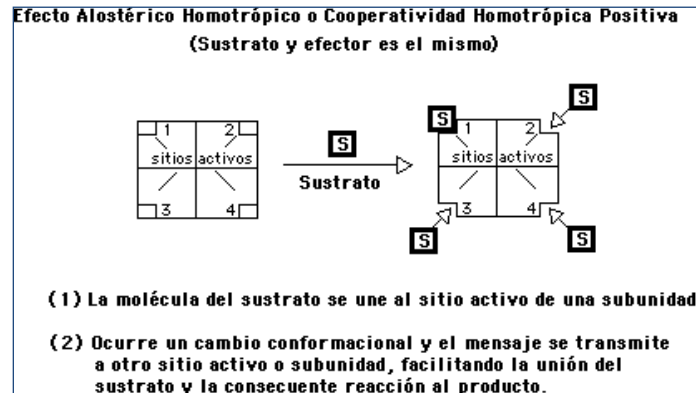
La presencia de un efector positivo (activador) permite el incremento de la afinidad de la enzima por el sustrato.

- *Modulador Negativo:*

La presencia de un inhibidor o efector negativo hace que se disminuya la afinidad de la enzima por los sustratos; es decir, necesita mayor concentración del sustrato en presencia del efector negativo o modulador negativo para obtener la misma velocidad de reacción que si hubiera o estuvieran estos moduladores.

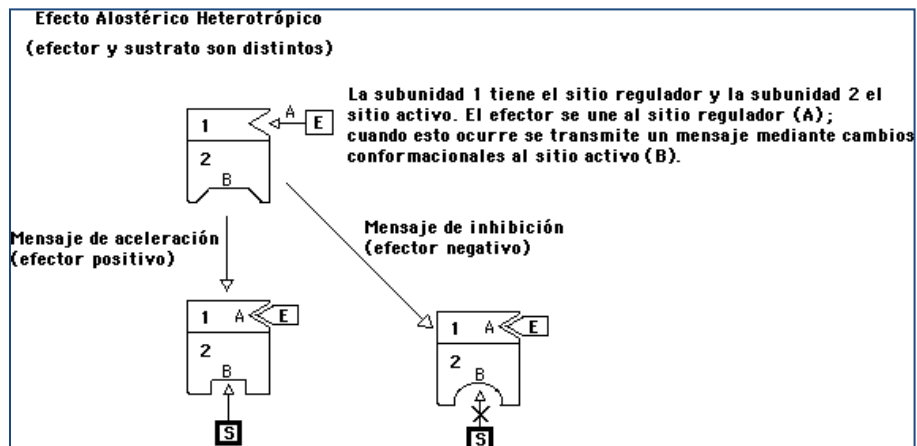
### Enzimas reguladoras homotrópicas

En las enzimas reguladoras homotrópicas, la molécula del sustrato no solamente es sustrato sino también modulador. Estas enzimas poseen dos o más sitios de unión para el sustrato y al menos uno de estos es catalítico.



### Enzimas reguladoras heterotrópicas

Las enzimas reguladoras heterotrópicas son modificadas por el sustrato y uno o más moduladores que no son sustrato. Estas enzimas no solo tienen uniones o sitios catalíticos para el sustrato sino también sitios de unión para el modulador que está separado físicamente del sitio catalítico.

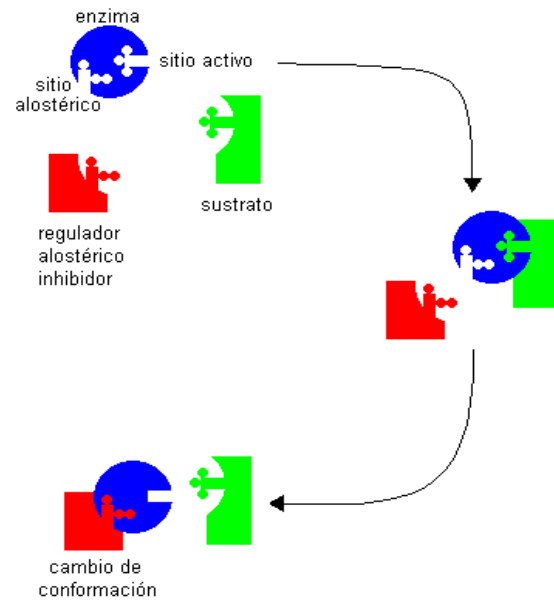


## Enzimas alostéricas

Una enzima alostérica es una enzima cuya actividad está regulada mediante un centro alostérico, que es un sitio, distinto del centro activo de la enzima, al que se une un regulador (llamado regulador alostérico) de manera reversible y no covalente. La unión de este regulador modifica la estructura tridimensional de la enzima y llega a afectar la configuración del sitio activo, por lo que aumenta o disminuye su actividad, según el caso.

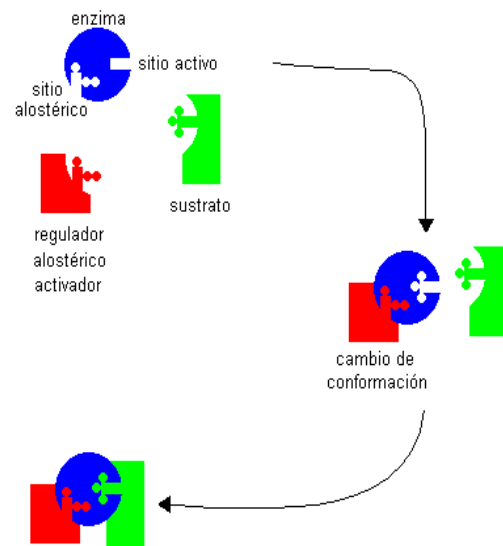
### Regulador Alostérico

El regulador alostérico puede ser un activador o un inhibidor. Es decir, puede ser regulador positivo o negativo. Al unirse el inhibidor y la enzima, se alteran las uniones débiles de la proteína (enzima). Esto provoca un cambio en la conformación de la proteína y altera su función. Cambia la conformación y por lo tanto baja su afinidad por el sustrato. Por lo tanto baja la cantidad de producto.



### Activador Alostérico

Si en lugar de inhibidor es un activador, entonces favorece la afinidad de la enzima porque mejora el sitio activo para el sustrato.



# PROENZIMAS

---

Zimógenos o proenzimas son precursores inactivos de las enzimas. Observe que este concepto es diferente a decir que son "enzimas inactivas". Una enzima inactiva es una enzima que ha perdido su actividad debido a diferentes factores, como factores físicos, químicos o aun metabólicos.

Una proenzima es un precursor enzimático inactivo, es decir, no cataliza ninguna reacción como hacen los enzimas. Para activarse, necesita de un cambio bioquímico en su estructura que le lleve a conformar un centro activo donde poder realizar la catálisis.

Un zimógeno es una molécula que necesita ser activada para convertirse en una enzima activa, por lo que es más exacto decir que los zimógenos son precursores de enzimas, que decir que son enzimas inactivas. Las enzimas digestivas, algunos factores de la coagulación y otras proteínas son sintetizados como zimógenos.

La síntesis de enzimas en forma de zimógenos es uno de los "mecanismos de seguridad" con que cuenta el organismo para su supervivencia. Por ejemplo, la síntesis de enzimas digestivas en forma inactiva es un mecanismo de seguridad para las células que sintetizan esas enzimas, ya que las enzimas proteolíticas sintetizadas como zimógenos no son activadas hasta que no abandonan la célula.

Los zimógenos son utilizados en muchas reacciones biológicas, como en la digestión o en la coagulación sanguínea. Son un brillante ejemplo de regulación endógena de los enzimas, de como controlar la función de éstos. Las modificaciones que sufren los zimógenos son irreversibles, por lo que para poder detener las reacciones que llevan a cabo es necesario un inhibidor del enzima al que dan lugar. (Ejemplo: el tripsinógeno (zimógeno) da lugar a la tripsina (enzima), que a su vez activa otros zimógenos. Para poder detener la activación de los zimógenos, la tripsina no se puede volver a convertir en tripsinógeno, sino que debe excretarse un inhibidor de tripsina para detener su tarea).

Un buen ejemplo de lo que ocurre cuando algunos zimógenos son activados "antes de tiempo", en el interior de las células, se ve en la pancreatitis aguda, en la cual la activación prematura de algunas de las enzimas pancreáticas como tripsina, fosfolipasa A2 y elastasa, producen la auto-digestión del tejido pancreático.

# ANEXOS

# CONCLUSIONES

---

Las enzimas son catalizadores biológicos de naturaleza proteica presentes en todos los procesos bioquímicos, catalizan reacciones gracias a las interacciones covalentes y no covalentes que forman con el sustrato teniendo en cuenta las condiciones externas como la temperatura y el pH que deben de ser las apropiadas para llevar a cabo su función de acelerar la velocidad de las reacciones químicas que tiene lugar en los seres vivos dando así un factor de  $10^{12}$  a  $10^{20}$  respecto a las reacciones no catalizadas, por lo que la actividad molar de las enzimas son altas.

Los aminoácidos se unen al centro activo para establecer los enlaces débiles con el sustrato por lo que la especificidad de la enzima radica ahí, Sin olvidar que las enzimas poseen varios grados de especificidad como la especificidad de grupo en donde la enzima es específica a un enlace químico adyacente al grupo determinado, la baja especificidad donde la enzima no discrimina entre sustratos más bien específica solamente al enlace a atacar, otro es la especificidad estereoquímica donde la enzima presenta una estereo-especificidad en la catálisis y así diferenciar entre isómeros geométricos y ópticos teniendo en cuenta que son asimétricos o quirales formado por L-aminoácidos, y por últimos la especificidad absoluta en donde la enzima ataca solamente a un sustrato y por lo consiguiente cataliza solamente a una reacción.

Las enzimas pueden ser simples (estructura proteica) o conjugadas (holoenzima) donde se forma por una parte proteica y otra no proteica. La parte proteica conocida como apoenzima es termolábil y no puede desarrollar su acción catalítica en ausencia de los cofactores que pueden ser iones inorgánicos como el Fe, Mg, Mn, Zn u orgánicos como la coenzima compuesto que por medio de su unión covalente con la enzima se conoce como grupo prostético. Es decir la parte no proteica (o cofactor) es un compuesto de bajo peso molecular, estable al calor es decir termoestable, se divide en orgánico (coenzima y grupo prostético) e inorgánico (iones metálicos).

La enzima se une al sustrato en el centro activo por medio de múltiples interacciones débiles como son los puentes de hidrógenos. En el caso de las interacciones covalentes forman un estado transitorio que lo activa de manera que lo prepara para que reaccione frente a una coenzima o un grupo y por otro lado cada interacción débil que se forma entre la enzima y el sustrato libera una pequeña cantidad de energía llamada energía de fijación (favorable) la cual es capaz de compensar en parte la energía de activación (desfavorable).

Como todo catalizador, las enzimas se encargan de disminuir la energía de activación ( $\Delta G^\circ$ ) de una reacción, causando la aceleración de la tasa de reacción. Teniendo en cuenta que no alteran el balance energético, ni modifican el equilibrio de la reacción en la que interviene tan solo acelera el proceso más veces. Por lo tanto la reacción que se da por el control de una enzima o catalizador obtiene el equilibrio más rápido que la reacción no catalizada.

En las reacciones enzimáticas influyen los factores como el cambio de pH donde la actividad optima de las enzimas se da a pH de 5 y 9, el cambio en la temperatura debido a que la enzima poseen un rango optimo de 30-40°C y por encima de 45°C comienza a desnaturalizarse, la desnaturalización provoca la rotura de los puentes de hidrógeno que mantienen las estructuras secundaria y terciaria, la presencia de cofactores, las concentraciones del sustrato y de los productos finales. Los agentes que desnaturalizan a las proteínas provocan también la destrucción o inactivación de las enzimas, ya sea los ácidos fuertes, los metales pesados o el calor.

La especificidad de reacción corresponde a las apoenzimas, mientras que las coenzimas son las encargadas de pasar por las transformaciones químicas necesarias para la catálisis enzimática evitando que la enzima sufra degeneración de tal manera que la enzima permanece intacta para llevar a cabo otro ciclo de reacciones simplemente cambiando la coenzima. Las coenzimas participan en las diferentes reacciones de acuerdo a la apoenzima a la que se encuentre unido; mientras que la apoenzima es catalíticamente inactiva hasta el momento en que se une al cofactor adecuado para así dirigir la reacción bioquímica en un sentido determinado.

Las coenzimas pueden ser receptores o donadores de grupos químicos; como son los de transferencia: ATP (transporte de grupos fosfatos) y los de oxidación y reducción: transporte de H<sup>+</sup>. La asociación entre el grupo prostético y la apoenzima correspondiente es permanente y se da en etapas donde la coenzima modifica su estructura para después volver a su estado inicial. Cuando el grupo prostético regresa a su estado inicial se da sin la disociación de su apoenzima.

La designación de las enzimas se ha dado de diversas maneras, como agregando el sufijo "asa" al nombre de molécula sobre la cual ejerce su actividad catalítica; otra manera fue designando el nombre en función del tipo de reacción que catalizan; Por lo cual se creó tres formas de nombrar a una enzima: nombres particulares, nombre sistemático y código de la comisión enzimática. Antiguamente las enzimas recibían nombres particulares fijados por quienes eran descubiertas, pero a medida que iban aumentando las enzimas se requirió una nomenclatura sistemática donde se indicaba sobre la acción específica de cada enzima y los sustratos sobre los que actuaba; y por último el código de la comisión enzimática donde se propuso la asignación de un número con cuatro componentes donde el primer número indica a cuál de las seis clases pertenece la enzima; el segundo número indica las diferentes subclases que se encuentran dentro de las clases; el tercer y cuarto número se refiere a los grupos químicos específicos que participan en la reacción.

Podemos clasificar las enzimas de acuerdo al tipo de reacción que catalizan teniendo así las oxido-reductasas, transferasas, hidrolasas, liasas, isomerasas y ligasas. Las Oxido-reductasas se encargan de catalizar reacciones de oxido-reducción; las Transferasas catalizan reacciones de transferencia de grupos funcionales donde pueden requerir la presencia de coenzimas; las Hidrolasas catalizan reacciones de hidrólisis; las Liasas catalizan la lisis del sustrato al crear dobles enlaces; las Isomerasas o reacciones de



isomerización catalizan cambios de la estructura de la molécula y las Ligasas catalizan la unión de dos sustratos requiriendo la participación de ATP.

La activación de un sustrato se da cuando existe una gran afinidad química entre el sustrato y el sitio activo del enzima, el cual es una pequeña hendidura que posee la enzima con una determinada forma geométrica y una distribución de cargas, para que el sustrato pueda encajar perfectamente en el enzima. Este sustrato se une al sitio activo del enzima gracias a las interacciones débiles, enlaces de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas e interacciones iónicas; que se da entre ellos, preferentemente en el estado de transición de la reacción; éstas interacciones existentes entre el enzima y el sustrato, liberan una pequeña cantidad de energía, denominada energía de fijación, la cual compensa una parte de la energía de activación, para con ello poder llevar a cabo una reacción determinada en menor tiempo. Ésta energía de fijación disminuye la energía de activación por medio de la reducción de entropía, la desolvatación, La disminución de los estados de distorsión y el acople inducido, los cuales son algunos de los mecanismos que permiten esta disminución de energía, los mismos que se dan gracias a los enlaces débiles entre el sustrato y el enzima.

La velocidad de una reacción está determinada por la concentración del sustrato  $[S]$  y por una constante de velocidad ( $K$ ), esta velocidad varía dependiendo del orden de reacción; si la reacción es de orden cero, la velocidad de reacción no aumenta y es totalmente independiente de la concentración del sustrato; si la reacción es de primer orden, la velocidad de reacción se ve afectada únicamente por la concentración de un sustrato, lo que sucede aquí es que al unirse un sustrato con el enzima vamos a tener dos productos; y si la reacción es de segundo orden, la velocidad de reacción se ve afectada por la concentración de ambos sustratos. Una vez explicado aquí el orden de la reacción, podemos decir que a medida que aumente la concentración, también aumentará la velocidad de reacción, a excepción de la reacción de orden cero, la cual permanece constante.

Para poder explicar el modelo cinético de Michaelis-Menten nos basamos en la suposición de que éstas reacciones que va a ser catalizadas, se van a dar en dos fases: en la primera, en donde la enzima se une al sustrato para obtener así el complejo ES, en donde la constante de velocidad de segundo orden ( $K_1$ ) nos muestra la interacción existente entre la enzima y el sustrato; considerada esta formación como un proceso de equilibrio rápido; mientras que la constante de velocidad de primer orden ( $k_2$ ) nos describe la disociación del complejo ES. De aquí parte la segunda fase, en donde el complejo ES, gracias a la constante de velocidad de primer orden ( $k_3$ ), constante catalítica, va a liberar los productos, considerada esta formación como un proceso lento.

La cinética enzimática conlleva distintas etapas para lo cual la velocidad cambia con el orden de reacción, pero con la ayuda de los postulados de Michaelis-Menten, que nos explican claramente que primero se da la formación del complejo productivo enzima-sustrato (ES), que luego da lugar a la formación de productos, liberando el enzima, debido a que el sustrato ya modificado pierde su afinidad por el sitio activo del enzima, para que pueda catalizar a futuras reacciones determinadas; la ecuación de Michaelis-Menten nos

permite trabajar con la concentración del sustrato, la velocidad máxima de reacción, y una constante propia de esta ecuación, la constante de Michaelis-Menten ( $K_m$ ).

A los inhibidores se les clasifica según su sitio de acción en la enzima, si modifican o no químicamente a la enzima o de acuerdo con los parámetros cinéticos sobre los que tienen efectos. Se distinguen dos clases de inhibidores según si al elevar la concentración de sustrato se supera la inhibición o no. La acción de inhibidor competitivo es disminuir el número de moléculas de enzima libre disponibles para enlazarse con el sustrato, es decir, para formar  $ES$  y, por tanto, formar un producto.

Hay otros inhibidores que actúan en forma irreversible al modificar químicamente a la enzima. Estas modificaciones tienen que ver, por lo general, con formar o romper enlaces covalentes con residuos de aminoácidos esenciales para la fijación del sustrato, la catálisis o el mantenimiento de la conformación funcional de la enzima. Estos cambios covalentes son relativamente estables, una enzima que fue "envenenada" por un inhibidor irreversible permanece en su estado de inhibición incluso después de eliminar el inhibidor remanente del entorno.

La capacidad catalítica de la reacción que limita la velocidad en una vía metabólica es el producto de la concentración de las moléculas de enzima y su eficacia catalítica intrínseca. Por lo tanto se deduce que la capacidad catalítica puede ser afectada tanto por la cantidad de enzima presente como por alterar su eficacia catalítica intrínseca.

La regulación de la actividad enzimática mediante la fosforilación - desfosforilación tiene semejanza con la regulación a través de la inhibición por retroalimentación. Ambas proporcionan una regulación a corto plazo y fácilmente reversible del flujo de metabolitos. Las dos actúan sin alterar la expresión de los genes. Ambas actúan en las primeras enzimas de una larga secuencia metabólica y con frecuencia biosintética, y en sitios alostéricos más catalíticos.

Hay distintos tipos de catálisis mediados por las enzimas entre los más importantes encontramos la catálisis ácido-base, covalente e ión metálico. Estas reacciones permiten formar o romper enlaces del sustrato de manera que este se transforme a un producto diferente bien sea por la formación de enlaces covalentes transitorios o por transferencia de un grupo funcional desde la enzima hacia el sustrato.

Las enzimas reguladoras están sujetas a la acción de un metabolito regulador llamado efector o modulador. Este metabolito se encarga de modificar la afinidad de las enzimas por sus sustratos y otros componentes de la reacción. En el caso de existir la presencia de un efector positivo o también llamado activador, permite generar un incremento de la afinidad de la enzima por el sustrato.

La actividad de las enzimas alostéricas está regulada por medio del centro alostérico, el cual es distinto del centro activo de la enzima. Este centro se le une de manera covalente y reversible, logrando por medio de su enlace modificación de la estructura de la enzima como tal y afectando la configuración del sitio activo, donde la catálisis aumentará o

disminuirá dependiendo si es un regulador positivo o negativo, es decir, un activador o un inhibidor enzimático.

Las proenzimas son sintetizadas a manera de precursores inactivos, que carecen de una función catalítica alguna; las proenzimas pueden activarse mostrando así su función catalítica, mediante una modificación bioquímica de su estructura en el lisosoma, por medio de la eliminación de un péptido que conforma su molécula; tomando en cuenta que estas modificaciones son irreversibles, la extracción del péptido de la estructura del zimógeno llevará a conformar un sitio activo, donde se podrá llevar a cabo la catálisis enzimática, la cual solo podrá detener su actividad mediante la presencia de un inhibidor enzimático.

# CONCLUSIONES DEL PAPER

---

El aprovechamiento del suero de leche, que es comúnmente considerado como producto de rechazo en la industria, sera beneficioso tanto para el estudio de galactooligosacaridos como para el medio ambiente, ya que el suero de leche es considerado como una sustancia con una gran demanda biológica de oxígeno.

Estos galactooligosacaridos son de importancia dentro de la alimentación humana ya que son considerados prebióticos, es decir son sustancias que favorecen el desarrollo selectivo de ciertas cepas de microorganismos presentes en nuestro colon. Para poder producir estos GOS se aplican ciertas levaduras y hongos filamentosos sobre el suero de leche (que contiene un alto porcentaje de lactosa) los cuales secretaran enzimas que mediante una actividad cinetica controlada y ph y temperaturas optimas se lograra la transgalactosilación de la lactosa.

Para la síntesis enzimática de los GOS deben llevarse a cabo controles cinéticos, ya que tendrá mayor afinidad por el grupo hidroxilo de un azúcar no protegido como la lactosa que se unirá al complejo galactosil-enzima en una reacción de quimioselectividad. Mientras que con un control termodinámico se deberá recurrir al uso de solventes apolares para cambiar la dirección de la reacción hacia la síntesis, por esto es más exitoso controlarlo cinéticamente. Algunos factores exógenos como la temperatura y el pH, ademas de la concentración de la enzima no influyen en la cantidad de GOS que se produzca, pero si en la velocidad de esta reacción de transgalatosilacion.

# BIBLIOGRAFÍA

---

Nelson, David; y Michael, Cox. Leningher: Principios de Bioquímica. Cuarta Edición. Impreso en la Universidad de Wisconsin. Wisconsin, Estados Unidos. 2001. Capítulo 6.

Badui, Salvador. Química de los Alimentos. Tercera Edición. Worth Publishers Inc. New York; USA, 1993. Capítulo 5.

Murray, Robert; Peter, Mayes; Daryl, Granner; y Victor, Rodwell. Bioquímica de Harper. Décimacuarta edición español. Editorial Manual Moderno, México D.F., México. 2006. Capítulo: 8-11.

Horton, Robert; Laurence, Moran; Gray, Scrimgeour; Marc, Perry; y David, Rawn. Principios de Bioquímica. Décima cuarta edición. Editorial Prentice Hall . Washington, Estados Unidos. 2006. Capítulo 5 -7.

Fennema, Owen. Química de los Alimentos. Segunda Edición. Editorial Acribia. Zaragoza, España, 1993. Capítulo 6.

Nomenclatura y clasificación de enzimas  
<http://www.practiciencia.com.ar/cbiologicas/biologia/bioquimica/proteinas/enzimas/clasific a/index.html>. 20-junio-14.

Coenzima <http://www.medmol.es/glosario/81/>. 20-junio-14.

Apoenzima <http://sebbm.es/BioROM/contenido/UIB/Jmoldesarrollo/Vitaminasjmol/vitamte xt.htm>. 20-junio-14.

Transglicosilación enzimática. Rita, María.  
[http://editorial.unsa.edu.ar/tesis/martearena\\_rita/ejemplartesis.pdf](http://editorial.unsa.edu.ar/tesis/martearena_rita/ejemplartesis.pdf). Junio 5, 2014

Transglicosilación .Brötz, Heike. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1432-1033.1997.t01-1-00193.x/full>. Junio 5,2014

Transgalactosilación. Sauerbrei, Bernd.  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S004040399288050F>. Junio 5, 2014