

ENZIMELE

Tagadiuc Olga,
dr. hab. șt. med., conf. univ.

ENZIMELE
sunt catalizatori biologici

Asemănările cu catalizatorii nebiologici

1. Catalizează doar reacțiile termodinamic
posibile.
2. Nu schimbă echilibrul reacției, doar
accelerează instalarea lui.
3. Nu modifică sensul reacției.
4. Nu se consumă în reacție.

Deosebiri

de catalizatorii nebiologici

1. viteză de câteva ordine mai mari
2. catalizează reacțiile în condiții blânde
3. specificitatea
4. reglarea vitezei reacțiilor enzimaticice
5. viteza reacției este direct proporțională cu concentrația enzimei

Substratul reacției - S

– substanța transformarea căreia este catalizată de enzimă

Produsul reacției - P

– substanța ce se formează în reacția catalizată de enzimă

Organizarea funcțională a enzimelor

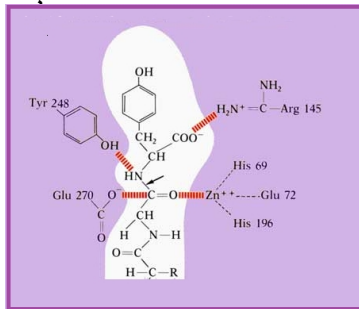
Centrul activ

În centrul activ se fixează:

1. substratul
2. modulatorii

Organizarea funcțională a enzimelor

Centrul activ

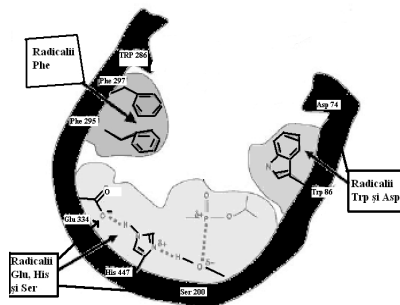


Centrul activ al carboxipeptidazei

http://www.biog1105-1106.org/demos/105/unit3/media/activesite_chem.jpg

Organizarea funcțională a enzimelor

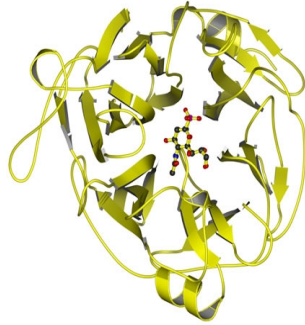
Centrul activ



Organizarea funcțională a enzimelor

Centrul activ

3. fixează moleculele substratului și determină activitatea catalitică a enzimei



Organizarea funcțională a enzimelor

Centrul alosteric

1. Este centrul reglator
2. Fixează modulatorul alosteric
3. Adăugarea modulatorului modifică conformația enzimei și secundar activitatea ei
4. Modulatorul pozitiv – activator
5. Modulatorul negativ - inhibitor

Reglarea alosterică a activității enzimatice



Structura enzimelor (E)

Toate enzimele sunt proteine

- E simple
- E conjugate – formate din:
 - apoenzimă
 - cofactor

Cofactorii

1. Coenzimă
2. Grupă prostetică

Coenzimele (CoE)

1. Sunt parte componentă a centrului activ
2. Contribuie la stabilizarea conformației enzimei
3. Contribuie la fixarea substratului
4. Participă nemijlocit la actul catalitic

Clasificarea coenzimelor

- I. Coenzime de natură neorganică – ionii metalelor (Fe^{2+} , Cu^+ , Mg^{2+} , Zn^{2+} , etc.)
- II. Coenzime de natură organică
 1. Derivate ale vitaminelor (B_1 , B_2 , B_6 , PP, etc)
 2. Porfirinele (hemurile de diversă natură)
 3. Nucleotidele

Coenzimele vitaminice

Vit B_1

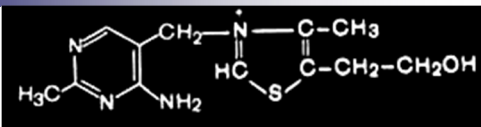
Denumirea - tiamina

CoE - tiamindifosfatul sau tiaminpirofosfatul (TPP)

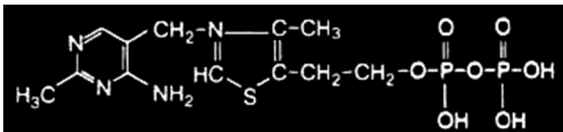
Este coenzimă a enzimelor ce catalizează reacții de:

1. Decarboxilare oxidativă a α -cetoacizilor
2. Transcetolare
3. etc.

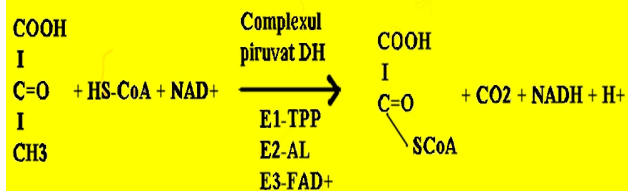
Vitamina B_1
tiamina



TPP



Reacția sumară a decarboxilării oxidative a piruvatului cu participarea TPP (deriv. vit. B₁)



Coenzimele vitaminice

Vit B₂

Denumirea - riboflavina

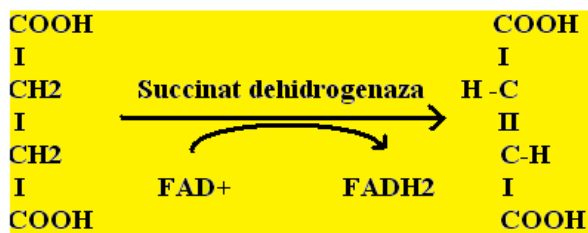
CoE – a) FMN – flavinmononucleotid

b) FAD – flavinadeninucleotid

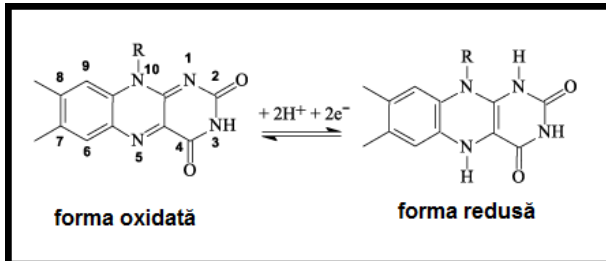
Sunt coenzime a enzimelor ce catalizează reacții de:

1. Oxidoreducere (dehidrogenare)
2. Oxidare

Reacția de dehidrogenare a succinatului cu participarea FAD – derivatul vit. B₂



Partea activă a FAD și FMN



Coenzimele vitaminice

Vit. B₆

Denumirea – piridoxină, piridoxamină, piridoxal

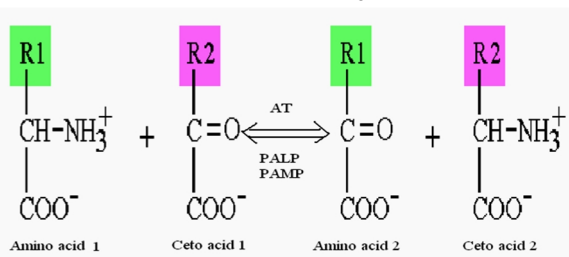
CoE: 1) piridoxaminfosfat – PAMP

2) piridoxalfosfat – PALP

Sunt coenzime a enzimelor ce catalizează reacții de:

1. transaminare;
2. dezaminare oxidativă;
3. etc.

Reacția de transaminare a aminoacizilor cu participarea PALP și PAMP – derivații vit. B₆



Coenzimele vitaminice

Vit. PP

Denumirea – niacină, nicotinamidă

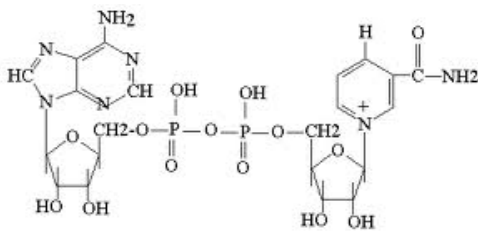
CoE: 1) NAD - NicotinamidAdeninDinucleotid

2) NADP - NicotinamidAdeninDinucleotidFosfat

Sunt coenzime a enzimelor ce catalizează reacții de oxidoreducere.

Coenzimele vitaminice

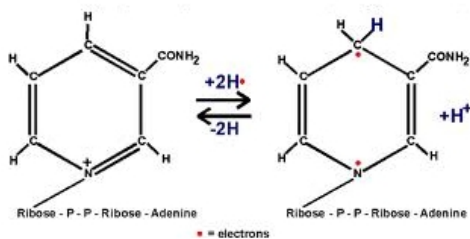
NAD⁺ și NADP⁺



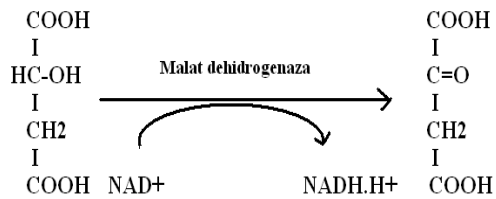
nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺)

Coenzimele vitaminice

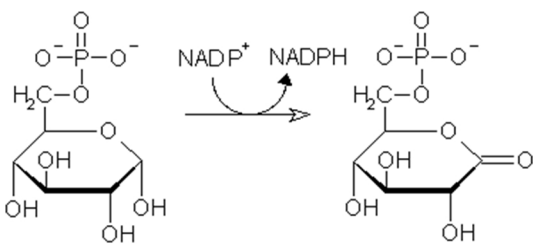
NAD⁺ și NADP⁺



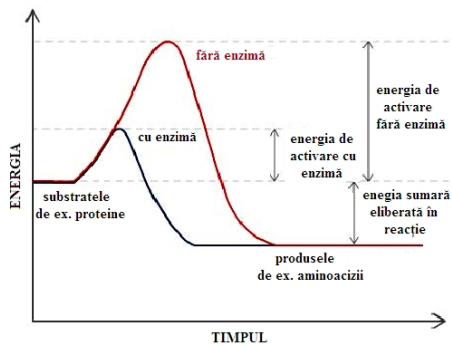
Reacția de dehidrogenare a malatului cu participarea NAD – derivatul vit. PP



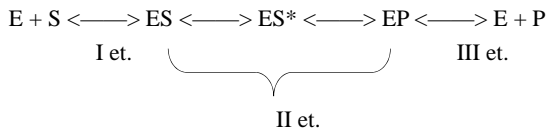
Reacția de dehidrogenare a glucozo-6-fosfatului cu participarea NADP – derivatul vit. PP



Mecanismul de acțiune al E

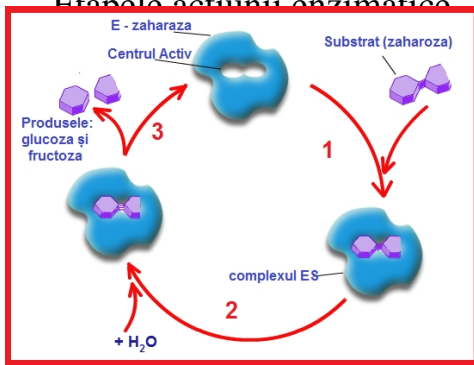


Etapele acțiunii enzimatică

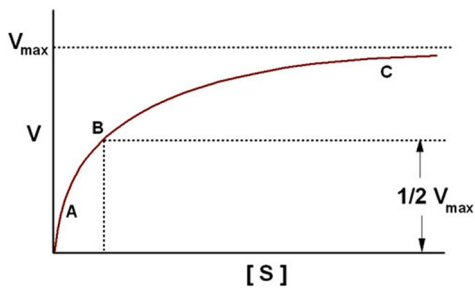


- I et. – formarea complexului enzimă-substrat (ES)
- II et. – cataliza – transformarea S în produsul reacției (P) de către enzimă
- III et. - eliberarea P de la E

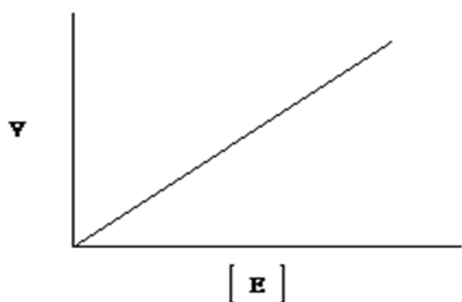
Etapele acțiunii enzimatică



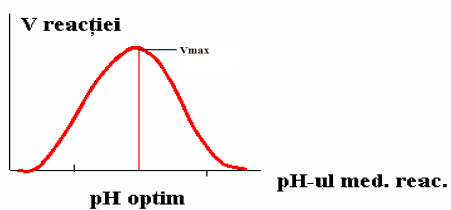
Factorii ce determină viteza reacției enzimatică – concentrația substratului



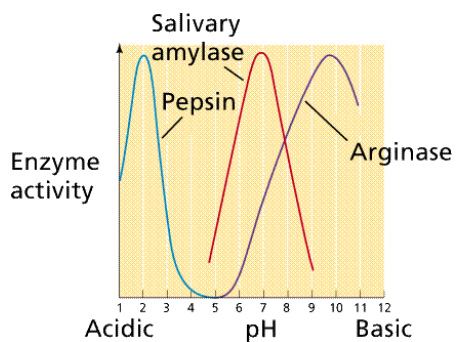
Factorii ce determină viteza reacției enzimatică – concentrația enzimei



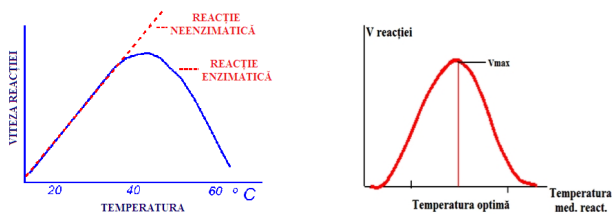
Factorii ce determină viteza reacției enzimatică – pH-ul mediului de reacție



Influența pH-ului asupra activității E



Factorii ce determină viteza reacției enzimatice – temperatura mediului de reacție



Specificitatea enzimelor

Tipurile:

- I. De reacție
- II. De substrat

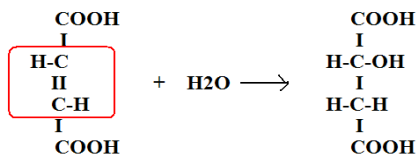
Specificitatea de reacție a enzimelor

- I. Oxidoreductaze
- II. Transferaze
- III. Hidrolaze
- IV. Liaze
- V. Izomeraze
- VI. Ligaze

Specificitatea de substrat a enzimelor

I. Specificitate stereochimică

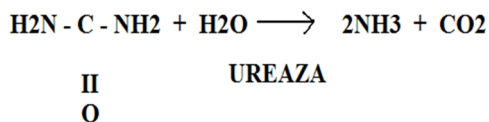
enzima catalizează transformarea doar a unui singur stereoisomer al substratului din multitudinea existentă



Specificitatea de substrat a enzimelor

II. Specificitatea absolută de substrat –

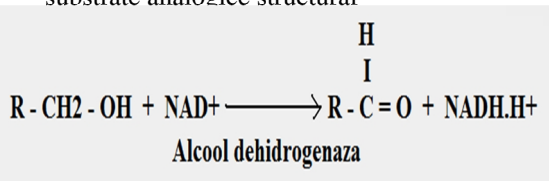
enzima catalizează transformarea doar a unui singur substrat



Specificitatea de substrat a enzimelor

III. Specificitatea absolută de grup –

enzima catalizează transformarea unui grup de substrat analogice structural



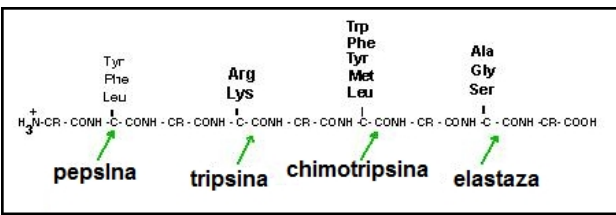
Specificitatea de substrat a enzimelor

IV. Specificitatea relativă de grup –

enzima catalizează transformarea unei anumite grupe sau legături chimice din diverse substanțe chimice

Ex. pepsina hidrolizează legăturile peptidice formate de grupele carboxilice ale aminoacizilor aromatici – Phe, Tir și Trp

Specificitatea relativă de grup



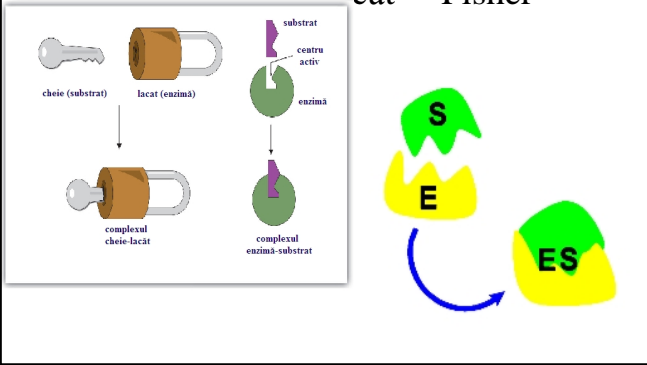
Specificitatea de substrat a enzimelor

V. Specificitatea relativă de substrat –

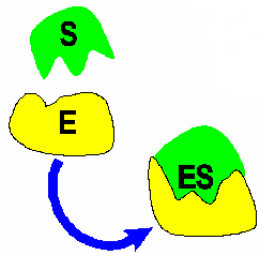
enzima catalizează transformarea unei grup numeros de substanțe cu diferită structură chimică în același mod

Ex. citocromul P_{450} – hidrolizează câteva mii de substanțe

Teoria "cheie-lacăt" - Fisher



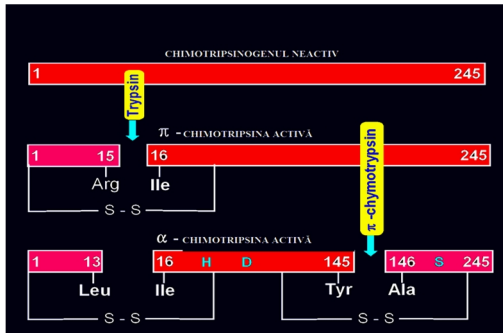
Teoria "coincidenței induse" - Koshland



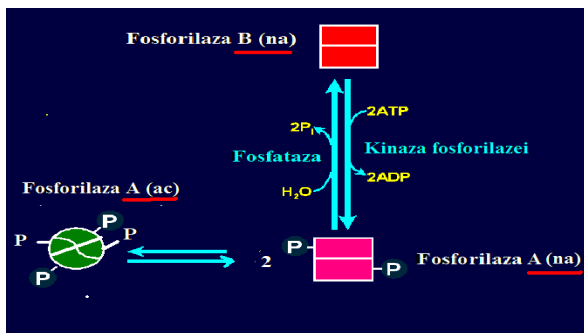
Activarea enzimelor

- I. Proteoliză parțială
- II. Modificare covalentă (fosforilare-defosforilare)
- III. Autostructurarea cuaternară
- IV. Alosterică

Activare prin proteoliză parțială



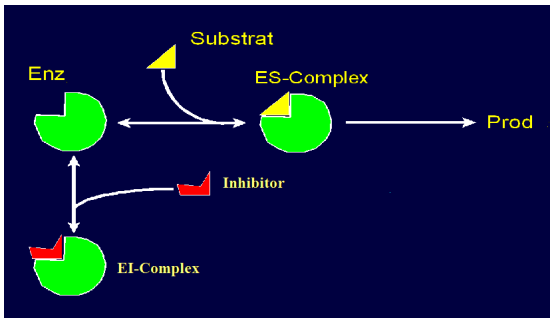
Activare prin modificare covalentă și autostructurare cuaternară a glicogen fosforilazei



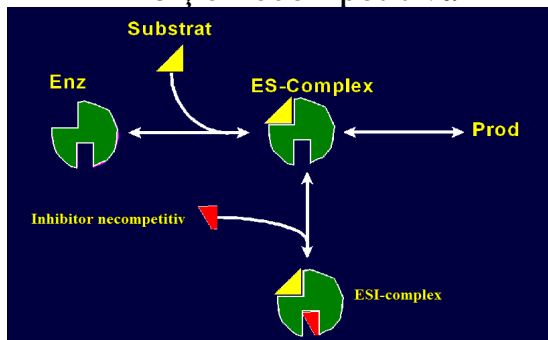
Inhibiția enzimatică

- I. Competitivă
- II. Necompetitivă
- III. Non-competitivă
- IV. Alosterică
- V. Retroinhibiția

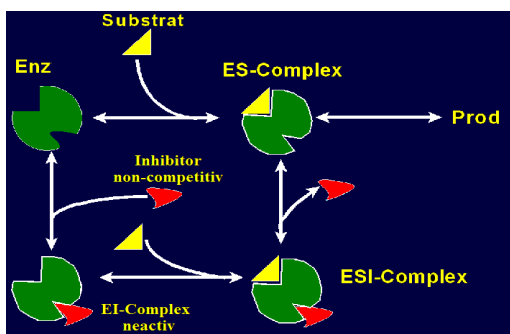
Inhibiția competitivă – inhibitorul (I) este analog structural al substratului (S)



Inhibiție necompetitivă



Inhibiție non-competitivă



Reglarea genetică a reacțiilor enzimatiche

- I. Enzime constitutive
- II. Enzime inductibile

Organizarea enzimelor în celule

- I. Enzime solitare
- II. Complexe polienzimatiche
 - organizate funcțional (enzimele glicolitice)
 - organizate structural (enzimele biosintezei acizilor grași)
 - cu organizare mixtă – funcțional-structurală (enzimele ciclului Krebs)

Izoenzimele

- I. Forme moleculare multiple ale unei enzime
- II. Modalitate de adaptare la condiții diferite specifice diferitor organe și țesuturi
- III. Catalizează una și aceeași reacție, dar în diferite condiții

Creatinfosfokinaza (CPK)

CPK – MM	Mușchi scheletic	Miodistrofii
CPK – MB	Mușchi cardiac	Miocardiopatii
CPK – BB	Creier	Ischemii cerebrale

Enzimele salivare

Originea:

- Glandele salivare
- Serul sangvin
- Bacteriile plăcii dentare

Reprezentanții principali ai E salivare

1. lizocimul,
2. mucinaza,
3. α -amilaza salivară,
4. catalaza,
5. peroxidaza,
6. ureaza,
7. lipaza,
8. carboanhidraza IV,
9. fosfatazele acidă și alcalină
10. enzimile metabolismului glutationului
11. glicozidazele acide, etc.

Utilizarea E în practica medicală

Preparatele farmaceutice contemporane sunt asociate și conțin ca regulă următoarele enzime:

- tripsină,
- chimotripsină,
- lipază,
- amilază,
- pancreatină,
- bromelaină,
- papaină,
- rutină (vit. P).

Utilizarea E în practica medicală

Efectele

exercitate de preparatele enzimaticice

1. De substituție (E digestive)
2. Fibrinolică și trombolitică
3. Antiedematică
4. Analgezică
5. Antiinflamatoare
6. Imunomodulatoare

Metodele de separare și purificare ale E

1. Dializă
2. Salifiere
3. Cromatografie
4. Gel-filtrare
5. Electroforeză

Cea mai eficientă –
cromatografia de afinitate

Metodele de determinare a activității E

Viteza reacției este proporțională ce

1. Viteza consumului substratului
2. Viteza formării produsului
3. Viteza transformării coenzimei

Cantitatea substanței respective se determină colorimetric.

Unitățile de măsurare a activității E

1. 1 UI – catalizează transformarea unui mmol de substrat într-un minut în condiții standard
2. 1 Cat (catal) – catalizează transformarea 1 mol de substrat într-o secundă în condiții standard

Condițiile standard - pHul ~ 7,0;

t = 25°C;

p = 1 atm;

C substratelor – 1 M.
