

17

CAPÍTULO

Regulación de la actividad enzimática

En el capítulo anterior se estudiaron algunos de los factores que influyen sobre la velocidad de las reacciones enzimáticas, lo cual permitió hacer un estudio detallado de las características cinéticas de las enzimas. Muchos de estos factores son estudiados *in vitro* y contribuyen de una manera importante a la profundización de nuestro conocimiento sobre las enzimas; pero en condiciones normales en el organismo humano, tanto en las células como en el espacio extracelular, donde las enzimas realizan su actividad de manera constante muchos de esos factores pueden tener un menor significado.

Los cambios de velocidad observados al variar la temperatura no se perciben en nuestro organismo que mantiene una temperatura constante; lo mismo sucede con los cambios de pH, pues cada órgano tiene un pH relativamente constante que se corresponde aproximadamente con la zona de pH óptimo de sus enzimas; igual ocurre con los compartimentos subcelulares.

Los inhibidores estudiados son por lo general materiales de laboratorio que sólo entran al organismo accidental o criminalmente. Con excepción del intestino y el hígado las células presentan un medio de composición casi constante, por lo cual no experimentan grandes variaciones en la concentración de sustratos, éstas y su influencia sobre las velocidades de reacción son más manifiestas en dichos órganos; no obstante, existen mecanismos intracelulares que permiten mejor adaptación de las velocidades de reacción a las condiciones celulares.

En este capítulo se estudiarán los principales mecanismos de que dispone la célula para regular la actividad de sus enzimas y se discutirán las ventajas que cada uno de ellos presenta, así como las características estructurales de las enzimas que los hacen posibles.

Formas básicas de la regulación enzimática

Cuando un sistema o proceso es capaz de variar su comportamiento como respuesta a cambios que se produzcan en su entorno, de forma que la respuesta directa o indirectamente tiende a modificar el estímulo para volver a la situación inicial, se dice que este sistema o proceso está regulado.

En estos sistemas existe un patrón estructural o funcional que tiende a mantenerse estable frente a los cambios que se operan en el entorno. El sistema de regulación está encaminado a mantener ese patrón estructural o funcional, que cuando este último se

mantiene, gracias a mecanismos intrínsecos, se dice que el sistema está autorregulado, y es el caso de los sistemas vivientes.

En la regulación tanto el estímulo como la respuesta tienen carácter específico, estos cambios de comportamiento generalmente se manifiestan por un aumento o disminución de la velocidad de algunas etapas que componen el proceso, aunque pueden manifestarse de otras formas.

La regulación existe como posibilidad antes que como realidad, o sea, los componentes del proceso deben poseer características estructurales y funcionales que les permitan responder a los cambios del entorno cuando éstos se produzcan.

La regulación enzimática se refiere a la posibilidad que tienen las enzimas de variar la velocidad de las reacciones que ellas catalizan al producirse determinados cambios en el medio; esa posibilidad viene dada por características estructurales de las enzimas y que son una vez más manifestaciones del vínculo que existe entre la estructura y la función de las biomoléculas.

Los cambios de velocidad observados durante el proceso de adaptación son debidos a cambios cuantitativos o cualitativos de los centros activos, y atendiendo a esto las formas básicas de la regulación enzimática se manifiestan por variación en la cantidad o la actividad de las enzimas.

Si se considera que el volumen celular no cambia apreciablemente durante el proceso, un aumento de la cantidad de enzima significa un aumento de su concentración y ya sabemos que la velocidad de la reacción es directamente proporcional a la concentración de la enzima. Modificar la cantidad de enzima es variar la cantidad de centros activos presentes y ésta es la causa de los cambios de velocidad.

Existen 2 mecanismos básicos que producen modificaciones en la cantidad de enzimas, conocidos como inducción y represión. En el primero, la presencia de una sustancia en la célula puede activar el proceso de síntesis de la enzima y por tanto aumentar su cantidad. En el segundo, el estímulo determina la disminución de la síntesis enzimática por lo cual la cantidad de enzima disminuye. Estos mecanismos serán estudiados detalladamente en el capítulo 34. Si la cantidad de enzima no varía, sólo es posible modificar su actividad aumentando o disminuyendo la fracción de centros activos útiles, pues el número total no cambia; esto se logra mediante 2 mecanismos conocidos como modificación alostérica y modificación covalente, respectivamente, que son objeto de estudio en este capítulo. También serán estudiados otros mecanismos reguladores como: proteólisis limitada, variación en el estado de agregación, interacciones proteína-proteína, translocalización, cambios en la especificidad e isoenzimas.

Antes de estudiar cada tipo específico de regulación es bueno señalar que existen enzimas que están sometidas a varios mecanismos de regulación simultáneamente, lo cual puede ser un índice de su significación para el metabolismo celular.

Componentes de un sistema de regulación

Aun cuando existen diferencias notables entre un sistema de regulación y otro, un análisis detallado de todos ellos implica que a pesar de sus diferencias presentan un grupo de componentes que son esenciales para su funcionamiento (Fig. 17.1). Así sucede con los sistemas de regulación de la actividad enzimática.

La mayoría de las enzimas se encuentra en el interior de la célula y su actividad puede modificarse como respuesta a un cambio que se produzca en esa célula, en otra célula del organismo y aun en el medio.

El primer componente de un sistema de regulación es la señal, que es un portador material de información. En la célula, el organismo y en el medio existen numerosas señales que pueden ser de naturaleza física o química, cuando esas señales varían de intensidad de forma que son capaces de generar una respuesta, se dice que se han convertido en un estímulo; esa transformación señal-estímulo es el primer componente de todo sistema de regulación.

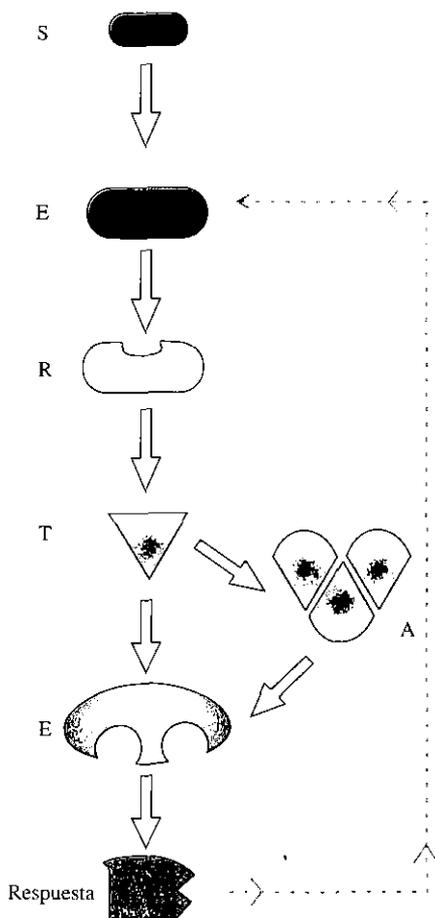


Fig. 17.1. Componentes de un sistema de regulación. La señal (S) existe generalmente como la concentración de una sustancia específica cuya variación la convierte en estímulo (E) que es captado por el receptor (R). El transductor (T) convierte al estímulo en una señal interna del sistema que bien puede transmitirse al amplificador (A) que aumenta la intensidad de la señal o pasar de manera directa al efector (E), que da lugar a la aparición de la respuesta. Esta respuesta, tarde o temprano, modifica el estímulo inicial cerrando el ciclo de regulación.

Para que el estímulo pueda provocar una respuesta debe existir una estructura capaz de captarlo y ésta es el receptor. Casi siempre las señales extracelulares no pueden directamente provocar respuestas, por lo que se hace necesario convertir esa señal-estímulo en otra reconocible por los componentes celulares, esa función la desarrolla el transductor. Por último, debe existir una estructura que genera la respuesta directamente y ese es el efector. En los sistemas de regulación enzimática el efector es una enzima específica; que como resultado de su acción aparece la respuesta que es el resultado final del sistema. En muchas ocasiones entre el transductor y el efector existe un componente que tiene como función potencializar la acción del estímulo, de manera que la respuesta presente una intensidad mucho mayor que el estímulo el cual le dio origen, esa estructura es el amplificador.

Los receptores y algunos transductores serán estudiados en el tomo II, aquí sólo se harán algunos comentarios sobre los demás componentes del sistema.

La señal más empleada en el interior del organismo es la concentración de alguna sustancia en un líquido o tejido corporal; la variación de la concentración puede ser el estímulo. Hay sustancias que sólo desarrollan el mecanismo cuando su concentración aumenta, unas cuando disminuye y otras tanto al aumentar como al disminuir su concentración.

Las enzimas son los efectores de estos sistemas, existen 2 formas fundamentales de su actuación: la primera es variar la velocidad de las reacciones que ellas catalizan, aumentándola o disminuyéndola de manera que toda la vía metabólica en la cual participan se adapte a la situación reflejada por el estímulo; la segunda es variando su especificidad donde sólo se conocen algunos casos que serán discutidos.

Como el efector es una (o varias) enzima, la respuesta que se obtiene es siempre de una intensidad mayor que la del estímulo que dio origen, debido a la elevada capacidad catalítica de las enzimas, pero se ha incluido en el esquema la existencia del amplificador porque en ocasiones existe un componente del sistema cuya función fundamental es la de amplificar la respuesta; más adelante se puede ver un ejemplo en el acápite de modificación covalente.

La característica sobresaliente de la respuesta es que tiende a modificar el estímulo que le dio origen, tratando de que éste vuelva a su situación inicial, con lo cual el sistema de regulación quedaría desconectado; si el sistema se conecta cuando la concentración de una sustancia en sangre aumenta, la respuesta tiende a provocar la disminución de ese componente en la sangre, con lo cual el sistema se desconectaría.

En algunas enfermedades metabólicas el organismo no es capaz de responder de forma adecuada a un estímulo y pueden aparecer los llamados círculos viciosos, donde por ejemplo la elevación de la concentración de una sustancia genera una respuesta que tiende a aumentar esa concentración, lo cual estimula otra vez el mecanismo y así sucesivamente.

Regulación alostérica

Cada vez es más numerosa la cantidad de enzimas que al estudiarse el comportamiento de la velocidad de las reacciones, por ellas catalizadas en función de la concentración de sustrato, se obtienen curvas diferentes a la hiperbólica de Michaelis y Menten, que en la mayoría de los casos tienen un aspecto sigmoidal (en forma de S alargada). Estas curvas se desplazan a lo largo del eje de las abscisas cuando se añaden a la reacción algunas sustancias específicas como se muestra en la figura 17.2 para la enzima fosfofructoquinasa. Se observa que para la misma concentración de sustrato (S_0) pueden obtenerse diferentes velocidades de reacción al variar la concentración de las sustancias añadidas, luego una característica esencial de estas enzimas es presentar una actividad variable. Las enzimas que así se comportan reciben el nombre de alostéricas.

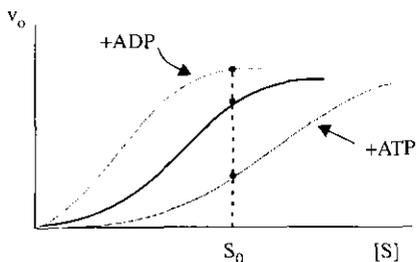


Fig. 17.2. Modificación de la actividad de una enzima alostérica. La fosfofructoquinasa es una enzima alostérica como se deduce del comportamiento de su velocidad al variar la concentración de sustrato (en negro). La presencia de ATP desplaza la curva hacia la derecha (en rojo) y por tanto actúa como un inhibidor. La concentración de ADP desplaza la curva hacia la izquierda (en azul), actúa como un activador.

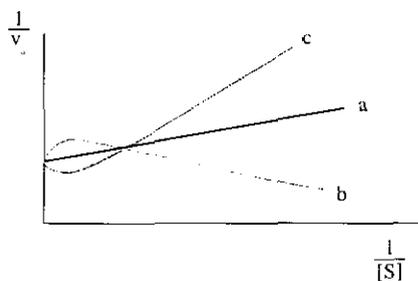


Fig. 17.3. Efectos cooperativos. Al construir la gráfica doblemente recíproca, si no existen efectos cooperativos se obtiene la recta que aparece en (a). La aparición de una concavidad inferior en el inicio de la curva (b) indica un efecto cooperativo negativo, mientras que la concavidad superior de (c) indica que el efecto es positivo.

Un concepto muy ligado al fenómeno alostérico es el de cooperatividad aunque existen diferencias entre ambos; se dice que hay cooperatividad cuando la unión de un ligando a una enzima (y por extensión a cualquier macromolécula) influye sobre la unión posterior de otros ligandos. La cooperatividad puede ser positiva cuando la unión del primer ligando aumenta la afinidad por otros ligandos, o negativa cuando la disminuye. La cooperatividad positiva puede identificarse, en los estudios de velocidad en función de la concentración de sustrato, por la aparición de una concavidad hacia arriba en la gráfica doblemente recíproca $1/v$ vs $1/[S]$ (Fig. 17.3). Por el contrario, la cooperatividad negativa (o anticooperatividad) puede demostrarse por la aparición de una concavidad hacia abajo en la gráfica doblemente recíproca.

Estas interacciones de los ligandos dan lugar a 2 tipos de efectos, el homotrópico y el heterotrópico. Se llama efecto homotrópico cuando la unión de un ligando influye sobre la unión subsiguiente del mismo ligando a la enzima, y heterotrópico cuando la influencia se realiza sobre un ligando diferente.

Cuando la unión de una molécula de sustrato aumenta o disminuye la afinidad de la enzima por otras moléculas del mismo sustrato, el efecto es de tipo homotrópico, y cuando la unión de un activador aumenta la afinidad por el sustrato, entonces el efecto es heterotrópico.

Se estudiarán ahora los modelos propuestos para explicar el fenómeno del alosterismo.

Modelo simétrico o concertado

Se han propuesto varios modelos para explicar las causas del comportamiento de las enzimas alostéricas; desarrollaremos aquí una exposición sobre los 2 modelos principales, el simétrico o concertado y el secuencial. El modelo simétrico o concertado fue elaborado en 1965 por Jacques Monod, Jeffries Wyman y Jean-Pierre Changeux del Instituto Pasteur de París, fue el primer modelo propuesto en términos moleculares y el más sencillo.

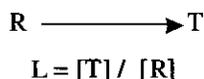
Según este modelo, las enzimas alostéricas existen en 2 estados conformacionales interconvertibles, que denominaron R (relajado) y T (tenso). Estas enzimas son oligoméricas, están formadas por varias subunidades (estructura cuaternaria) y todas éstas se encuentran en el mismo estado conformacional, -de ahí el nombre de simétrico. El tránsito de una subunidad, en un estado conformacional hacia otro, se trasmite a las otras subunidades haciendo que todas ellas adopten la misma conformación, por lo que reciben el nombre de concertado, si existen 4 subunidades en una enzima alostérica pueden darse sólo 2 situaciones: la forma RRRR ó TTTT, ya que las formas híbridas RTTT, RRTT y RRRT no son posibles según este modelo.

A la enzima puede unirse no sólo el sustrato, sino algunas sustancias específicas (ligandos), pero la enzima presentará diferente afinidad para cada uno de ellos de acuerdo con el estado conformacional en que se encuentre. Como cada estado conformacional presenta diferente afinidad por cada uno de los ligandos, puede simplificarse mucho el análisis si se parte del supuesto caso que en uno de esos estados la afinidad para alguno de los ligandos es cero y, por lo tanto, los ligandos podrán unirse a la enzima en sólo uno de sus estados conformacionales; éste es un caso extremo para adecuar la explicación a los estudiantes. Si el sustrato puede unirse al estado R y no al T, entonces R representa la conformación activa, pues no puede haber transformación sin unión, lo que indica que en el estado R existe una conformación del centro activo que facilita la unión del sustrato, mientras que en el estado T la unión del sustrato al centro activo no es posible.

Además del centro activo, existen en las subunidades otros sitios de unión específicos para los ligandos, pero también cada sitio presenta una conformación adecuada para cada ligando sólo en una de sus 2 conformaciones, nunca en las 2. Estos sitios son muy específicos, en lo cual se parecen al centro activo pero en ellos no se produce la

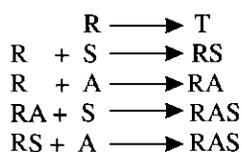
transformación del ligando; los ligandos se unen a esos sitios por fuerzas no covalentes y de forma muy reversible; cuando la concentración de un ligando aumenta en el medio, se favorece su asociación, y al disminuir ocurre la disociación. La existencia de estos sitios es lo que determinó la denominación de alostérico, palabra que proviene de las voces griegas *allos* que significa otro, diferente y *estero* que significa espacio, sitio, lugar; por tanto las enzimas alostéricas son aquéllas que presentan otros sitios diferentes al centro activo. Como puede colegirse de su descripción, los sitios alostéricos al igual que el centro activo son sitios de reconocimiento molecular; un caso bien sencillo permitirá analizar ahora el funcionamiento del modelo: una enzima con 3 ligandos, uno de los cuales es el sustrato (S), los demás son el ligando A que sólo puede unirse al estado R y el I que sólo lo hace al estado T.

En ausencia de los 3 ligandos la enzima existe en un equilibrio entre los 2 estados conformacionales, caracterizados por una constante de equilibrio que recibe el nombre de constante alostérica (L).



Al comenzar a añadir el sustrato, éste se une a la forma R formando el complejo RS, equivalente al complejo ES ya estudiado, en este momento se produce una disminución de la concentración de R y el equilibrio se desplaza, aumentando la concentración de R y disminuyendo la de T; mientras más aumenta S, también R y con ello la velocidad de la reacción. El paso de T a R significa un aumento de la fracción de centros activos útiles y de ahí el efecto sobre la velocidad; esta situación explica por qué la unión del sustrato a la enzima favorece la unión sucesiva de los sustratos, o sea, un efecto cooperativo que es homotrópico positivo.

Si añadimos al sistema la sustancia A, ésta se une a la forma R formando el complejo RA, que aumenta el desplazamiento del equilibrio hacia la conformación activa. Como A y S se unen por sitios diferentes se darán las situaciones siguientes:



Se observa que existen 4 formas para el estado activo y sólo la forma R está en equilibrio con T, por lo que los incrementos de velocidad son considerables.

A las sustancias que como A se unen al estado activo y con ello favorecen un incremento de la velocidad de reacción se les llaman efectores positivos o activadores alostéricos.

Si en vez de A, al sistema en equilibrio se le añade el ligando I éste se une al estado T, formando el complejo TI que provoca un desplazamiento del equilibrio en el sentido contrario al observado anteriormente, con lo cual la concentración del estado T aumenta y la del R disminuye; mientras mayor sea la concentración de I añadido, mayor será la fracción de enzima en estado T, lo cual implica un decremento en la velocidad de reacción, pues es menor el número de centros activos con la conformación favorable para la unión con el sustrato.

A las sustancias que como I se unen al estado inactivo y que provocan una disminución de la velocidad de la reacción, se les conoce como efectores negativos o inhibidores alostéricos; estos aspectos en forma generalizada aparecen en la figura 17.4.

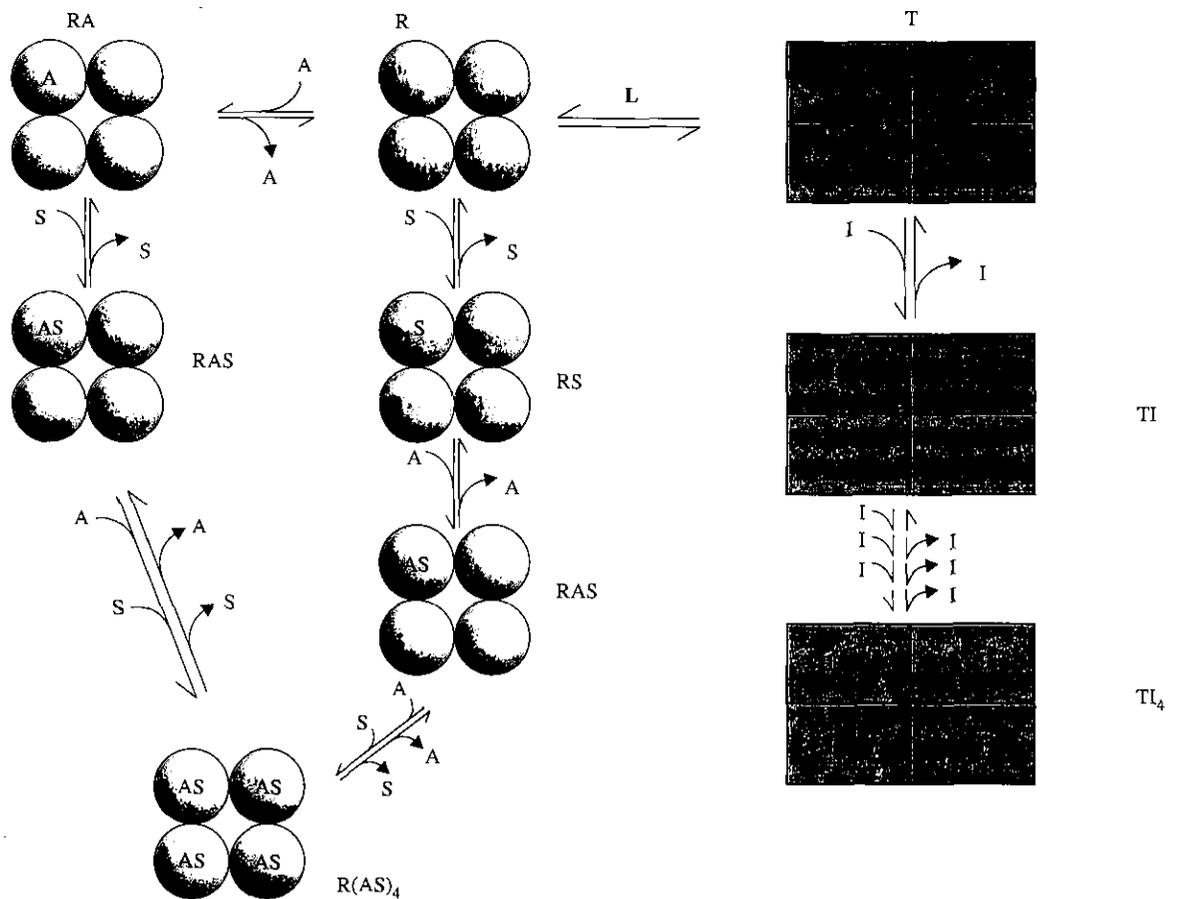


Fig. 17.4. El modelo simétrico o concertado. La enzima se presenta en 2 conformaciones (R y T) que están en equilibrio según la constante L. La adición del sustrato (S) o del activador (A) desplazan el equilibrio hacia la forma R, dando lugar a la formación de diferentes complejos. La presencia del inhibidor (I) desplaza el equilibrio hacia la forma T con lo cual disminuye la velocidad de la reacción. La velocidad global de la reacción depende de la fracción de enzima que se encuentra en estado R.

Modelo secuencial

No todas las enzimas alostéricas pueden ser explicadas mediante el modelo simétrico o concertado, por lo cual se han propuesto otros modelos; uno de ellos es el modelo secuencial desarrollado por *Daniel Koshland, jr.* que se basa en los aspectos siguientes:

1. Existen 2 estados conformacionales (R y T) posibles para cada una de las subunidades de la enzima.
2. La unión del sustrato cambia la conformación de la subunidad a la cual se une, pero la conformación del resto de las subunidades no se altera apreciablemente.
3. La transconformación ocurrida en la subunidad que ha ligado al sustrato puede incrementar o disminuir la afinidad por el sustrato de las demás subunidades de la misma enzima.

En la figura 17.5 se muestra la unión del sustrato a una enzima alostérica según el modelo secuencial.

La unión es cooperativa si la afinidad de RTTT, RRTT ó RRRT por el sustrato es diferente que la de TTTT.

Este modelo difiere del anterior en varios aspectos, primero, no se postula la existencia de un equilibrio entre las conformaciones de la enzima, previo a la unión con el sustrato, sino que la transición $T \rightarrow R$ es inducida por la unión del sustrato. El cambio de conformación $T \rightarrow R$ en las diferentes subunidades es secuencial y no concertado, de forma que los estados conformacionales híbridos inaceptables en el modelo concertado tienen en el secuencial una función predominante.

El modelo concertado supone que la simetría molecular es esencial para la interacción de las subunidades y por tanto requiere que esa simetría se conserve durante la transición alostérica; por el contrario, el modelo secuencial plantea la posibilidad de interacciones entre las subunidades aun cuando éstas presenten conformaciones diferentes.

Por último, este modelo difiere en que las interacciones homotrópicas son siempre positivas en el modelo concertado, pero pueden ser positivas o negativas en el modelo secuencial. Si la segunda molécula del sustrato puede unirse de forma más o menos fuerte que la primera, depende de la naturaleza del cambio inducido por la unión de la primera molécula del sustrato.

Cabe preguntarse entonces cuál de los 2 modelos es el correcto. Estudios detallados con numerosas enzimas han puesto de manifiesto que en algunos casos el modelo concertado es el aplicable, mientras que en otros es el secuencial. Sin embargo, existe un grupo numeroso de enzimas en que no es aplicable ninguno de los 2; esto hace necesario la aparición de otros modelos que puedan generalizar los conocimientos existentes y proporcionar una herramienta cognoscitiva de gran alcance para el estudio de las enzimas alostéricas.

Características generales de las enzimas alostéricas

No obstante, independientemente del modelo que se aplique, existen algunas características generales de estas enzimas que pudiéramos resumir como:

1. Son proteínas oligoméricas de peso molecular elevado y estructura compleja con raras excepciones.
2. Las enzimas existen en varios estados conformacionales interconvertibles y con un grado de afinidad diferente para cada uno de sus ligandos.
3. Los ligandos se unen a la enzima en sitios específicos por fuerzas no covalentes y de forma reversible, afectando el estado conformacional de las enzimas.
4. Los cambios conformacionales en una subunidad se comunican en mayor o menor grado al resto de las subunidades.
5. La curva de velocidad en función de la concentración de sustrato siempre presenta una forma diferente a la clásica curva hiperbólica de Michaelis-Menten.

Lo importante de este tipo de modificación es que los activadores e inhibidores, no son materiales de laboratorio como en los casos estudiados anteriormente, sino sustancias propias de la célula y cuya concentración varía como consecuencia de la propia actividad celular. En ocasiones el activador y el inhibidor forman una pareja cuyas concentraciones varían de manera contraria, cuando aumenta la de uno de ellos, disminuye la del otro. Estas variaciones de concentración constituyen estímulos metabólicos que adaptan el funcionamiento de las enzimas a las condiciones celulares en constante cambio.

La pareja que con mayor frecuencia cumple estas funciones es la formada por el ATP y el ADP, sus concentraciones relativas controlan un gran número de actividades enzimáticas y con ello de rutas metabólicas enteras; para comprender esta situación es conveniente recordar el ciclo general del ATP.

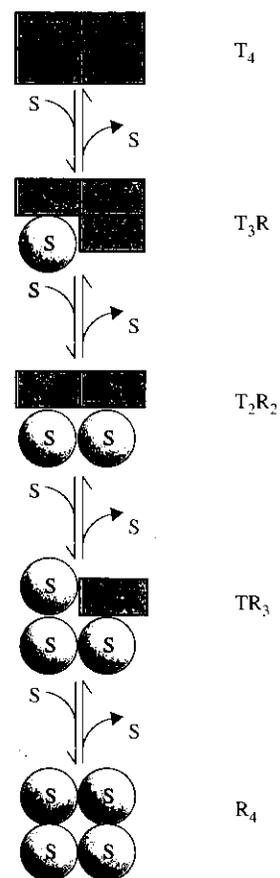


Fig. 17.5. El modelo secuencial. A diferencia del modelo simétrico las formas R y T no están en equilibrio y la unión del sustrato se produce de manera secuencial, pues sólo afecta la conformación de la subunidad a la cual se ha unido. El modelo admite la formación de híbridos conformacionales. La velocidad global de la reacción dependerá de la fracción de subunidades que estén en la conformación más activa.

Formación de ATP:



Formación de ADP:



Como se aprecia en las reacciones, al formarse el uno del otro, las concentraciones de estos compuestos varían de forma contraria, así al aumentar las concentraciones de ATP disminuyen las de ADP y viceversa.

En el ejemplo de la fosfofructoquinasa tratado al inicio, el ATP es un efector negativo (inhibidor) y el ADP es positivo (activador), como las concentraciones de ambos no pueden aumentar simultáneamente, en cada momento la enzima sólo estará expuesta a elevadas concentraciones de uno de ellos y así será su respuesta. Esta enzima no presentará entonces una actividad fija, por el contrario, su actividad variará tan amplio como sea la variación de concentración de ATP y ADP; pero como las concentraciones de ATP y ADP varían como consecuencia de la actividad celular, y cada una de ellas representa situaciones celulares diferentes, la actividad de esta enzima estará adaptada a las situaciones celulares y podrá cambiar cuando la situación varíe.

Otro aspecto importante de estas enzimas es su ubicación en las rutas metabólicas; para la transformación total de un sustrato se requieren numerosas reacciones químicas, cada una produce un cambio gradual en la estructura del sustrato (Fig. 17.6). Para la conversión de A en G se necesitan 6 reacciones cada una de ellas catalizada por una enzima diferente, que van originando los intermediarios B, C, D, E y F.

Las enzimas alostéricas casi siempre catalizan una de las primeras reacciones, con lo cual estas rutas se regulan desde el inicio, permitiendo que éstas funcionen sólo en condiciones celulares adecuadas. Esta ubicación hace posible que la célula utilice la cantidad indispensable de sustancia y energía para su funcionamiento, sin gastos excesivos. Esta situación que se observa como una regularidad en casi todas las rutas metabólicas es la que hemos expresado bajo la denominación de principio de la máxima economía.

Existen otras formas de manifestarse el alosterismo en diferentes tipos de enzimas, hay casos en que los sitios reguladores y catalíticos están en la misma subunidad y otros en diferentes, destacándose la subunidad catalítica y la reguladora; los cambios provocados por el efector pueden influir sobre el estado de asociación de las enzimas que tienen la posibilidad de existir como monooligómeros y polioligómeros, por lo que en unos casos puede ser activo el monooligómero y en otros el polioligómero. Hay otros casos de mayor complejidad que salen de los marcos de este texto.

Por último, es bueno señalar que el alosterismo no es privativo de las proteínas enzimáticas y aparece también en proteínas que realizan otro tipo de funciones; la primera proteína alostérica estudiada fue la hemoglobina, que no es una enzima sino un transportador de oxígeno en la sangre. Otras proteínas no enzimáticas con propiedades alostéricas incluyen a los transportadores de membrana como se estudiará en el tomo II y las proteínas represoras que están relacionadas con la regulación de la expresión genética que serán tratadas en el capítulo 34.

El alosterismo constituye un fenómeno muy difundido en el comportamiento de numerosas proteínas que realizan funciones diversas, y que desarrollan un mecanismo básico por el cual la acción de esas proteínas es modulada.

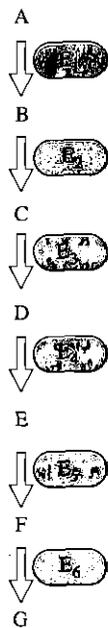


Fig. 17.6. Ubicación de las enzimas reguladoras. La conversión de A en G requiere el concurso de 6 enzimas, una de ellas tiene propiedades reguladoras y se encuentra ubicada al principio de la vía, de forma que al controlarse la reacción en que participa de hecho se está controlando la vía completa. En el esquema la enzima reguladora es E2 (en rojo) y por tanto todo el funcionamiento de la vía dependerá de la velocidad de formación del intermediario C.

Modificación covalente

Existe otro grupo de enzimas que se regula de forma diferente a las anteriores; estas enzimas existen en las células en 2 formas que difieren en su composición, lo cual

Existen numerosas proteínas quinasas pero quizás la mejor caracterizada de todas ellas es la proteína quinasa A (PK-A) dependiente de AMPc; esta enzima ha sido localizada en numerosas especies desde la levadura hasta los mamíferos, pero no ha sido localizada en procariontes y la que está presente en plantas superiores difiere notablemente de la de los mamíferos.

La enzima de los mamíferos está compuesta por 2 tipos de subunidades: la reguladora (R) y la catalítica (C), cada molécula de enzima contiene 2 de cada una para una fórmula subunitaria R_2C_2 .

Existen 2 tipos principales de proteínas quinasas dependientes de AMPc que se distinguen por las características de la subunidad R. Las 2 isoenzimas se diferencian por su distribución hística, la secuencia de aminoácidos, la habilidad para autofosforilarse, la unión con el AMPc y la interacción con las subunidades C.

La holoenzima se presenta como una proteína tetramérica inactiva de 150 a 170 kD. La subunidad C tiene una masa molecular de 40,5 kD y las subunidades R (R_I y R_{II}) de 42 y 45 kD, respectivamente. Cuando el AMPc se une a la subunidad R, el complejo se disocia formando R_2AMP_c y 2 subunidades C activas; una vez dissociada la holoenzima, la subunidad C es la que cataliza la fosforilación de las enzimas (Fig. 17.8).

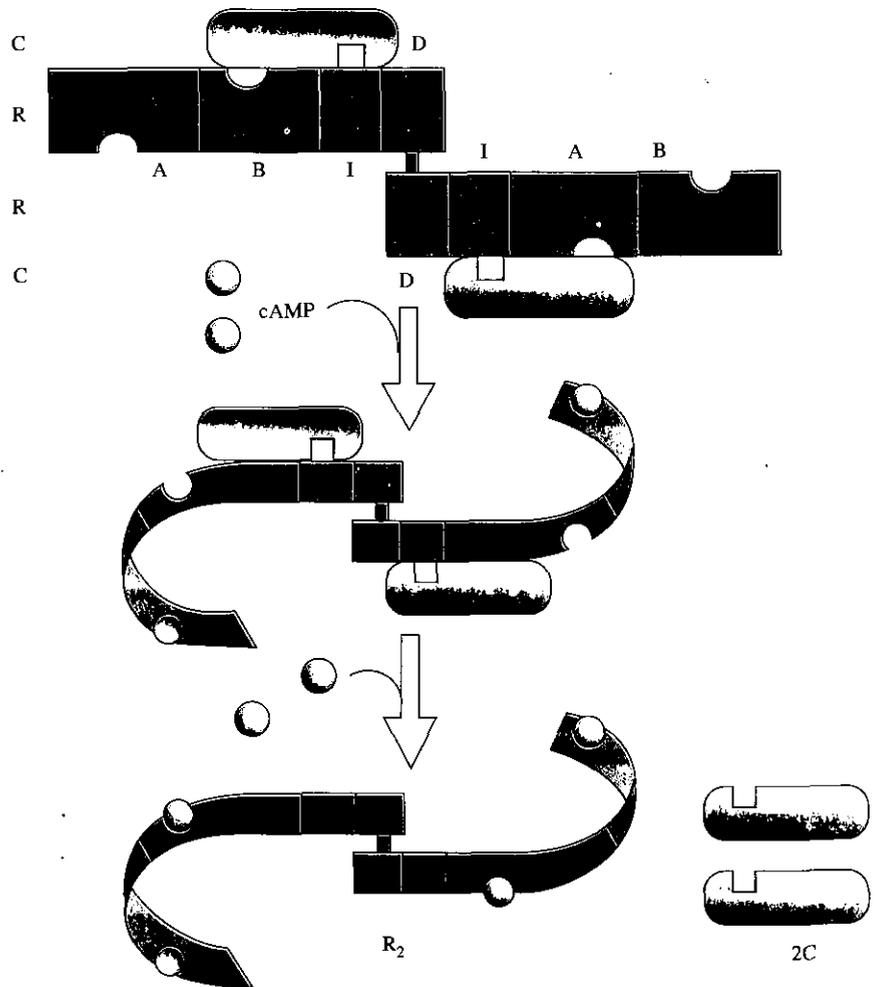


Fig. 17.8. Activación de la proteínaquinasa dependiente de AMPc. La enzima se presenta como un tetrámero inactivo formado por 2 subunidades reguladoras (R) (en rojo) y 2 catalíticas (C) (en azul). En la subunidad R se distinguen al menos 4 dominios, 2 para la unión al AMPc (A y B), uno que es el inhibidor de la actividad catalítica (I) y el último el de dimerización (D). La unión del AMPc (círculos verdes) a uno de los sitios de las subunidades reguladoras produce una transconformación que expone el segundo sitio que, al ser ocupado por el AMPc, provoca la disociación del tetrámero de forma que las subunidades catalíticas pasan a su forma disociada activa.

Las fosfoproteínas fosfatasas también presentan diferente grado de especificidad de sustrato, por lo cual se acostumbra a clasificarlas como específicas e inespecíficas; entre las primeras se encuentra la piruvato deshidrogenasa fosfatasa que es específica para esa enzima; por su parte las inespecíficas se subdividen en 2 grandes grupos

denominados 1 y 2. Las fosfoproteínas fosfatasa 1 son generalmente particuladas y pueden ser inhibidas por péptidos específicos, en tanto las de tipo 2 son solubles y no se les conocen péptidos inhibidores. Estas últimas se subdividen a su vez en 3 grupos designados A, B y C, atendiendo al tipo de cationes divalentes que requieren para su funcionamiento; su función es hidrolizar los enlaces ésteres que se forman entre el grupo fosfato y los residuos de aminoácidos de las proteínas, convirtiendo de ese modo la forma modificada en no modificada.

Se han identificado 2 proteínas inhibidoras de las fosfoproteínas fosfatasa 1 y se nombran I y II. La proteína inhibidora I de las fosfatasa existe en 2 formas, una fosfatada que es activa y otra no fosfatada que es inactiva. Cuando la proteína quinasa A se activa no sólo fosforila las enzimas sino que, además, dificulta su desfosforilación al activar al inhibidor de las fosfatasa.

En ocasiones entre la proteína quinasa y la enzima que realiza el efecto metabólico existen otras proteínas quinasas con un mayor grado de especificidad.

El sistema de regulación del catabolismo del glucógeno es un ejemplo muy ilustrativo de cómo opera la modificación covalente en la regulación del metabolismo. La enzima glucógeno fosforilasa (GP) cataliza la ruptura de enlaces glucosídicos del glucógeno por acción del ácido fosfórico; esta enzima presenta una forma fosfatada (GPF) de elevada actividad y otra no fosfatada prácticamente inactiva; mientras mayor sea la concentración de GPF mayor número de enlaces glicosídicos serán rotos.

La quinasa que cataliza la conversión de la forma no fosfatada en fosfatada también presenta 2 formas de composición diferentes: una fosfatada y otra no fosfatada. Esta enzima casi específica para la glucógeno fosforilasa recibe el nombre de glucógeno fosforilasa quinasa (GFK), pues ahora su sustrato es una enzima; por tanto para activar la GFK se requiere de otra quinasa y para inactivarla de otra fosfatasa.

La enzima que activa a la GFK es la proteína quinasa A (PK-A) dependiente de AMPc. El mecanismo funciona de la forma siguiente:

- El AMPc actúa sobre PK-A y pasa a su forma activa



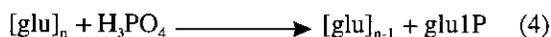
- La subunidad C de la PK-A fosforila la GFK con el ATP como fuente de fosfato



- La GFK-P fosforila a la GP, también con el uso de ATP



- La GP-P produce la ruptura de los enlaces glicosídicos con ácido fosfórico



Como conclusión podemos decir que la aparición del AMPc provoca, a través de todo el mecanismo, un aumento en la velocidad de ruptura de los enlaces del glucógeno.

Modificación por adenilación desadenilación

El ejemplo mejor estudiado es la enzima glutamina sintetasa de *E. coli*, esta enzima cataliza la formación de glutamina a partir de glutámico y NH_3 , dependiendo de la hidrólisis del ATP. La molécula consta de 12 subunidades de 50 kD, cada una forma 2 estructuras hexagonales que se superponen.

Ésta es una enzima central en el metabolismo, pues regula el flujo de nitrógeno que una vez incorporado al grupo amida de la glutamina puede ser utilizado en la síntesis de numerosos compuestos como triptófano, histidina, carbamil-fosfato, glucosamina-6-fosfato, CTP y AMP. La enzima es inhibida de forma acumulativa por cada uno de esos productos y además por la alanina y la glicina; parece ser que posee un sitio de unión específico para cada uno de estos inhibidores, y su actividad cesa casi por completo cuando está ligada a todos ellos.

Otro hecho significativo es que su actividad también se regula por modificación covalente al incorporarse un grupo adenilato (AMP) al grupo hidroxilo de una tirosina específica en cada subunidad. La forma adenilada es mucho más sensible a la inhibición acumulativa que la no adenilada. El grupo AMP puede ser retirado de la enzima por fosforólisis.

Uno de los hechos más curiosos de este proceso es que tanto la reacción de adenilación como la de desadenilación son catalizadas por la misma enzima, la adenilato transferasa. Esta enzima está controlada a su vez por una proteína reguladora -que habitualmente se designa como P- que está formada por 2 subunidades y puede presentarse en 2 formas P_A y P_D . El complejo de la adenilato transferasa con P_A une el AMP a la glutamina sintetasa y con ello disminuye su actividad, mientras que el complejo de la transferasa con P_D cataliza la fosforólisis que elimina el grupo AMP.

Aquí aparece otro nivel de regulación covalente, pues P_A es convertida en P_D por la adición de uridinmonofosfato (UMP) a cada subunidad en una reacción catalizada por la uridiltransferasa; esta enzima es activada por el ATP y el ácido α -ceto-glutárico e inhibida por la glutamina; a su vez los grupos UMP son eliminados de la proteína por hidrólisis. Un resumen de las principales características de la glutamina sintetasa se representa en la figura 17.9.

El significado metabólico de este sistema es que la adenilación es inhibida y la desadenilación activada cuando el aporte de nitrógeno metabólicamente útil es bajo, y lo contrario cuando el suministro es adecuado.

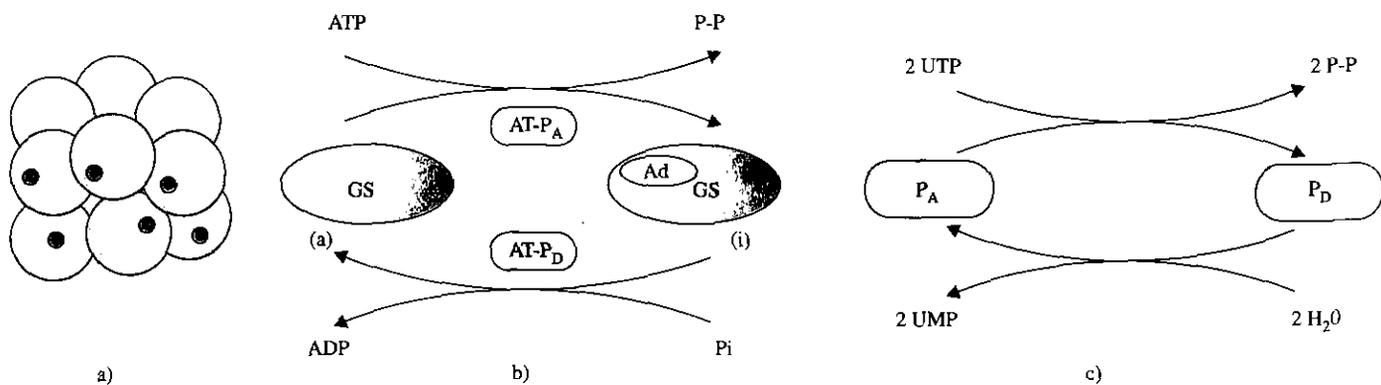


Fig. 17.9. Regulación de la glutaminasintetasa. La enzima está formada por 12 subunidades agrupadas en forma de 2 hexágonos (a). La adenilación se produce por la acción del complejo constituido por la adenilatotransferasa (AT) y la proteína P_A , y la desadenilación cuando la transferasa se une a la proteína P_D (b). La conversión de P_A en P_D se realiza por la uridiltransferasa, mientras la reacción inversa se lleva a cabo por hidrólisis (c).

Otros tipos de modificaciones

Hace más de 30 años se conoce que la actividad de algunas enzimas puede ser modificada por la formación de enlaces disulfuros en las proteínas enzimáticas; este tipo de modificación covalente puede ser resultado de la reacción con un agente externo que queda unido a la enzima



o por la formación de puentes disulfuro intramoleculares



Estas reacciones son similares a las de formación de los enlaces disulfuro que estabilizan la estructura terciaria de las proteínas, difieren de éstos en que, en la enzima nativa los disulfuros involucrados en la regulación deben estar accesibles a la reducción por tioles externos, ya que la regulación por este mecanismo se realiza como respuesta a los cambios en el estado *redox* de la célula y sólo puede ocurrir si la reacción es muy reversible.

La reacción de intercambio es catalizada por enzimas que están presentes en el citosol y el sistema de membranas de la célula; entre las enzimas reguladas por este mecanismo se encuentran la piruvatoquinasa, hexoquinasa y glucosa-6-fosfatasa hepáticas y la fosfofructoquinasa y fructosa-1-6-bisfosfatasa del músculo. Aun cuando ha sido estudiado minuciosamente el significado metabólico de este mecanismo, no está esclarecido de manera convincente.

Otro tipo de modificación descrito en casi todos los eucariontes se produce por la transferencia a algunas enzimas del grupo 5'-ribosil-ADP proveniente del NAD⁺. El significado de esta modificación no está del todo claro aunque parece estar vinculado de alguna forma con los procesos de síntesis de las macromoléculas informacionales; un ejemplo de este tipo se trata en el capítulo 30. Menos estudiado es el caso de algunas enzimas bacterianas que se controlan por acetilación y desacetilación.

Por último, es conveniente añadir que como el alosterismo, la modificación covalente no es un mecanismo de modulación exclusivo de las enzimas y que se verá en otros tipos de proteínas como los transportadores de membrana, etcétera.

Fenómeno de amplificación

La presencia de estos 2 mecanismos de regulación puede llevar a la pregunta de ¿cuál es más eficiente para la célula en el control del metabolismo? Los estudios experimentales han demostrado que ambos tipos de mecanismos son eficaces; estos resultados conducen a otras preguntas ¿por qué existe la regulación covalente si ella representa un gasto energético mayor y se obtiene la misma eficacia que con el alostérico? ¿No podría lograrse también con un mecanismo alostérico que representa incluso un ahorro de enzimas para la célula? Realmente así es, pero este mecanismo presenta una ventaja que no es posible obtenerla con el alosterismo.

Otra vez la regulación de la glucogenólisis proporciona el ejemplo más ilustrativo; suponga que las enzimas involucradas en el proceso son capaces de transformar 100 moléculas de sustrato por minuto, -lo cual representa un número de recambio bajísimo si se trata de enzimas; suponga además, que en una determinada situación se forman 4 moléculas de AMPc por minuto y observe qué sucede (p. 307); según la reacción (1),

en un minuto se activa una molécula de PK-A, que da 2C, pues se trata de un mecanismo alostérico, pero cada una de las moléculas de C en el minuto siguiente activará 100 moléculas de GFK, dando en total (2×100) 200 GFK activas. Cada una de las GFK activará 100 de GP, pero como existen 200 moléculas activas el número total será (200×100) igual a 20 000 moléculas activas de GF-P. Cada molécula de GF-P rompe 100 enlaces del glucógeno, luego la ruptura total será de $(20\ 000 \times 100)$ igual a 2 000 000 de enlaces. En resumen, por cada 4 molécula de AMPc se rompen 2 millones de enlaces glicosídicos, lo cual no es posible con el mecanismo alostérico, pues cada efector sólo actúa sobre una enzima en forma estequiométrica.

Cuando a partir de una señal metabólica determinada se produce una respuesta de intensidad considerablemente mayor que la intensidad del estímulo, se dice que el sistema posee la propiedad de amplificación.

La clave de este fenómeno de amplificación radica en que los intermediarios del proceso son enzimas, mientras mayor sea el número de intermediarios enzimáticos mayor será el grado de amplificación.

La amplificación de señales metabólicas es importante para muchos fenómenos biológicos, como la acción de las hormonas, la contracción muscular, la coagulación de la sangre, etcétera.

Es bueno señalar que no todas las modificaciones covalente poseen un sistema de amplificación, ni toda amplificación se produce por un mecanismo de modificación covalente.

Otros mecanismos de regulación

Aun cuando los mecanismos de regulación alostérica y covalente son los más ampliamente distribuidos en los seres vivos, existen otros mecanismos que también contribuyen a la efectividad del metabolismo. En algunos casos tienen rasgos comunes con los mecanismos ya estudiados pero por sus características singulares merecen un tratamiento diferenciado. A continuación se exponen los aspectos más notables de esos mecanismos sin pretender agotar el tema.

Proteólisis limitada

Algunas enzimas se sintetizan en forma de precursores inactivos denominados zimógenos; la transformación al estado activo se logra cuando una enzima proteolítica cataliza la hidrólisis de uno o varios enlaces peptídicos en la molécula de la enzima; como consecuencia de esta proteólisis limitada se produce una tranconformación de la enzima que la hace activa, este caso no deja de ser una variedad de modificación covalente, pues se produce mediante la ruptura de enlaces peptídicos, aunque se diferencia por su carácter irreversible. A este tipo de mecanismo está asociada una gran amplificación, pues a veces basta con la ruptura de un solo enlace peptídico para provocar la transformación de un número considerable de moléculas del sustrato. Este mecanismo resulta de gran importancia en el proceso de la coagulación sanguínea (capítulo 63), así como en la activación de las enzimas digestivas (capítulo 54).

Variación en el estado de agregación

Existen enzimas que se presentan en 2 formas, como monómero y polímero, pero sólo presentan actividad en una de ellas, casi siempre el polímero. Este mecanismo de regulación consiste en modular la actividad de la enzima variando su estado de agregación; de esta forma los factores que promueven la formación del monómero o la inhibición de la polimerización disminuyen la actividad enzimática, en tanto los que

favorecen la polimerización la incrementan. El caso mejor estudiado es la acetil-CoA carboxilasa, una enzima multifuncional cuya función metabólica se estudia en el capítulo 49.

La enzima es inactiva en su forma monomérica, pero es capaz de formar polímeros de hasta 20 unidades que exhiben una gran actividad catalítica; el ácido cítrico se une a la enzima y promueve la polimerización y es por tanto un activador. Los tioésteres de la coenzima A con ácidos grasos de cadena larga, especialmente el palmítico, favorecen el estado monomérico y actúan como inhibidores; es interesante que este estado de agregación también se regule por modificación covalente del monómero; la proteína quinasa A fosforila a la enzima en un residuo específico de serina e inhibe la polimerización, en tanto la proteína quinasa sensible a la insulina (ISPK) la fosforila en otro sitio y estimula la polimerización; de esta forma la actividad de la enzima depende de una parte de la concentración de sus efectores alostéricos (cítrico y acil-CoA) y de otra del nivel de actividad de las 2 quinasas (ISPK y PK-A).

Interacción proteína-proteína

Cada día se conoce un mayor número de enzimas cuya actividad requiere de su interacción con otra proteína, la cual a su vez está sometida a algún mecanismo de regulación. No se conoce exactamente cómo esta interacción proteína-proteína provoca el incremento de la actividad enzimática, tal vez el caso más estudiado es el de algunas enzimas cuya actividad depende de los iones Ca^{2+} ; este catión puede actuar directamente sobre algunas enzimas y modular su actividad, pero en muchos casos esta acción reguladora depende de la calmodulina. La calmodulina es una proteína de 148 aminoácidos cuya secuencia está muy conservada de forma filogenética, posee un residuo de lisina en la posición 115 que está trimetilado y es portador de una carga positiva permanente independiente del pH; su estructura terciaria se caracteriza por presentar 2 dominios globulares, uno en cada extremo, unidos por una hélice a de 7 vueltas. En cada uno de los dominios globulares existen 2 sitios de unión para el Ca^{2+} como se muestra en la figura 17.10.

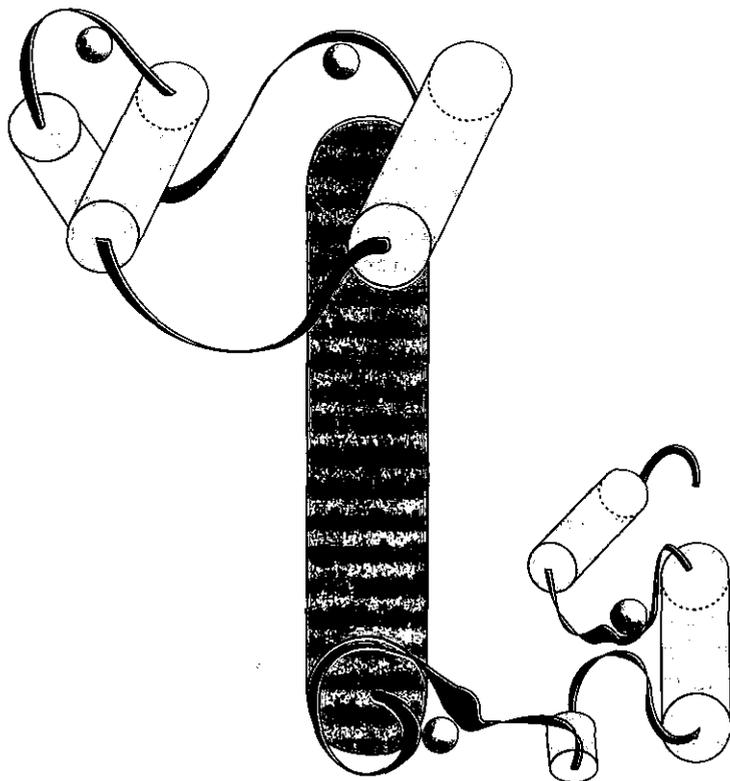


Fig. 17.10. Estructura de la calmodulina. El diagrama muestra la estructura tridimensional de la calmodulina con sus extremos, formando los dominios globulares (en azul) y la unión entre ellas (en rojo). Los cilindros representan estructuras helicoidales y los círculos verdes los sitios de unión para el Ca^{2+} , que como se ve son 2 en cada extremo.

Todo parece indicar que la unión del catión provoca una transconformación de la proteína que hace que alguna zona hidrofóbica críptica quede expuesta y por esta zona se produce la interacción con otras proteínas; esta unión promueve la actividad de la enzima.

Se conocen numerosas proteínas enzimáticas o no, cuya actividad depende de la calmodulina; entre ellas existe un grupo de proteínas quinasas con variado grado de especificidad, como las proteínas quinasas dependientes de calmodulina I y II, glucógeno fosforilasa quinasa (capítulo 43), la quinasa de cadenas ligeras de miosina, etcétera; al menos una de las isoformas de la adenilciclasa depende de calmodulina; un transportador activo de Ca^{2+} que utiliza la energía de la hidrólisis del ATP también es dependiente de calmodulina, con lo cual el catión es capaz de regular su propia concentración intracelular.

Otros ejemplos de interacciones de enzimas y proteínas que serán estudiados posteriormente son: la proteína G trimérica con la adenilciclasa y algunas fosfolipasas, la proteína p21^{Ras} con proteínas quinasas y la proteína reguladora de la glucoquinasa (capítulo 42).

Translocalización de enzimas

Este mecanismo consiste en trasladar la enzima de una localización donde es inactiva a otra donde es activa y viceversa; los agentes que favorecen la translocalización actúan como activadores o inhibidores según el sentido del desplazamiento, un ejemplo muy estudiado es proteína quinasa C (PK-C), esta enzima se encuentra habitualmente en el citosol donde es inactiva, en condiciones que promueven el incremento de la concentración intracelular de Ca^{2+} , éste se une a la enzima y favorece su translocalización hacia la membrana plasmática, donde la enzima es activada por los diacilgliceroles producidos por la hidrólisis de algunos fosfolípidos de la membrana; de esta forma la enzima y su activador sólo pueden entrar en contacto cuando las concentraciones intracelulares del catión lo permitan.

Otro ejemplo de este tipo es la citidiltransferasa que será estudiada en el capítulo 18.

Cambios en la especificidad

Se conocen apenas una docena de enzimas cuyo mecanismo de regulación implica cambios en la especificidad de acción, de sustrato o ambos. La actividad de estas enzimas se regula a su vez por diferentes mecanismos como el alostérico, el covalente y la interacción con otras proteínas, en este capítulo sólo se estudiarán algunos a modo de ilustración, pues algunos casos serán estudiados con más detalles en capítulos posteriores.

Lactosa sintetasa

La lactosa es el azúcar de la leche, la glándula mamaria sintetiza grandes cantidades de este disacárido durante el período de lactancia y casi nada durante los períodos intermedios. La enzima galactosiltransferasa está presente en numerosos tejidos del organismo que cataliza la transferencia de un grupo galactosilo desde el UDP-galactosa hacia la N-acetil glucosamina para formar N-acetil lactosamina; mediante esta reacción la enzima participa en la síntesis de oligosacáridos que después serán incorporados a proteínas en la formación de glicoproteínas, esta enzima también se encuentra en la glándula mamaria y su concentración se incrementa durante el período de gestación.

En el momento del parto, por la acción estimulante de algunas hormonas, la glándula mamaria comienza la síntesis de una proteína denominada lactoalbúmina,

que se une específicamente a la galactosiltransferasa y modifica su especificidad de sustrato; ahora el monosacárido aceptor pasa a ser la glucosa en vez de la N-acetil glucosamina y por tanto el producto de la reacción es la lactosa; al complejo formado por la galactosiltransferasa y la lactoalbúmina se le da el nombre de lactosa sintetasa (Fig. 17.11)(capítulo 46).

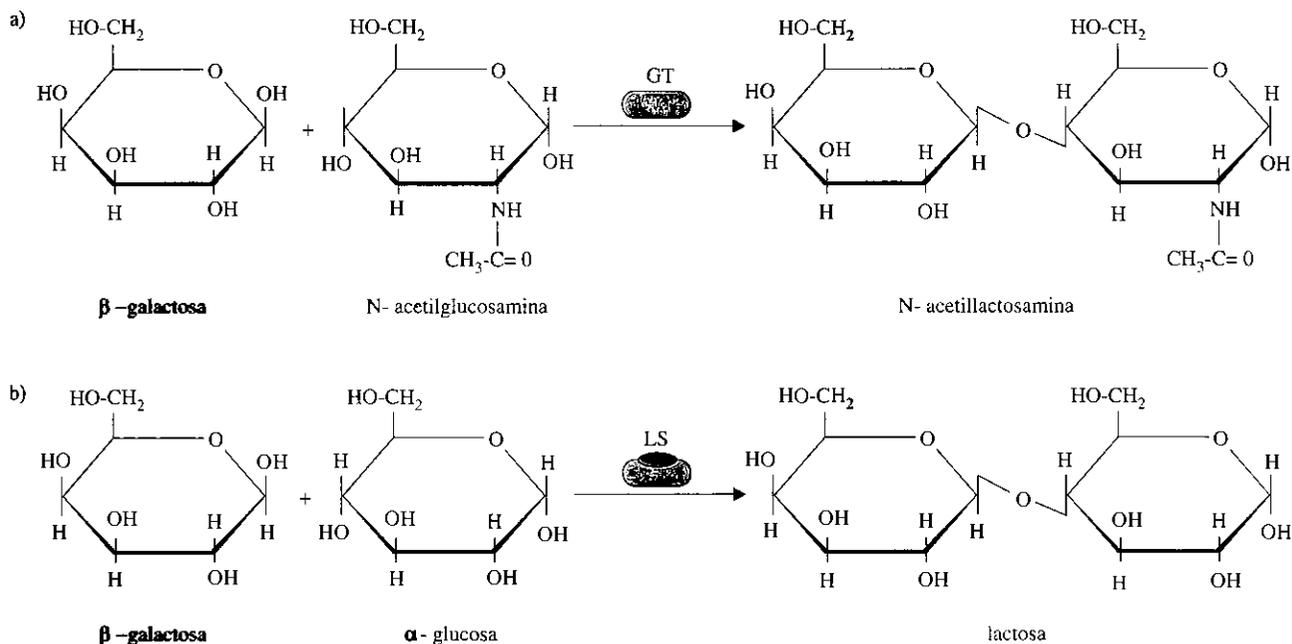


Fig. 17.11. Lactosa sintetasa. En (a) se muestra la reacción catalizada por la galactosil transferasa en ausencia de la lactoalbúmina y en (b) cómo la especificidad de la enzima, para el sustrato aceptor, cambia de la N-acetil glucosamina a la glucosa al unirse con la lactoalbúmina y formar la galactosa sintetasa.

Fosfofructoquinasa-2/Fosfofructo fosfatasa-2

Ésta es una enzima clave en el control del metabolismo de la glucosa (capítulo 44). Existen por lo menos 5 isoformas de la enzima que se encuentran distribuidas de manera específica en los diferentes tejidos, de ellas sólo la hepática y la cardíaca participan en este mecanismo. A modo de ilustración se estudiará la hepática.

La enzima tiene 2 centros activos que catalizan reacciones opuestas, uno de ellos transfiere un grupo fosfato del ATP hacia la fructosa-6-fosfato para formar fructosa-2,6-bisfosfato, o sea, actúa como una quinasa; el otro sitio cataliza la hidrólisis de la fructosa-2,6-bisfosfato para formar fructosa-6-fosfato, tiene actividad de fosfatasa. El mecanismo de regulación de esta enzima se realiza haciendo cambiar simultáneamente las especificidades de acción y de sustrato, de manera que en un momento determinado sólo exista un tipo de actividad.

La enzima hepática está formada por 2 subunidades idénticas de 55 kD cada una; hacia el extremo N terminal presenta la secuencia 27-arg-arg-arg-gli-ser-33, por lo que la serina 32 es el sitio de fosforilación por la proteína quinasa A. Al ser fosforilada la K_m para la fructosa-6-fosfato aumenta de 20 a 30 veces y la V_m disminuye a 50 ó 65 % de la del estado no fosforilado, esto significa que se produce una profunda inhibición de la actividad de quinasa; por otra parte, en el estado fosforilado la V_m de la actividad de fosfatasa aumenta de 2 a 4 veces sin cambios apreciables en la K_m para la fructosa-2,6-bisfosfato.

Estos datos indican que la enzima en su estado desfosforilado actúa como una quinasa y en el fosforilado como una fosfatasa (Fig.17.12).

Estos cambios de especificidad permiten la adaptación del metabolismo hepático de la glucosa a las condiciones del organismo.

Otros ejemplos de este mecanismo son: la adeniltransferasa de *E. coli* estudiada en este capítulo relacionada con la regulación de la glutamina sintetasa, las quinatas dependientes de ciclitas que serán estudiadas en el capítulo 24 y la ribonucleótido reductasa que se estudiará en el capítulo 57.

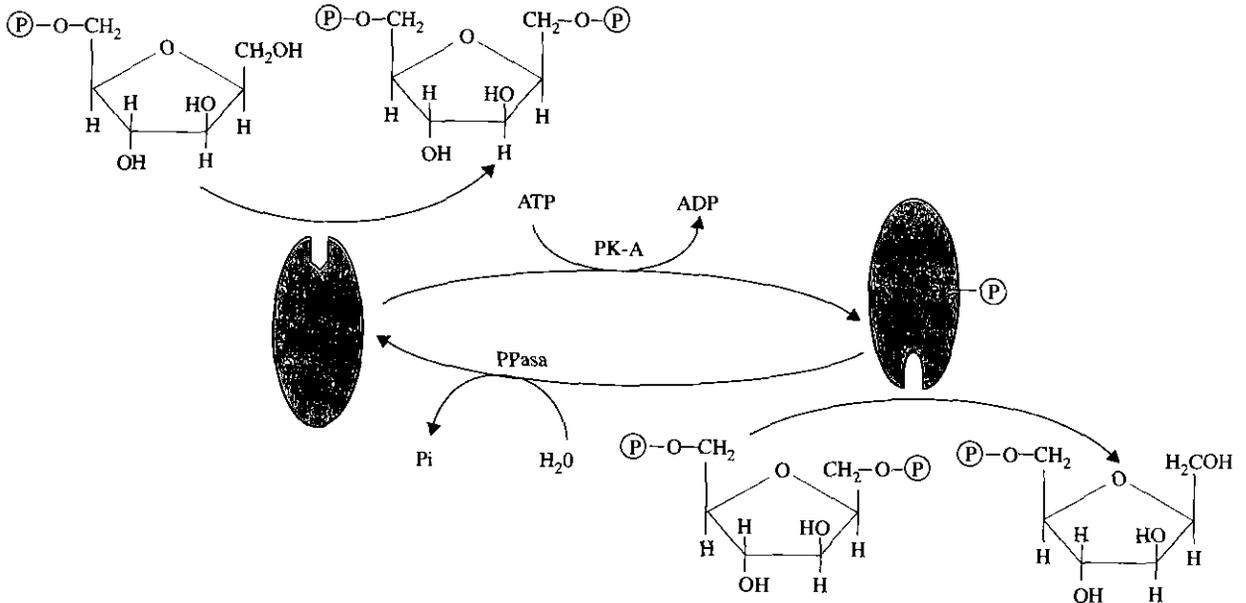
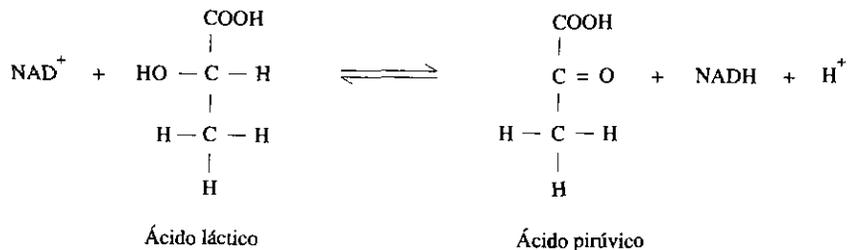


Fig. 17.12. Fosfofructoquinasa-2/fosfofructofosfatasa-2. En la figura se esquematiza la regulación de esta enzima bifuncional. En el estado no fosforilada tiene actividad de fosfofructoquinasa transformando la fructosa-6-fosfato en fructosa-2,6-bisfosfato; al ser fosforilada por la proteína quinasa A (PK-A) se transforma en la fosfofructofosfatasa que hidroliza el enlace éster fosfórico de la posición 2 de la fructosa-2,6-bisfosfato y la transforma en fructosa-6-fosfato. Es una de las pocas enzimas conocidas que cataliza 2 reacciones contrarias, en este caso el estado de fosforilación de la enzima determina tanto su especificidad de sustrato como de acción.

Isoenzimas

En este tipo de enzimas se presenta una situación que las diferencian de los casos anteriores. Las isoenzimas son proteínas que catalizan la misma reacción, con los mismos requerimientos pero con propiedades cinéticas y fisicoquímicas diferentes, lo cual permitió su descubrimiento y estudio.

Aunque existen numerosas enzimas que presentan formas isoenzimáticas, el primer caso conocido y el más estudiado es la lactato deshidrogenasa (LDH); esta enzima existe en todos los tejidos y en todos ellos cataliza la misma reacción.



En este caso el NAD^+ es un cofactor que acepta los átomos de hidrógeno separados del lactato por la enzima (capítulo 19).

La isoenzima presente en el corazón tiene una mayor afinidad por el lactato y está favorecida la reacción de izquierda a derecha, mientras que la isoenzima del músculo esquelético tiene mayor afinidad por el piruvato, lo que favorece la reacción contraria.

La respuesta a esta situación surgió cuando se descubrió que la LDH está formada por 2 tipos de cadenas polipeptídicas y que la molécula contiene en total 4 cadenas.

Como la isoenzima del corazón contiene un solo tipo de cadena se le denominó H (*heart*= corazón) y al darse la misma situación en el músculo sus cadenas se designaron M (*muscle*= músculo). La fórmula subunitaria de estas 2 isoenzimas será por tanto H_4 y M_4 respectivamente; las procedentes de otros tejidos son híbridos que contienen los 2 tipos de cadenas cuyas fórmulas subunitarias serán H_3M , H_2M_2 y HM_3 , y sus propiedades cinéticas y fisicoquímicas son intermedias entre las otras 2 primeras, lo que permite separarlas en una muestra donde exista una mezcla de todas ellas (Fig. 17.13).

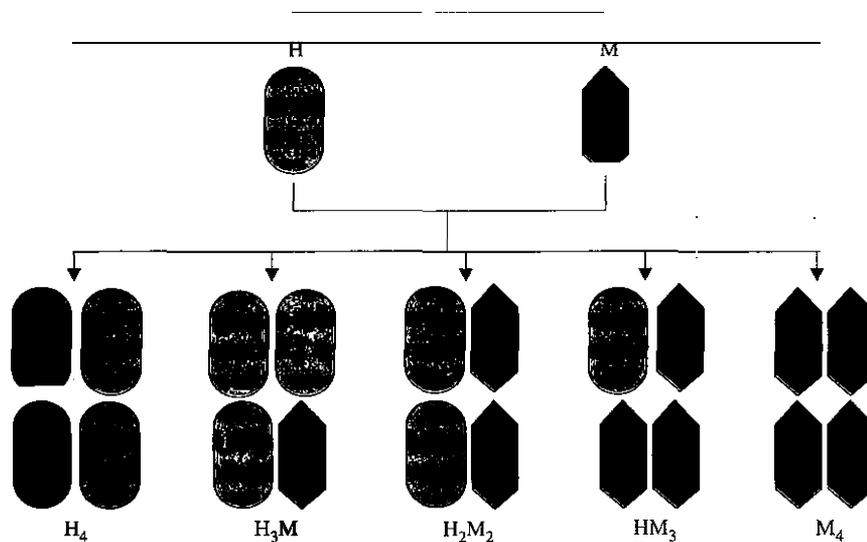


Fig. 17.13. Isoenzimas de la lactatodeshidrogenasa. Las isoenzimas de la LDH están formadas por 2 tipos de cadenas, H y M, que, de acuerdo con la proporción en que aparezca cada una de ellas en el tetrámero, darán origen a las diferentes formas de la enzima.

La presencia de determinada isoenzima confiere características particulares a etapas metabólicas en diferentes tejidos, creando un comportamiento diferente ante situaciones similares, esto introduce determinado grado de regulación en cuanto al metabolismo del organismo como un todo.

Otro ejemplo interesante es la enzima piruvico quinasa de mamíferos, de la cual existen al menos 3 isoenzimas, la M del músculo y cerebro, la L del hígado y la A que se encuentra en casi todos los tejidos; esta enzima es un tetrámero de 250 kD y las 3 isoenzimas difieren en sus propiedades cinéticas e inmunoquímicas. El hecho más curioso es que las isoenzimas difieren en su forma de regulación; la M no parece estar regulada, en tanto la A y la L son reguladas de forma alostérica; ambas formas son inhibidas por el ATP y la alanina y activadas por el fosfoenolpiruvato y la fructosa-1-6-bisfosfato.

La formación de un número creciente de isoenzimas a partir de un número reducido de componentes estructurales pone de manifiesto una idea que hemos venido desarrollando a lo largo de estos temas y que pudiéramos resumir diciendo: "En los sistemas biológicos la diversidad tiene como fundamento la simplicidad".

Resumen

Los organismos vivientes para poder sobrevivir deben ser capaces de adaptarse a las condiciones cambiantes del medio natural que los rodea, de esta situación se deriva la necesidad de los mecanismos de regulación.

Cuando un sistema o proceso es capaz de variar su comportamiento como respuesta a los cambios que se producen en su entorno, de forma que la respuesta directa o indirectamente, tiende a modificar el estímulo volviendo a la situación inicial, se dice que este sistema o proceso está regulado. En la regulación tanto el estímulo como la respuesta tienen carácter específico.

La regulación enzimática se refiere a la posibilidad que tienen las enzimas de variar la velocidad de las reacciones que ellas catalizan, al producirse determinados cambios en el medio; esa posibilidad viene dada por características estructurales de las enzimas, que son manifestaciones una vez más de la estrecha vinculación entre la estructura y la función de las biomoléculas. Los mecanismos que regulan la actividad de las enzimas son muy diversos pero pueden agruparse en 2 tipos fundamentales, los que varían la cantidad y los que modifican la actividad de las enzimas.

Todo sistema de regulación enzimática está constituido por varios componentes: el receptor que recibe el estímulo, el transductor que convierte el estímulo en una señal entendible por el sistema, el amplificador que aumenta la intensidad de la respuesta y el efector que realiza el cambio adaptativo directamente.

Entre los mecanismos que modifican la actividad se encuentran la modificación alostérica y la covalente.

Las enzimas alostéricas existen en varios estados conformacionales interconvertibles y en cada uno de ellos presentan una afinidad diferente por sus ligandos. La unión del ligando introduce un cambio conformacional que se transmite al resto de la molécula, modificando la fracción de centros activos útiles y con ello la velocidad de la reacción. Los principales modelos propuestos para explicar el mecanismo de las enzimas alostéricas son el simétrico o concertado y el secuencial.

En la modificación covalente la enzima existe en 2 formas de diferente composición, motivada por la adición o sustracción de un pequeño grupo unido de manera covalente a la proteína enzimática; cada forma de la enzima tiene una actividad cuantitativa diferente y al pasar de un estado a otro cambia la fracción de centros activos útiles. Los tipos más difundidos de modificación covalente son la fosforilación-desfosforilación, la adenilación desadenilación y el intercambio de sulfhidrilos disulfuros; tanto el alosterismo como la modificación covalente pueden observarse en proteínas que no tienen carácter enzimático.

Casi siempre a los mecanismos de modificación covalente está asociada una gran amplificación debido a que entre el receptor y el efector existen numerosos intermediarios enzimáticos.

Otros mecanismos de regulación menos difundidos en los seres vivos son los de la proteólisis limitada, en el cual las enzimas se sintetizan como precursores inactivos y se activan por la ruptura de enlaces peptídicos, la variación en el estado de agregación de las enzimas que existen como monómeros y polímeros de diferente actividad, por la interacción de la enzima con otra proteína no enzimática que generalmente la activa, por el cambio de localización celular y por cambios en la especificidad de acción, de sustrato o ambos.

Las isoenzimas son formas diferentes de una misma enzima que se diferencian en sus propiedades cinéticas y fisicoquímicas y hacen que las reacciones que ellas catalizan presenten características diferentes en los tejidos donde se encuentran. El caso más conocido es el de la enzima lactato deshidrogenasa que cataliza la conversión reversible del lactato en piruvato.

Ejercicios

1. ¿Por qué para poder asegurar que un sistema está regulado la respuesta debe modificar al estímulo inicial?
2. ¿Por qué podemos afirmar que los mecanismos de regulación enzimática son una expresión del principio de máxima economía?

3. El fenómeno de cooperatividad se asocia generalmente a las enzimas alostéricas. ¿Podría usted explicar una situación en que una enzima no alostérica mostrase un efecto cooperativo?
4. ¿Por qué se afirma que el modelo secuencial puede explicar los efectos cooperativos heterotrópicos, mientras que el simétrico no?
5. ¿Cuál es la razón de que los modelos que tratan de explicar el comportamiento de las enzimas alostéricas supongan que éstas presentan estructura cuaternaria?
6. Haga un esquema que explique la regulación de la fosfofructoquinasa por el ATP y el ADP, según el modelo a) simétrico y b) secuencial.
7. Dos procesos metabólicos se regulan por modificación covalente y por fosforilación-desfosforilación, si en uno hay 3 quinasas intermedias con una k_{cat} de 120 min^{-1} , y en el otro 4 con k_{cat} de 80 min^{-1} , calcule el grado de amplificación para cada uno de ellos.
8. Existe una ruta metabólica en la cual la sustancia A puede ser convertida en D según varias reacciones, por otra parte D se convierte en A. ¿Podría usted diseñar un sistema de regulación tal que cuando la célula necesite la sustancia D, la vía funcione sólo en la dirección $A \longrightarrow D$, y cuando necesite la sustancia A funcione sólo en el sentido $D \longrightarrow A$?