

# 19

## CAPÍTULO

### Cofactores enzimáticos

En numerosas ocasiones para poder catalizar una reacción, además de la enzima, se requiere de otra molécula de bajo peso molecular -en relación con el peso de la enzima. Estas moléculas realizan diversas funciones que contribuyen de manera decisiva al desarrollo de la reacción, son los llamados cofactores enzimáticos. Los cofactores enzimáticos son necesarios en muchas reacciones, ya que las enzimas poseen en la cadena R de sus aminoácidos un número limitado de grupos funcionales que no incluyen todos los necesarios para intervenir en los mecanismos de las reacciones metabólicas; aunque en algunos casos los cofactores no presentan grupos diferentes a los presentes en la enzima, como el -SH o el -S-S-, que no son diferentes a los de la cisteína y la cistina. Las características estructurales de estos cofactores le confieren capacidad de translocación -mover sus grupos reactivos de un sitio a otro dentro de la molécula- que no pueden realizar ninguno de los aminoácidos proteínicos; estos movimientos pueden ser esenciales en algunas reacciones metabólicas catalizadas por complejos multienzimáticos.

Aun cuando la función determinante la desempeña la enzima, y de ella depende tanto la especificidad de acción como la del sustrato, la participación de los cofactores es imprescindible, pues se ha comprobado que sin ellos hay reacciones que no son posibles.

En este capítulo se estudiará cada uno de los cofactores enzimáticos conocidos tanto de forma estructural como funcional. Este conocimiento es necesario para mejor comprensión de las rutas metabólicas en particular y de la actividad celular en general.

### Tipos de cofactores

Desde el punto de vista de su estructura química podemos distinguir 2 tipos de cofactores: los iones inorgánicos y los compuestos orgánicos, a estos últimos se les denomina coenzimas.

No se ha podido elaborar una clasificación funcional de los cofactores, aunque algunos participan en un tipo de reacción, otros intervienen en un número tan variado que no es posible atribuirlos a ningún grupo.

Otro criterio utilizado anteriormente fue el grado de fortaleza de la unión entre el cofactor (especialmente las coenzimas) y la proteína enzimática, designando como coenzimas aquellas que se unían débilmente y podían separarse por diálisis, y grupos prostéticos a los que se unían de manera fuerte, en ocasiones de forma covalente, que

no eran separables por ese procedimiento. En este caso cabe la misma observación que en el anterior, ya que hay algunos tipos de cofactores que siempre se unen de manera fuerte a la enzima, en tanto otros unas veces se ligan con fuerza y otras no. Los ejemplos de cada caso se verán en todo el capítulo.

### **Formas de actuar los cofactores inorgánicos**

Los iones inorgánicos participan en un amplio y variado número de reacciones bioquímicas; se estima que una tercera parte de las enzimas requieren de un ion inorgánico en algún momento de la catálisis.

Los cofactores inorgánicos son casi siempre cationes divalentes como el  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ , etcétera, aunque también pueden ser monovalentes como el  $K^+$  e incluso aniones como el  $Cl^-$ ; algunos de estos iones se encuentran unidos tan fuerte a la enzima que se pueden obtener junto con ella en el proceso de su purificación, otros lo hacen tan débil que una vez purificada la enzima deben ser añadidos para que ésta recobre su actividad.

Aunque intervienen en múltiples reacciones podemos distinguir 3 formas fundamentales de actuar:

1. Contribuyen a la unión entre la enzima y el sustrato, como si fueran una especie de "puente iónico" entre estos 2 componentes de la reacción, como el caso del  $Mg^{2+}$  en las quinasas.
2. Estabilizan la proteína enzimática en su conformación más activa y de esta forma contribuyen a la catálisis, éste es el caso del  $Ca^{2+}$  en algunas lipasas.
3. Constituyen de por sí el centro catalítico principal, pero al unirse a la proteína enzimática aumentan su eficiencia y adquieren especificidad, es el caso del  $Fe^{2+}$  en numerosas oxidorreductasas.

En ocasiones resulta difícil distinguir cuándo uno de estos elementos actúa como cofactor y cuándo como activador.

### **Formas de actuar las coenzimas**

Las coenzimas pueden definirse como moléculas orgánicas que poseen propiedades fisicoquímicas específicas, que no forman parte de la cadena polipeptídica de las enzimas y actúan junto con éstas en la catálisis de las reacciones bioquímicas.

En la mayoría de las reacciones, las coenzimas actúan transportando una pequeña parte del sustrato como electrones, átomos o grupos funcionales. Desde este punto de vista se distinguen 2 tipos principales: los transportadores interenzimáticos y los intraenzimáticos.

El mecanismo general de la reacción en el primer caso comprende las etapas siguientes:

1. Combinación del cofactor (CoF) con una enzima (E1).
2. Transferencia de parte del sustrato (S-X) al cofactor.
3. Migración del cofactor (CoF-X) de una enzima (E1) a otra enzima (E2).
4. Transferencia del grupo al sustrato (M) de la segunda enzima.
5. Disociación del cofactor (CoF) de la segunda enzima.

Esta es probablemente la forma más frecuente de actuar las coenzimas, como cofactor de 2 enzimas y como cosustrato de cada una de ellas.

Los transportadores intraenzimáticos (también llamados grupos prostéticos) están unidos de manera covalente a la proteína enzimática y transfieren parte del sustrato de un sitio a otro dentro de la misma enzima o a otro cofactor.

Los cofactores orgánicos pueden realizar otras funciones que, aunque menos generales que las anteriores, no dejan de ser importantes, como: modificar el estado de agregación en enzimas multiméricas; molde o plantilla que dirige el orden de incorporación de los precursores en una macromolécula informacional; iniciador (*primer*) de la síntesis de macromoléculas, e intermediarios intercambiables como sucede en el caso de las mutasas. En este capítulo trataremos principalmente de coenzimas que actúan por los 2 primeros mecanismos y para los cuales realmente se introdujo en la bioquímica esta denominación.

## Coenzimas y vitaminas

Las vitaminas son sustancias químicas que deben ser ingeridas por el organismo para su normal crecimiento y desarrollo. Un estudio detallado de éstas desde el punto de vista nutricional se presenta en el capítulo 73 de la sección de nutrición. Es un hecho comprobado que muchas vitaminas, especialmente las hidrosolubles, tienen importancia funcional por ser componentes de la estructura de las coenzimas, por ello muchas veces se habla de formas coenzimáticas de determinada vitamina. En la porción vitamínica de la coenzima en general radica el grupo funcional específico de la coenzima, aquél que es transformado por la acción de la enzima; pero es necesario tener presente que no todas las vitaminas forman parte de coenzimas, ni todas las coenzimas contienen una vitamina en su estructura.

De inmediato se pasará al estudio sistemático de cada una de las coenzimas.

## Piridín nucleótidos

Estas coenzimas presentan la nicotinamida, integrante del complejo vitamínico B como parte de su estructura, que está compuesta por un nucleótido de nicotinamida y otro de adenina unidos por un enlace anhídrido fosfórico 5'-5'. Existen 2 formas coenzimáticas: el nicotinadenindinucleótido ( $\text{NAD}^+$ ) y el nicotinadenindinucleótido fosfatado ( $\text{NADP}^+$ ) cuyas estructuras se muestran en la figura 19.1.

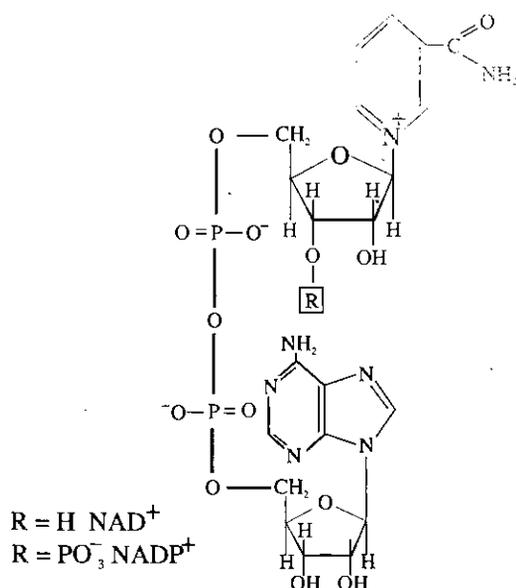
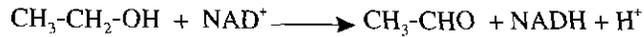


Fig. 19.1. Estructura de los piridín nucleótidos. Están formados por un nucleótido de nicotinamida (en rojo) y un nucleótido de adenina, unidos por un enlace anhídrido fosfórico.

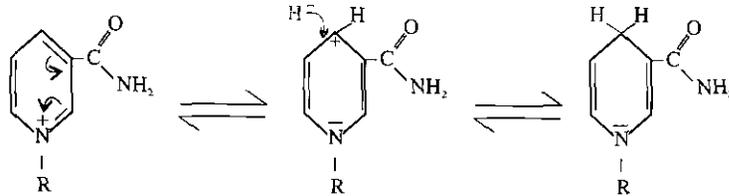
Tanto el  $\text{NAD}^+$  como el  $\text{NADP}^+$  participan en reacciones de oxidación-reducción catalizadas por deshidrogenasas. Una reacción típica es la catalizada por la alcohol deshidrogenasa:



La mayoría de las enzimas que utilizan piridín nucleótidos son específicas para el  $\text{NAD}^+$  y el  $\text{NADP}^+$ , excepcionalmente algunas pueden emplear cualquiera de los 2.

La conversión de  $\text{NAD}^+$  a su forma reducida  $\text{NADH}$  se acompaña de cambios evidentes en sus propiedades espectroscópicas. El  $\text{NAD}^+$  tiene una banda de absorción en 260 nm que disminuye al reducirse, mientras aparece otra en 340 nm. Esta característica se emplea con frecuencia para medir la actividad de enzimas dependientes de  $\text{NAD}^+$  en ensayos continuos.

El grupo funcional, que es transformado durante la catálisis, es el anillo de nicotinamida que puede captar o ceder un ion hidruro ( $\text{H}^-$ ).



Los piridín nucleótidos funcionan con enzimas que sustraen (o incorporan) al sustrato 2 átomos de hidrógenos unidos (directa o indirectamente) al mismo átomo de carbono; como de los 2 átomos de hidrógeno sustraídos al sustrato sólo un ion  $\text{H}^-$  se incorpora a la coenzima, esto hace que se libere un  $\text{H}^+$  al medio para crear en las reacciones una dependencia del pH. Las deshidrogenaciones se ven favorecidas en pH elevado y dificultadas en pH bajo.

Esto se hace más claro si se analiza la reacción de la alcohol deshidrogenasa ya mencionada:



cuya constante de equilibrio (capítulo 15) viene dada por:

$$K_e = \frac{[\text{CH}_3\text{-CHO}] [\text{NADH}] [\text{H}^+]}{[\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{OH}] [\text{NAD}^+]}$$

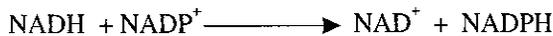
que reordenando tendremos:

$$K_e = [\text{H}^+] \cdot \frac{[\text{CH}_3\text{-CHO}] [\text{NADH}]}{[\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{OH}] [\text{NAD}^+]}$$

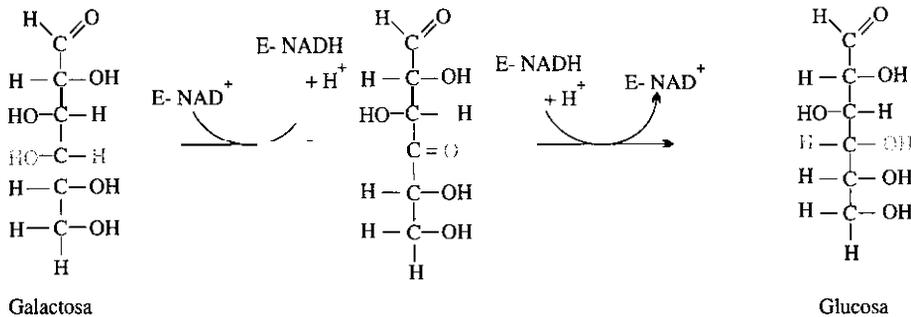
como se vio en el capítulo 14, para una temperatura y presión dadas el valor de  $K_e$  no se altera, por tanto, si el valor de  $[\text{H}^+]$  aumenta: -y por lo tanto el pH disminuye-, el valor de  $K_e$  se mantiene constante si disminuye el valor de la fracción que multiplica a  $[\text{H}^+]$ . Una disminución en el valor de la fracción significa una disminución en la concentración de los productos (que aparecen en el numerador) o un aumento en la concentración de los reactantes, (que aparecen en el denominador) o ambos, lo cual equivale a decir que al disminuir el pH, el equilibrio se desplaza hacia la formación de los reactantes.

Los piridín nucleótidos transfieren equivalentes de reducción entre 2 sustratos o entre un sustrato y otra coenzima, por lo cual su funcionamiento representa un ciclo de oxidación-reducción alternante.

En el metabolismo, el  $\text{NAD}^+$  funciona generalmente en reacciones de oxidación de sustratos, y el  $\text{NADP}^+$ , en las de reducción; por lo cual el primero es eminentemente una coenzima catabólica y el segundo anabólica. Existen enzimas llamadas transdeshidrogenasas que catalizan la transferencia de hidrógenos de una a otra coenzima:



Existen otras reacciones como las de epimerización, aldolización o eliminación de algunos grupos del sustrato donde el  $\text{NAD}^+$  actúa en un ciclo de oxidación-reducción del sustrato dentro de la misma reacción, promoviendo la aparición de grupos reactivos en el sustrato, que facilitan la acción de las enzimas. En estos casos, como el de la UDP-galacto epimerasa el  $\text{NAD}^+$  actúa como un grupo prostético.



Además de la función del  $\text{NAD}^+$  en las reacciones de oxidación-reducción, que sin dudas es la más importante, esta coenzima participa en otras reacciones. Se conoce su participación en las reacciones catalizadas por la ADN ligasa (capítulo 25), donde actúa como donante de grupos adenilatos. Por otra parte, también es coenzima en reacciones donde se transfiere a proteínas uno o varios grupos 5' ribosil-ADP con lo cual se modifica la actividad de estas proteínas, como se verá en el capítulo 30. En el caso de los piridín nucleótidos se evidencia también el principio de multiplicidad de utilización.

### Flavín nucleótidos

Las flavinas constituyen un grupo numeroso de sustancias en la naturaleza, la riboflavina, o vitamina  $\text{B}_2$ , es la que forma parte de estas coenzimas. Se presentan 2 formas coenzimáticas: el flavinmononucleótido (FMN) y el flavinadeninucleótido (FAD) cuyas estructuras se reproducen en la figura 19.2.

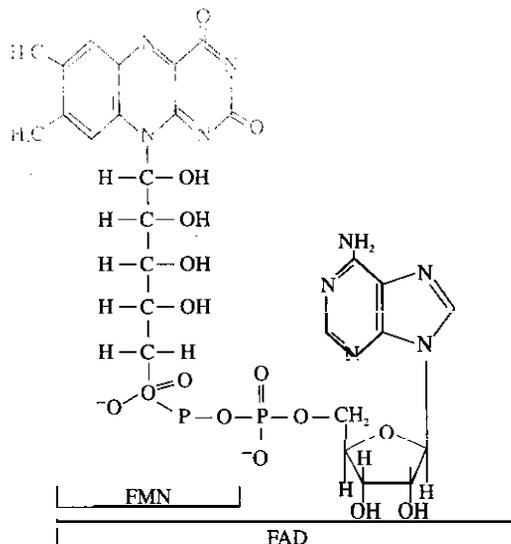


Fig. 19.2. Estructura de los flavín nucleótidos. Formados por un nucleótido de riboflavina y otro de adenina, unidos por un enlace anhídrido fosfórico; el grupo funcional es la isoaloxacina (en rojo).

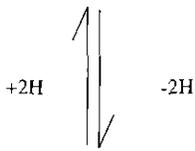
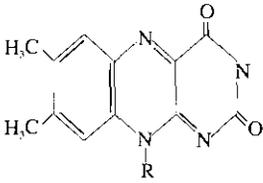
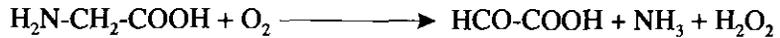
Las 2 formas participan en reacciones de oxidación/reducción catalizadas por deshidrogenasas y oxidasas, un ejemplo de las primeras es la reacción catalizada por la succinato deshidrogenasa:



y de las segundas la reacción catalizada por la glicina oxidasas:



que sumadas dan:

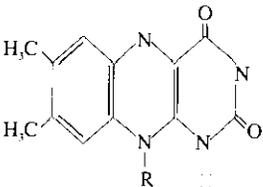


La reducción del FAD también se acompaña de cambios en su espectro de absorción que se emplea con los mismos fines que en el caso del NAD<sup>+</sup>.

El grupo funcional de estas coenzimas es el anillo de isoaloxacina, que puede pasar de su forma oxidada a semirreducida y reducida al captar 1 ó 2 átomos de hidrógeno, sin liberar protones al medio.

Los flavín nucleótidos funcionan con enzimas (flavoproteínas) que sustraen 2 átomos de hidrógeno de carbonos adyacentes, originando compuestos insaturados como en el caso de la succinato deshidrogenasa.

Los flavín nucleótidos se encuentran generalmente como grupos prostéticos y actúan entre un sustrato y una coenzima o entre 2 coenzimas.



### Ácido lipoico

El ácido lipoico es también un componente del complejo vitamínico B (Fig. 19.3).

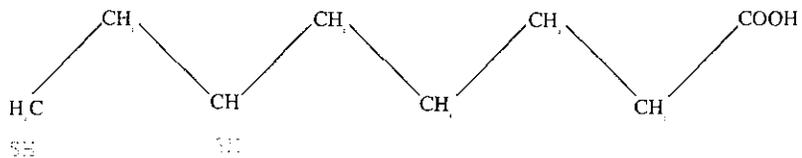
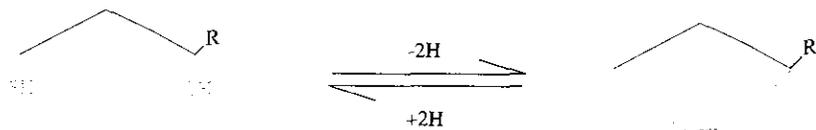


Fig. 19.3. Estructura del ácido lipoico. Una cadena carbonada de 8 carbonos, que presenta 2 grupos funcionales -SH (en rojo) y el grupo carboxilo que le permite unirse a la proteína enzimática para formar la estructura de la coenzima.

Casi siempre se encuentra unido de forma covalente a la enzima por un enlace amida entre su grupo carboxilo y el grupo amino de la cadena lateral de una lisina (lipoamida); la parte funcional de la molécula está constituida por los grupos -SH que pueden reducirse y oxidarse de manera alternativa.



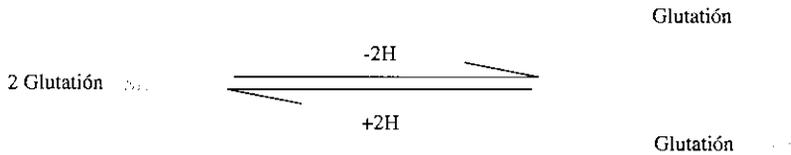
El tipo de unión coenzima-enzima hace que el grupo funcional (-SH) esté unido a una larga cadena carbonada que le permite gran movilidad, por lo que puede trasladarse grandes distancias dentro de la enzima.

La función metabólica de esta coenzima es participar en el complejo proceso de descarboxilación oxidativa de  $\alpha$ -ceto-ácidos, como la reacción de conversión del  $\alpha$ -ceto-glutarico en succinil-CoA que se estudia en el capítulo 38.

## Glutatión

El glutatión es un tripéptido que está distribuido de forma universal en los seres vivos (Fig. 19.4).

Además, gracias a la presencia de los grupos -SH, el glutatión funciona en reacciones de oxidación-reducción.



Esta coenzima es muy importante en los mecanismos involucrados en el mantenimiento de la estructura de las membranas celulares, especialmente en los eritrocitos, pues participa en los mecanismos de defensa contra el estrés oxidativo; su papel en el mantenimiento de la forma de los eritrocitos se verá en el capítulo 63.

## Porfirinas

Las porfirinas constituyen un grupo numeroso de sustancias de amplia distribución en la naturaleza, su estructura está formada por 4 anillos pirrólicos sustituidos, unidos por puentes metínicos y un catión divalente coordinado de manera central y que con mayor frecuencia es el  $Mg^{2+}$  -como en la clorofila- o el  $Fe^{2+}$  -como en la hemoglobina-. Posiblemente el representante de este grupo más abundante en la naturaleza es el grupo hemo (Fig. 19.5).

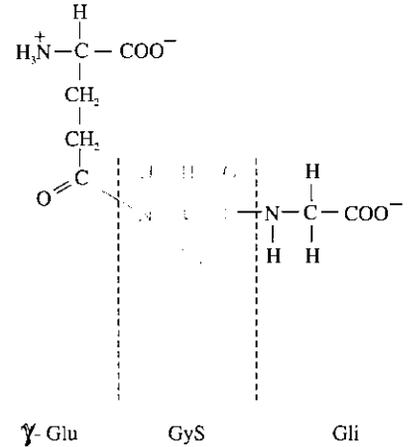
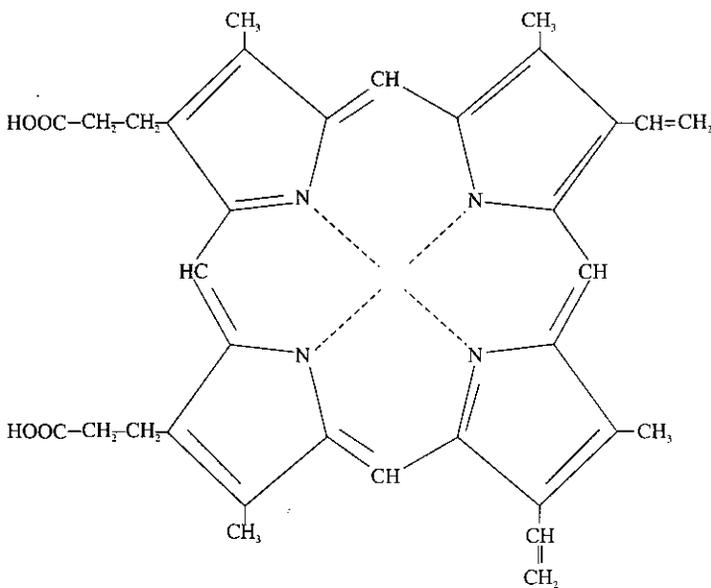


Fig. 19.4. Estructura del glutatión. El ácido glutámico se enlaza por el carboxilo de la cadena lateral a una cisteína que contiene el grupo funcional (en rojo) y por último a la glicina.

Fig.19.5. Estructura del grupo hemo. Formado por 4 anillos de pirrol, sustituido por 4 grupos metilos en 1, 3, 5 y 8; 2 vinilos en 2 y 4, y 2 ácidos propiónicos en 6 y 7. El átomo de hierro central se coordina con los nitrógenos de los pirroles y otros 2 sustituyentes que varían según la enzima.

Estas coenzimas se unen a la enzima (hemoproteínas) de forma diversa y pueden actuar en estado de  $Fe^{3+}$ ,  $Fe^{2+}$  o alternando de una a otra, de esta última forma intervienen como coenzimas de oxidación-reducción, tal es el caso de los citocromos de la cadena transportadora de electrones que se estudian en el capítulo 39.

### Biotina

La biotina constituye un compuesto esencial para el crecimiento y desarrollo de los seres humanos, está compuesta por un anillo de tiazol y un imidazol fundidos y sustituidos, y una cadena lateral de ácido valérico (Fig. 19.6).

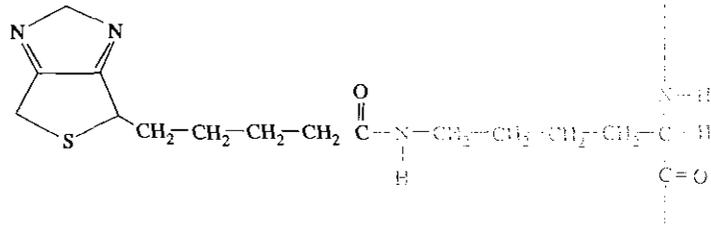
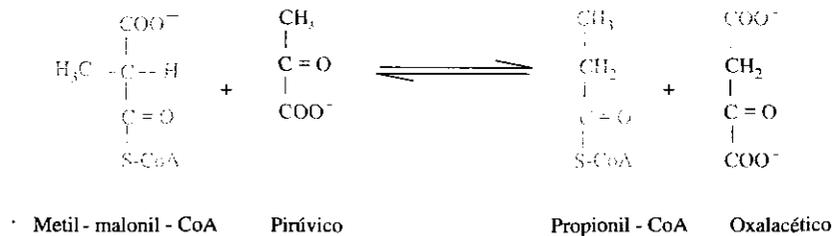


Fig. 19.6. Estructura de la biotina. La estructura cíclica formada por el imidazol sustituido y el tiazol y la larga cadena lateral forman la estructura de esta coenzima.

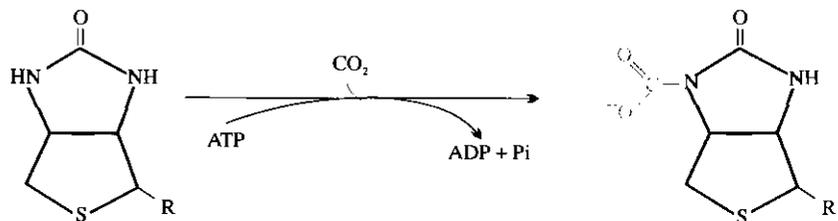
En general se encuentra unido de forma covalente a la enzima mediante un enlace amida, entre su grupo carboxilo y el amino de la cadena lateral de una lisina (biocitina); este tipo de unión le confiere al grupo funcional las mismas propiedades que las descritas para el ácido lipoico; participa en 2 tipos de reacciones: la carboxilación dependiente de ATP que resulta hidrolizado en ADP y  $P_i$ , como en la acetil-CoA carboxilasa:



y de transcarboxilación, como la catalizada por la metilmalonil:oxalacetato:transcarboxilasa.



El mecanismo de las reacciones dependientes de biotina incluye 2 etapas; la primera, que requiere ATP, el  $CO_2$  es incorporado al N-4 de la biotina liberando ADP y  $P_i$ ; una segunda etapa, el  $CO_2$  se transfiere al sustrato.



## Pirofosfato de tiamina

El pirofosfato de tiamina es la forma coenzimática de la tiamina o vitamina B<sub>1</sub>; en su estructura presenta un anillo de pirimidina sustituido, unido por un grupo metileno a un anillo de tiazol también sustituido, unido a su vez por un grupo etilo al pirofosfato como se muestra en la figura 19.7. La vitamina carece del grupo pirofosfato.

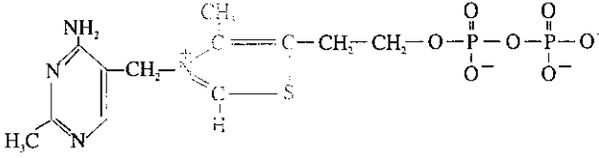


Fig. 19.7. Estructura del pirofosfato de tiamina. La estructura está formada por una pirimidina sustituida, enlazada por un metileno a un grupo tiazol sustituido, que se une al pirofosfato por un grupo etilo. El anillo de tiazol constituye el núcleo funcional de esta coenzima.

Esta coenzima que está muy distribuida en la naturaleza, participa en 3 tipos de reacciones:

1. La descarboxilación no oxidativa de  $\alpha$ -ceto-ácidos.
2. La descarboxilación oxidativa de  $\alpha$ -ceto-ácidos.
3. La formación de  $\alpha$ -cetoles.

El sitio funcional de la molécula es el grupo tiazol que puede disociar un protón, dando origen a un carbanión que reacciona con el grupo ceto del sustrato, que se descarboxila, y da origen a un compuesto intermediario muy reactivo.

Todas las reacciones que dependen del pirofosfato de tiamina (PPT) son básicamente similares; en cada caso un enlace C-C adyacente al grupo ceto se rompe, dando un intermediario estable; la reacción de este intermediario con un H<sup>+</sup> genera un aldehído (descarboxilación no oxidativa), con un agente oxidante, como el ácido lipoico, origina un ácido (descarboxilación oxidativa) y con un grupo carbonilo, un  $\alpha$ -cetol (formación de  $\alpha$ -cetoles) (Fig. 19.8).

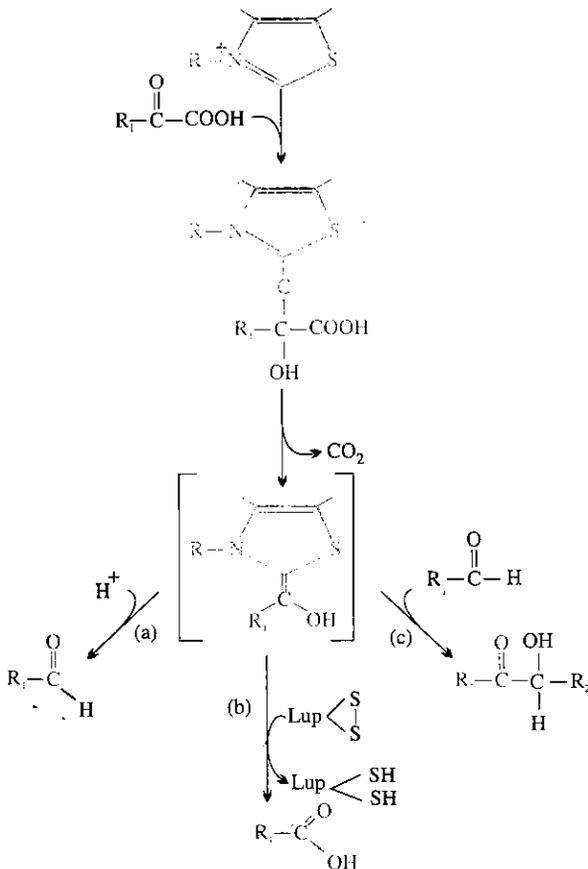
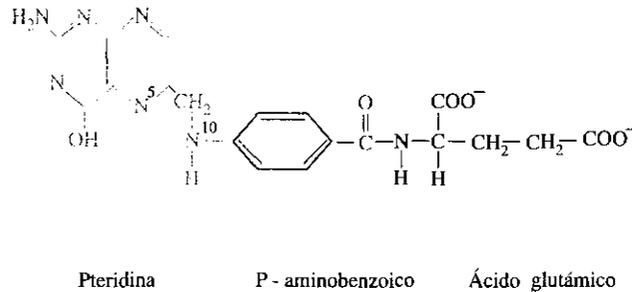


Fig. 19.8. Mecanismo general del pirofosfato de tiamina. La coenzima reacciona con el cetoácido y forma un intermediario estable (entre corchetes): (a) La reacción con un protón será el paso siguiente en la descarboxilación no oxidativa, (b) con un agente oxidante para la descarboxilación oxidativa y (c) con un aldehído en la formación de  $\alpha$ -cetoles.

## Ácido tetrahidrofólico

El ácido tetrahidrofólico ( $\text{FH}_4$ ) es la forma coenzimática del ácido fólico, su estructura está formada por una pteridina, el ácido p-amino-benzoico y el ácido glutámico (Fig. 19.9); pueden encontrarse formas que contienen hasta 7 moléculas de ácido glutámico unidas por enlaces isopeptídicos, aquéllos donde interviene el grupo carboxilo de la cadena lateral.

Fig. 19.9. Estructura del tetrahidrofolato. Formada por un anillo de pteridina unido al ácido para-amino-benzoico y éste al ácido glutámico. Los N de las posiciones 5 y 10 son los grupos funcionales de la coenzima.



La parte funcional de la molécula está representada por los nitrógenos que ocupan las posiciones 5 y 10, esta coenzima presenta múltiples formas interconvertibles (Fig. 19.10). Numerosos ejemplos de reacciones en que participa alguna de estas formas coenzimáticas se presentan en este texto.

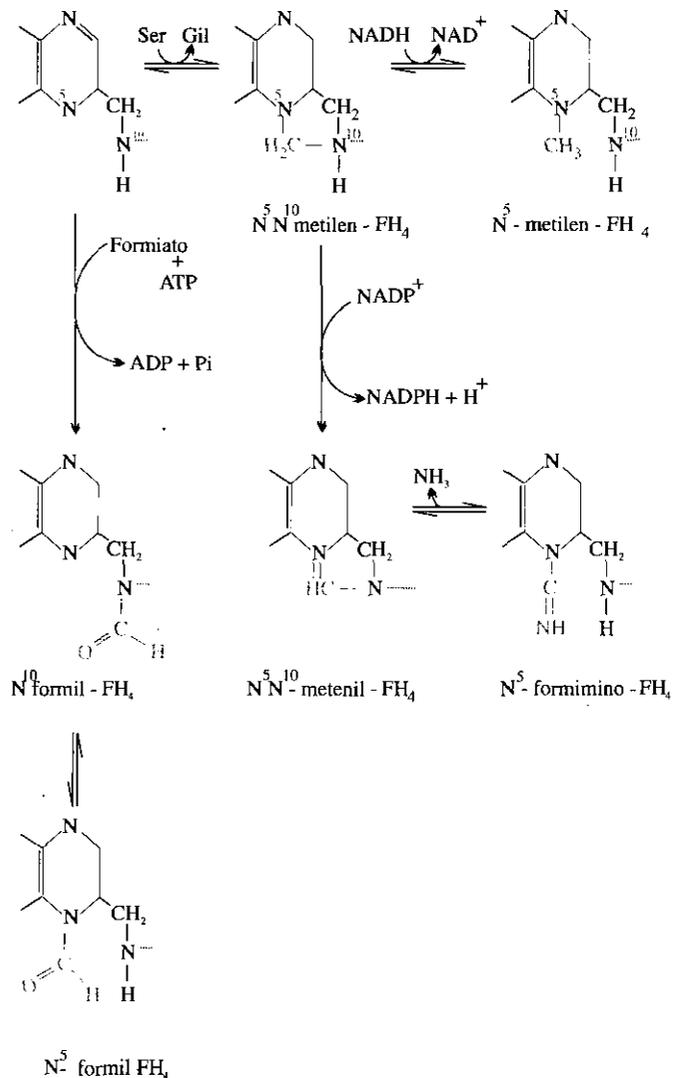


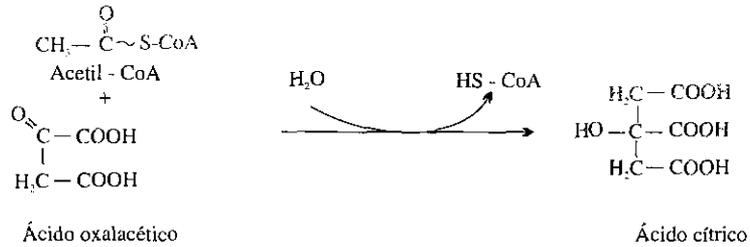
Fig. 19.10. Formas coenzimáticas del tetrahidrofolato. Distintas formas coenzimáticas del tetrahidrofolato y sus interconversiones.



La formación de los derivados acílicos se cataliza por enzimas sintetetas y requieren ATP como fuente de energía:



Una vez unido el grupo acilo puede experimentar numerosas reacciones, como su transferencia a un aceptor en la reacción de la citrato sintasa, donde el grupo acetilo de la acetil-CoA se transfiere al oxalacetato con formación de citrato.



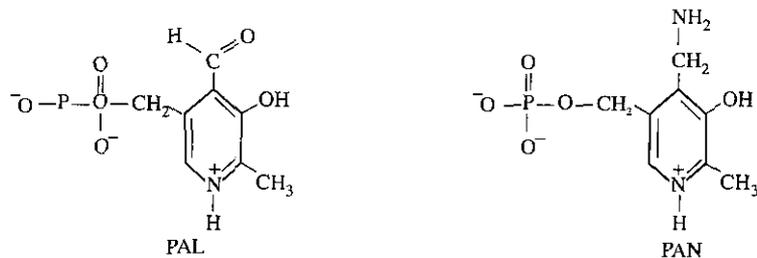
Cuando los grupos acilos son grandes su unión con la CoASH proporciona una ventaja adicional, pues contribuye a la solubilidad de estos compuestos en el seuo celular eminentemente acuoso.

El grupo de 4-fosfo-panteteína se ha encontrado también unido de forma covalente a una proteína denominada proteína transportadora de acilos (PTA) que forma parte de la sintetasa de ácidos grasos.

### Fosfato de piridoxal

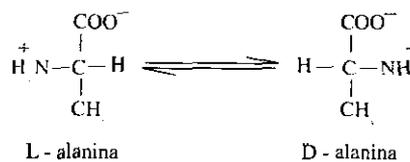
El fosfato de piridoxal es una de las coenzimas que intervienen en un mayor número de reacciones enzimáticas, casi todas relacionadas con el metabolismo de los aminoácidos; desde el punto de vista nutricional deriva de la piridoxina o vitamina B<sub>6</sub>. Como vitamina B<sub>6</sub> se reconocen al menos 3 compuestos: piridoxol, piridoxal y piridoxamina; las formas fosfatadas de los 2 últimos presentan actividad coenzimática (Fig. 19.13).

Fig. 19.13. Formas coenzimáticas de la piridoxina. Ambas formas contienen un anillo de piridina sustituido; si en la posición 4 tiene un grupo aldehído se forma el fosfato de piridoxal (PAL), pero si es un grupo metilamina entonces será la piridoxamina (PAN). Éstas son las 2 formas coenzimáticas de la piridoxina o vitamina B<sub>6</sub>.

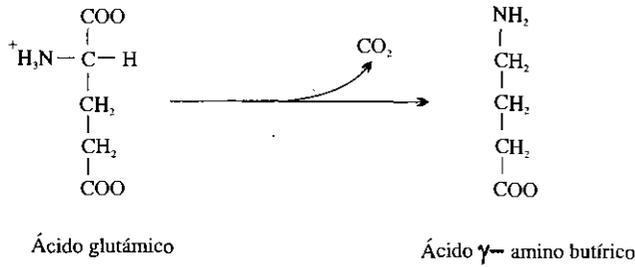


Entre las reacciones que interviene esta coenzima se encuentran:

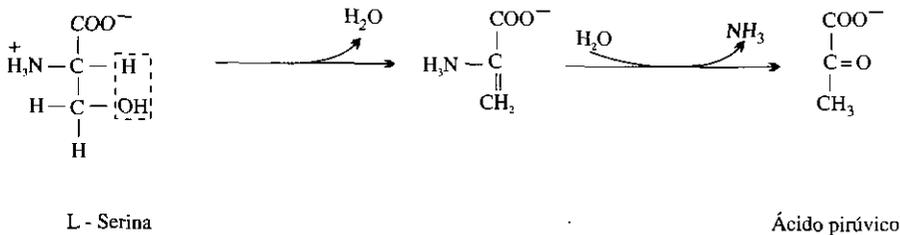
1. Racemización de aminoácidos, a partir de un enantiomorfo se obtiene una mezcla de los 2.



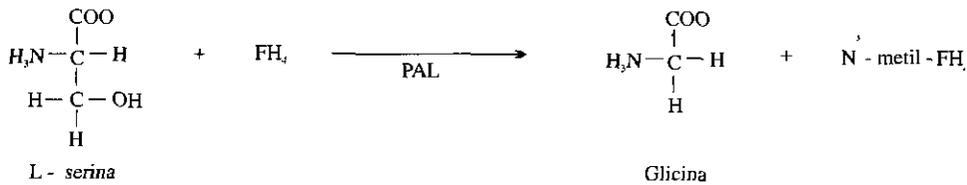
**2. Descarboxilación de aminoácidos con formación de compuestos de gran actividad biológica denominados aminas biógenas.**



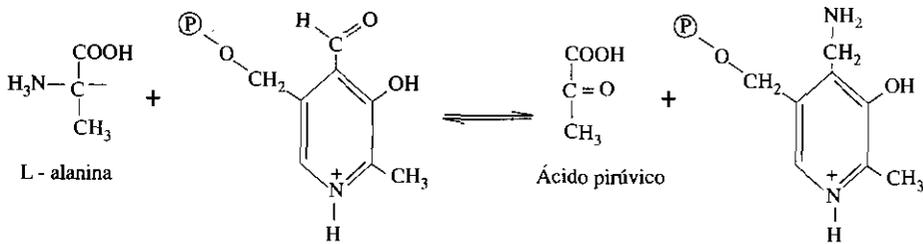
**3. La deshidratación de la serina que produce pirúvico.**



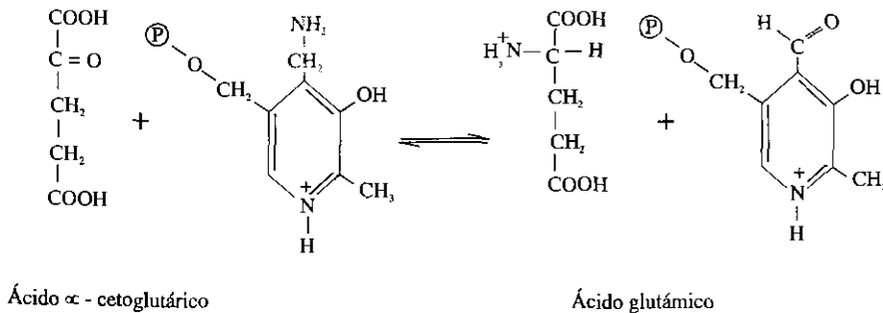
**4. La desaldolización de la serina que da lugar a la formación de glicina.**



**5. Las reacciones de transaminación son las más importantes, interrelacionan el metabolismo de los aminoácidos con el de los glúcidos; en estas reacciones un aminoácido reacciona con el fosfato de piridoxal (PAL) unido a la enzima y origina el cetoácido homólogo y la coenzima es transformada en fosfato de piridoxamina (PAN).**



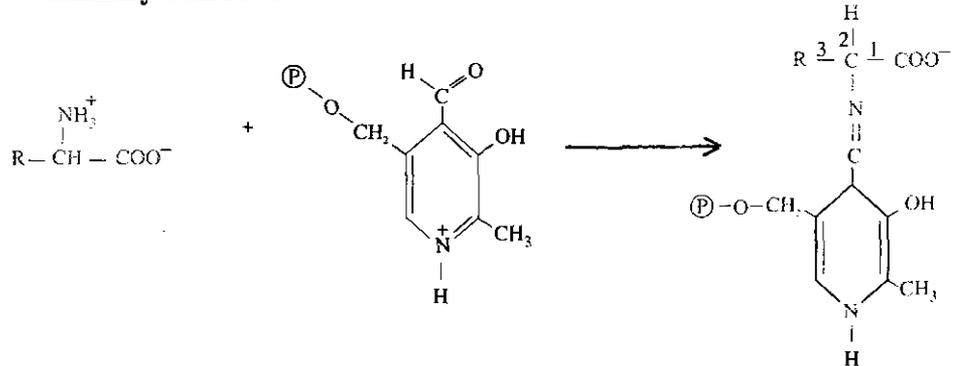
La reacción del PAN unido a la enzima con un cetoácido dará lugar a un nuevo aminoácido y la coenzima tornará a su estado inicial.



Este tipo de reacción fue tomado como ejemplo del mecanismo *ping pong* en las reacciones con 2 sustratos (capítulo 17).

En experiencias realizadas *in vitro* donde la enzima era sustituida por un ion metálico polivalente, con temperatura cercana a los 100 °C, se observó que las reacciones ocurrían de forma inespecífica y de manera simultánea, esto llevó a pensar que debía existir alguna etapa común en el mecanismo de la reacción.

Se propuso que el paso inicial consistía en la formación de una base *Schiff* entre la coenzima y el sustrato.



Esto puede producir el debilitamiento de los enlaces 1, 2 ó 3; si la enzima actúa sobre 1 estaríamos en presencia de una descarboxilación, si lo hace sobre 2 daría lugar a la eliminación de diferentes grupos de la cadena R de los aminoácidos según el curso ulterior de la reacción y la actuación sobre 3, así como la hidrólisis posterior del intermediario son los caminos para las reacciones de transaminación.

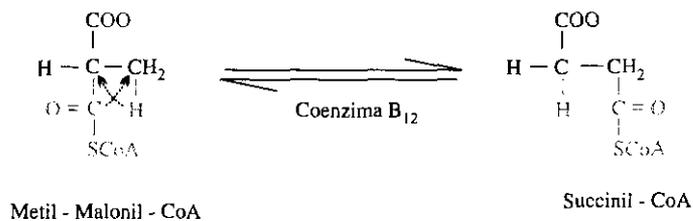
Otras reacciones en que participa el PAL como en la glucógeno fosforilasa serán objeto de estudio en los capítulos correspondientes.

### Coenzima B<sub>12</sub> (5'-adenosil-cobalamina)

Esta coenzima es un derivado de la vitamina B<sub>12</sub>, su estructura consiste en un anillo de corrina con un átomo central de cobalto; la corrina tiene como las porfirinas 4 anillos pirroles, sólo 2 de ellos (A y D) están enlazados directamente, además, están unidos a grupos metilos, propionamida y acetamida. El átomo de cobalto presenta 6 valencias de coordinación, 4 de ellas están enlazadas con los N de los pirroles; el quinto sustituyente es el nucleótido de 3'-dimetilbenzoimidazol monofosfato que se une a la cadena lateral de acetamida del anillo D por un grupo aminoisopropanol; y el sexto sustituyente (que en la vitamina puede ser CN, OH ó -CH<sub>3</sub>) en la coenzima es el 5'-desoxiadenosilo proveniente del ATP (Fig. 19.14).

Hasta el momento se ha podido comprobar la participación de la coenzima B<sub>12</sub> en 4 reacciones enzimáticas: malonil-CoA mutasa, glutamato mutasa, diol deshidrogenasa y la conversión de homocisteína en metionina.

Sólo se examinará la primera como ejemplo, donde se produce un reordenamiento de la molécula del sustrato originado por el cambio de posición de un H y del grupo CoASH entre carbonos adyacentes.



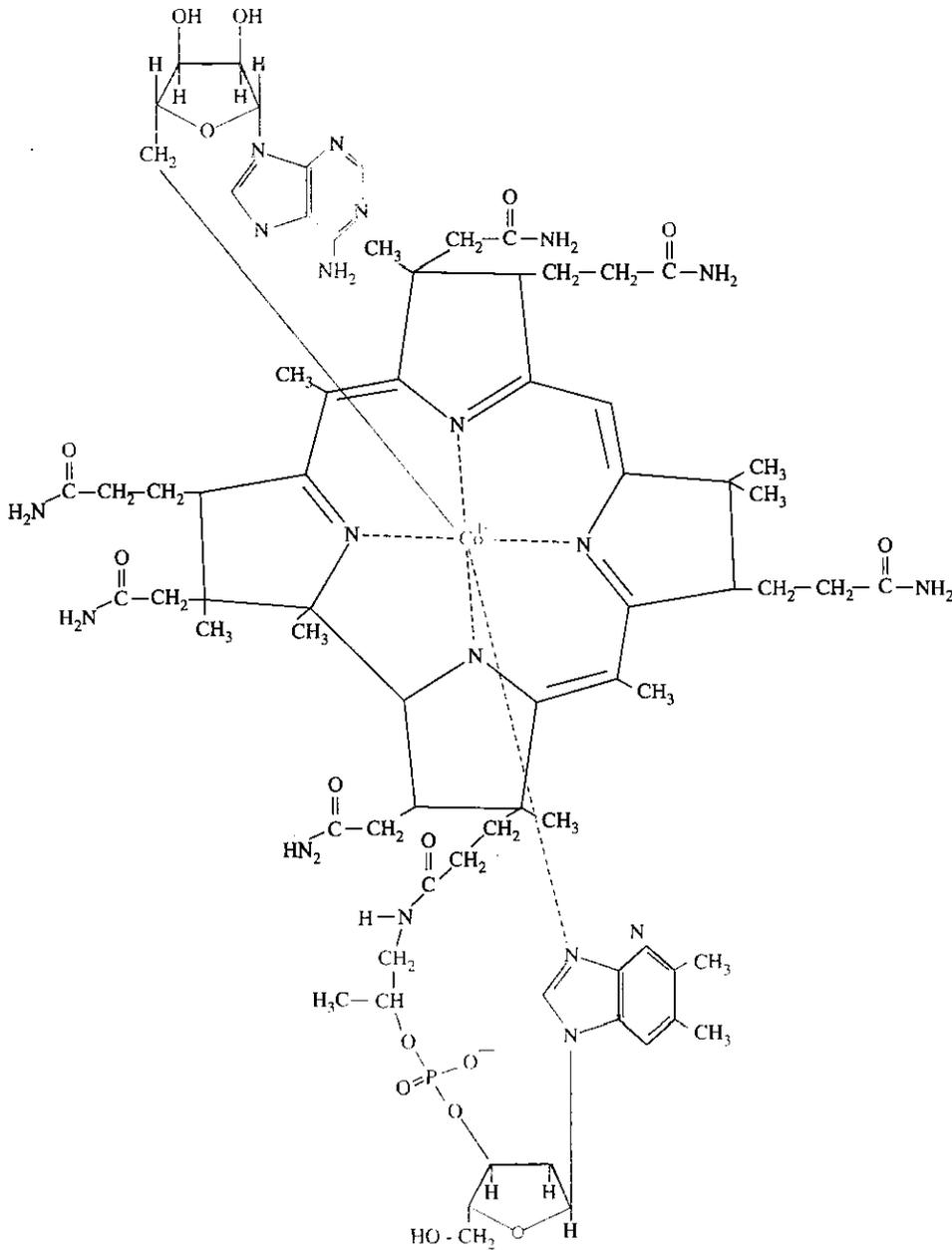


Fig. 19.14. Estructura de la coenzima B<sub>12</sub>. Sus componentes estructurales son 3: un anillo de corrina muy sustituido (en negro), un nucleótido de benzoimidazol (en azul) y un nucleósido de desoxiadenosilo (en rojo).

Esta reacción permite la oxidación del metil-malonil-CoA al transformarlo en succinil-CoA, que es un intermediario del ciclo de Krebs; se estudia detalladamente en el capítulo 38.

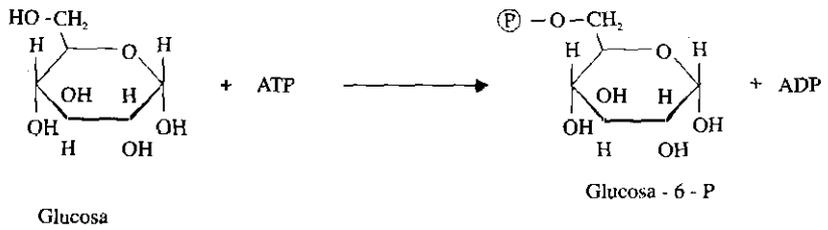
### Nucleósidos trifosfatados

La estructura de estos compuestos se estudió en el capítulo 8 como precursores de los ácidos nucleicos, de ellos sólo a los ribonucleótidos se les conocen funciones coenzimáticas.

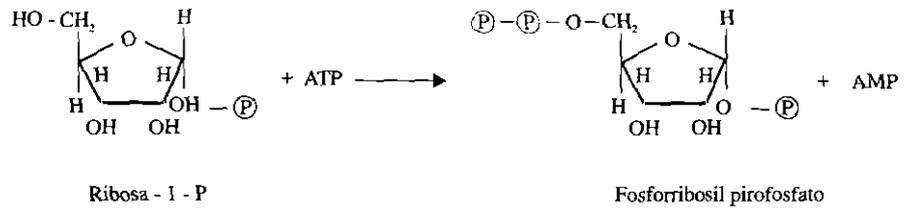
**Adenosintrifosfato (ATP).** El ATP participa en numerosas reacciones, sirve como fuente de energía, de elementos estructurales o ambas; al primer grupo pertenecen aquellas reacciones donde los productos no contienen los grupos de la coenzima como la formación de derivados acílicos de la CoASH ya estudiados.

Al segundo y tercer grupos pertenecen varios tipos de reacciones:

1. Transferencia de fosfato.



2. Transferencia de pirofosfato.



3. Transferencia de grupos adenilatos como en la reacción de la ADN ligasa de eucariontes, que se estudia en el capítulo 25.

4. Transferencia de adenosilo, como en la formación de la SAM ya estudiada.

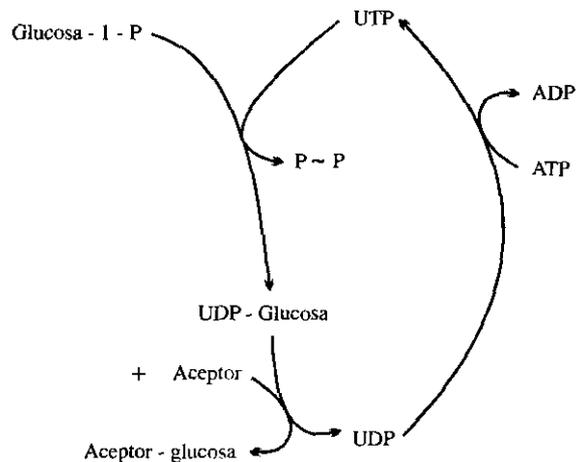
**Guanosintrifosfato (GTP).** Su función es menos generalizada que en el ATP, pues actúa casi siempre sirviendo de fuente de energía como en la reacción de la fosfoenolpirúvico carboxiquinasa.

Actúa como coenzima de transferencia de derivados de monosacáridos en la síntesis de glicoproteínas, estos derivados se forman de manera similar a los derivados del UTP que se estudian a continuación.

La función del GTP en el proceso de síntesis de proteínas se discute en el capítulo 30.

**Uridintrifosfato (UTP).** Los nucleótidos de uridina intervienen como coenzimas que transfieren monosacáridos en forma de UDP-derivados, estos derivados se forman por la reacción entre el UTP con un monosacárido fosfatado.

En una reacción posterior, el monosacárido se transfiere a un aceptor y el UDP reacciona con el ATP regenerándose el UTP.



Las reacciones en que intervienen se estudiarán en la sección dedicada al metabolismo de los glúcidos.

**Citidintrifosfato (CTP).** Actúa de forma similar al UTP, pero transfiere grupos al nivel de oxidación de alcohol; interviene fundamentalmente en la formación de fosfátidos de glicerina y esfingolípidos, su forma coenzimática se origina por reacción del CTP con un alcohol fosfatado, por ejemplo:



en una reacción posterior la colina se transfiere a un aceptor que pudiera ser un ácido fosfatídico y se libera CDP, que por acción de una quinasa en presencia de ATP regenera el CTP.

Como se puede apreciar el conjunto de compuestos que pueden actuar como cofactores enzimáticos es numeroso y de gran diversidad estructural. La relación presentada no los incluye a todos, sólo a los más importantes; algunas coenzimas que participan en reacciones muy específicas serán estudiadas cuando se analice esa reacción en particular.

## Resumen

Los cofactores enzimáticos son sustancias de diferente naturaleza química, que participan en las reacciones enzimáticas debido a que las enzimas no poseen en su estructura todos los grupos funcionales necesarios para llevar a cabo la catálisis de todas las reacciones metabólicas; los cofactores no son componentes obligados de todas las reacciones.

Los cofactores pueden ser iones inorgánicos que facilitan la unión enzima-sustrato o estabilizan la estructura tridimensional de la enzima, o constituyen por sí los centros catalíticos que ganan eficiencia y especificidad al unirse a las proteínas.

Las coenzimas son sustancias orgánicas que aun cuando pueden funcionar de formas muy variadas, lo más frecuente es que lo hagan como transportadores interenzimáticos o intraenzimáticos; muchas coenzimas son formas funcionales de las vitaminas.

Las coenzimas pueden participar en reacciones de oxidación-reducción como los piridín y flavín nucleótidos, el ácido lipoico, el glutatión y las porfirinas.

La biotina participa en las reacciones de carboxilación y transcarboxilación; el pirofosfato de tiamina participa en el metabolismo de los  $\alpha$ -ceto-ácidos en reacciones de descarboxilación oxidativa y no oxidativa, así como en la formación de  $\alpha$ -cetoles.

El tetrahidrofolato interviene en reacciones de transferencia de fragmentos de un carbono, igual que la S-adenosil-metionina.

La coenzima A participa en numerosas reacciones donde se transfieren grupos acilos, especialmente con ácidos de cadena larga a los cuales ayuda a solubilizar en el medio acuoso citoplasmático.

El fosfato de piridoxal interviene en un gran número de reacciones relacionadas con el metabolismo de los aminoácidos, entre ellas la más importante es la reacción de transaminación que relaciona el metabolismo de las proteínas con el de los glúcidos.

La forma coenzimática de la vitamina B<sub>12</sub> participa en un número reducido de reacciones, especialmente en las catalizadas por mutasas.

Por último, pueden señalarse funciones coenzimáticas a los nucleósidos trifosfatados, el más sobresaliente de todos es el ATP.

## Ejercicios

1. ¿Cómo podría determinarse experimentalmente si en una reacción de deshidrogenación interviene el  $\text{NAD}^+$  o el  $\text{FAD}$ , sin necesidad de realizar estudios sobre la estructura del sustrato y el producto?
2. Haga un estudio comparativo tanto estructural como funcional de las coenzimas que presentan grupos  $-\text{SH}$  en su estructura.
3. ¿En qué se asemejan la biotina, el ácido lipoico y la 4-fosfo-panteteína?
4. ¿Por qué puede afirmarse que las coenzimas funcionan de acuerdo con el principio de multiplicidad de utilización?
5. ¿Por qué el estudio de los cofactores pone en evidencia que la especificidad de sustrato y de acción pertenece a la proteína enzimática?
6. Relacione los 6 grupos principales de la clasificación de las enzimas con los cofactores estudiados en este capítulo.
7. ¿Cuáles son las principales diferencias entre las coenzimas que intervienen en reacciones de transferencia de fragmentos de un carbono?
8. Haga un esquema que refleje el funcionamiento de una coenzima que actúa como un transportador interenzimático.

## Resumen de la sección

Los biocatalizadores constituyen un grupo importante de componentes de los sistemas vivos que permiten el constante y necesario intercambio de sustancia, energía e información entre el ser vivo y el medio natural fuera de él. Los biocatalizadores en general están constituidos por 2 tipos de sustancias, las enzimas que son proteínas especializadas en la catálisis y los cofactores que pueden ser de distinta naturaleza química y que contribuyen al desarrollo de algunas reacciones enzimáticas.

La nota esencial en la estructura y función de las enzimas es el centro activo, una formación flexible donde se organizan de manera armónica grupos químicos de las cadenas laterales de los aminoácidos, en una distribución espacial determinada que permiten crear las condiciones idóneas para la catálisis enzimática; su ubicación en la superficie proteínica lo hace accesible al sustrato y le permite liberar fácilmente el producto.

Los efectos de aproximación, inmovilización y orientación sobre los grupos reaccionantes del sustrato, que se logran gracias al ajuste perfecto entre éste y la enzima, favorecen el desarrollo de las reacciones a velocidades extremadamente grandes; a su vez, la sensible estructura del centro activo lo hace «blanco» del efecto de numerosos factores que pueden modificarlo, unas veces lo hacen más eficiente, otras disminuyendo o aboliendo su eficacia.

Muchos de esos factores son componentes habituales de la célula y contribuyen en mayor o menor medida a regular la actividad de las enzimas. Es precisamente a la estructura y las propiedades del centro activo que las enzimas deben sus propiedades distintivas como la eficiencia catalítica, la especificidad de acción y la especificidad de sustrato.

Las enzimas manifiestan su actividad en el incremento notable de la velocidad de las reacciones y el estudio de éstas ha proporcionado una inestimable información acerca de los mecanismos de acción de las enzimas. Las variaciones que se observan en la velocidad de reacción al modificar los factores que en ella intervienen han brindado la posibilidad del diseño de fármacos, venenos, tóxicos, etcétera, que pueden ser usados con diferentes fines según quién o quiénes lo empleen. Los profesionales de las ciencias para la salud deben estar muy bien informados sobre estos tópicos.

La característica más sobresaliente de los seres vivos es su permanente intercambio con el medio exterior, pero las condiciones ambientales como la temperatura, la humedad relativa, la disponibilidad de nutrientes, etcétera, cambian constantemente, haciendo necesario que el organismo viviente tenga que adaptarse a esos cambios con riesgo de perecer. Esos cambios tienen su fundamento último en las variaciones que tienen lugar en la intensidad y dirección de las vías metabólicas, cuyas reacciones están catalizadas por enzimas.

La posibilidad de las enzimas de variar la intensidad de su función como respuesta a estímulos específicos permite esas adaptaciones. La regulación de las enzimas y con

ella la del metabolismo constituye un aspecto importante de la existencia de los seres vivos y sus alteraciones pueden conducir a la aparición de estados morbosos.

En los organismos pluricelulares existe el fenómeno de la especialización celular y en parte éste se debe a la diferente dotación enzimática en cada uno de los órganos y tejidos. Asimismo hay una distribución diferenciada de las enzimas en los compartimentos intracelulares; esta situación crea un flujo de sustancias dentro del organismo que garantiza el funcionamiento armónico de los millones de células que lo integran.

La eficiencia de las enzimas es asombrosa, pero puede serlo aún más debido a las formas en que se organizan. Desde las enzimas sencillas hasta los grandes agregados supraenzimáticos contribuyen a incrementar notablemente todas las propiedades catalíticas de las enzimas, estas agrupaciones proporcionan una base física a las vías metabólicas y hacen que ellas no dependan del encuentro casual entre el sustrato y la enzima. A pesar de la gran diversidad de grupos químicos reactivos presentes en las cadenas laterales de los aminoácidos, éstos son insuficientes para funcionar como catalizadores en todos los tipos de reacciones en que participan las enzimas; por ello ha sido necesario la cooperación con sustancias de bajo peso molecular llamados cofactores, que aportan los grupos de los cuales carecen las enzimas.

Estos cofactores presentan una gran diversidad estructural y funcional de forma tal que pueden actuar con un buen número de enzimas con diferentes especificidades. El hecho de que en la composición de estos cofactores participan vitaminas y minerales vincula a los biocatalizadores con los aspectos más importantes de la nutrición. Una nutrición deficiente puede producir alteraciones en el funcionamiento de las enzimas y, por tanto, en el metabolismo celular que crean un grave peligro para la salud del individuo y se manifiestan por síntomas y signos que reflejan su carencia.

Por todas estas razones los biocatalizadores, y especialmente las enzimas, constituyen uno de los núcleos fundamentales en el conocimiento de los fenómenos vitales al nivel molecular.

Pero aún todo ello es sólo una de las caras del problema, la aplicación práctica de la enzimología es de gran utilidad en campos tan diversos como la industria, la agricultura y las ciencias médicas, en estas últimas las enzimas pueden ser utilizadas para el diagnóstico de numerosas enfermedades y en el tratamiento de algunas; aunque aún el campo de esta aplicación está limitado.

Mucho queda por conocer sobre las enzimas y su funcionamiento, pero el conocimiento actual nos permite tener cierta precisión de su importante función en el surgimiento y mantenimiento de la vida.