

Inhibición enzimática

Definición: cualquier descenso en la actividad de un enzima

Importancia.

La inhibición es un mecanismo de control en los sistemas biológicos. Por ejem. el alosterismo.

Farmacología. Muchos fármacos son inhibidores.

Agentes tóxicos. Algunos son inhibidores.

Investigación. El uso de inhibidores puede proporcionar ideas acerca de los mecanismos catalíticos y grupos implicados.

Clasificación: Irreversible y reversible

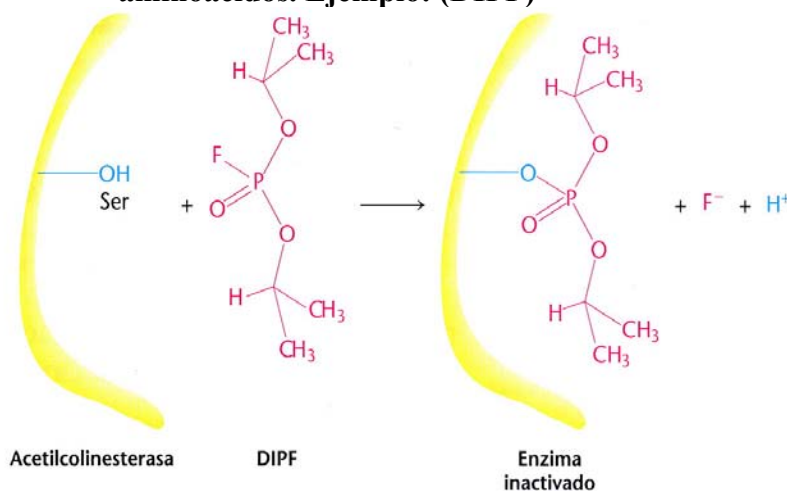
Inhibición irreversible. Es cuando el inhibidor se une fuertemente al enzima, en ocasiones de forma covalente, que hace que su disociación sea extremadamente lenta. Ejemplos.

a) la penicilina modifica covalentemente al enzima transpeptidasa impidiendo la síntesis de la pared bacteriana.

b) La aspirina actúa modificando covalentemente al enzima ciclooxygenasa reduciendo así la síntesis de señales inflamatorias.

c) Se puede utilizar para trazar el mapa del centro activo, como técnica de apoyo a la cristalografía de rayos X. Se clasifican en tres grupos.

1) **Reactivos específicos de grupo.** Son los que reaccionan con grupos R específicos de aminoácidos. Ejemplo: (DIPF)



Inhibición enzimática por diisopropilfosfo- fluoridato (DIPF) un reactivo específico de grupo. El (DIPF) inhibe al enzima mediante la modificación covalente de un residuo de serina decisivo

2) **Los marcadores de afinidad.** Son moléculas estructuralmente similares al sustrato del enzima que modifican covalentemente los residuos del centro activo. Son más específicos para el centro activo del enzima que los del grupo anterior. Ejemplo: (TPCK) es un análogo del sustrato para la quimotripsina.

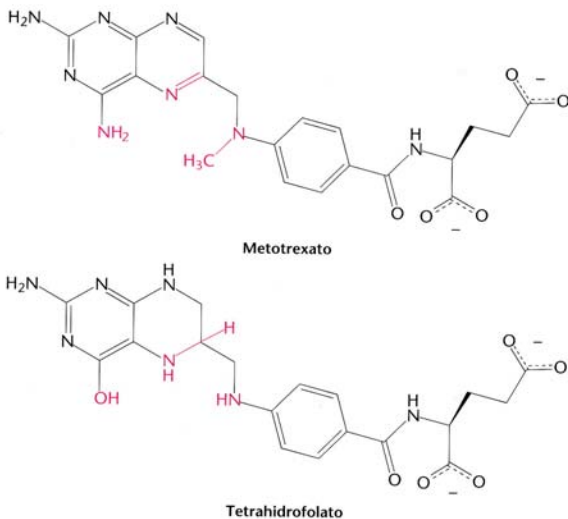
Inhibición reversible. En contraste con la inhibición irreversible se caracteriza por la rápida disociación del complejo enzima inhibidor.

Tipos:

- a) competitiva
- b) acompetitiva
- c) mixta
- d) no competitiva

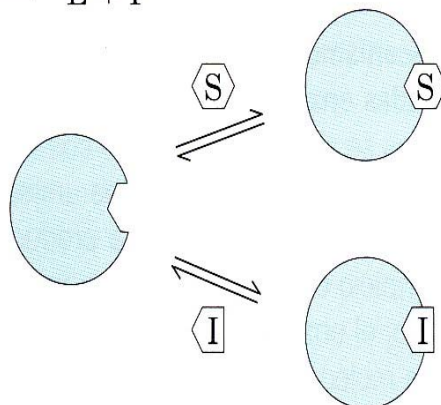
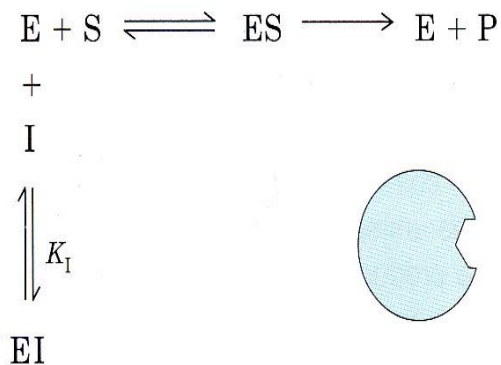
Inhibición competitiva

En la inhibición competitiva, el enzima puede unirse al sustrato, formando un complejo ES o al inhibidor formando un complejo EI pero no a ambos ESI. Muchos inhibidores competitivos se parecen al sustrato y se unen al centro activo del enzima. De este modo, se impide la unión del sustrato al mismo centro activo. Un inhibidor competitivo disminuye la velocidad de catálisis reduciendo la proporción de moléculas de enzima que quedan ligadas al sustrato. La inhibición competitiva, a una concentración dada de inhibidor, puede contrarrestarse si se aumenta la concentración de sustrato. Ejemplo. El metotrexato (se utiliza en el tratamiento del cáncer) es un análogo estructural del tetrahidrofolato, un coenzima del enzima dihididrofolato reductasa, que desempeña un papel importante en la biosíntesis de purinas y pirimidinas.



Estructura del cofactor tetrahidrofolato y de su análogo estructural metotrexato. Las diferencias estructurales se muestran en rojo.

Constantes de disociación



$$k_i = \frac{[E][I]}{[EI]}$$

$$k_s = \frac{[E][S]}{[ES]}$$

Inhibición competitiva



$$+ \quad I \quad \updownarrow \quad k_i \quad EI$$

$$k_i = \frac{[E][I]}{[EI]} \quad k_s = \frac{[E][S]}{[ES]}$$

$$v = k_p [ES]; \quad \frac{v}{[E]_t} = \frac{k_p [ES]}{[E] + [ES] + [EI]}$$

$$[ES] = \frac{[S]}{k_s} [E] \quad y \quad [EI] = \frac{[I]}{k_i} [E]$$

$$\frac{v}{k_p [E]_t} = \frac{\frac{[S]}{k_s} [E]}{[E] + \frac{[S]}{k_s} [E] + \frac{[I]}{k_i} [E]}; \text{ eliminando } [E] \quad \frac{v}{V_{\max}} = \frac{\frac{[S]}{k_s}}{1 + \frac{[S]}{k_s} + \frac{[I]}{k_i}}$$

Multiplicar numerador y denominador por k_s y a continuación simplificar

$$v = \frac{V_{\max} [S]}{k_s (1 + \frac{[I]}{k_i}) + [S]}; \text{ cambiar } k_s \text{ por } k_m \quad \frac{1}{v} = \frac{k_m}{V_{\max}} (1 + \frac{[I]}{k_i}) \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

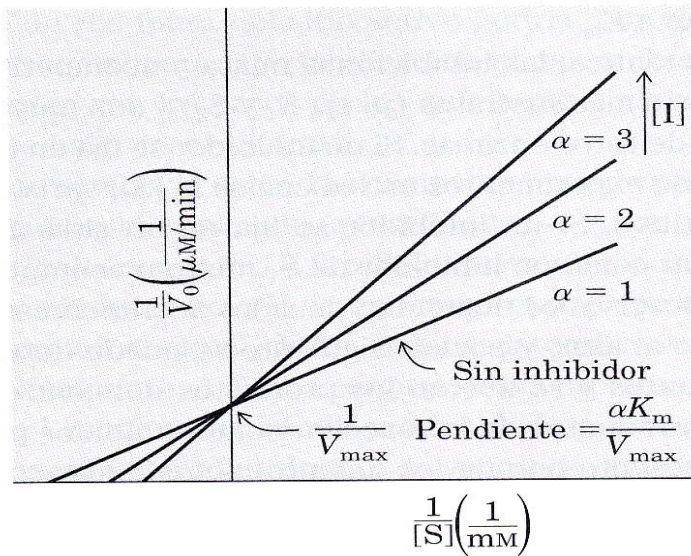
Doble inversa

$$\text{Pendiente} = \frac{k_m}{V_{\max}} (1 + \frac{[I]}{[k_i]}) \quad o \quad = \frac{k_m}{V_{\max} k_i} [I] + \frac{k_m}{V_{\max}}$$

$$\text{Cuando } X = 0 \quad \rightarrow \quad 1 / v = 1 / V_{\max}$$

$$\text{Y cuando } Y = 0 \quad \rightarrow \quad 1 / [S] = -1 / K_{\text{map}}; \text{ donde } k_{\text{map}} = k_m [1 + ([I] / k_i)]$$

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



Cuando $X = 0 \rightarrow 1/v = 1/V_{\max}$

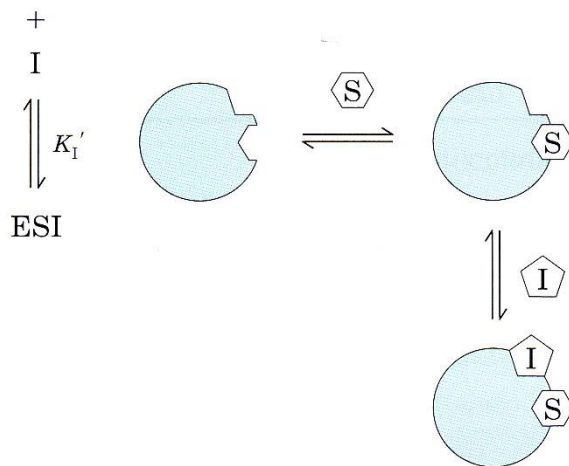
Cuando $Y = 0 \rightarrow 1/[S] = -1/K_{\text{map}}$

donde: $k_{\text{map}} = k_m \left(1 + \frac{[I]}{k_i} \right)$

Representación de dobles recíprocos o de Lineweaver-Burk para una inhibición competitiva

Inhibición acompetitiva

Un inhibidor acompetitivo clásico es un compuesto que se une reversiblemente al complejo enzima-sustrato, dando un complejo inactivo ESI. El inhibidor no se une al enzima libre.



Constantes de disociación

$$k_s = \frac{[E][S]}{[ES]}$$

$$k_i = \frac{[I][ES]}{[ESI]}$$

El equilibrio muestra que para cualquier concentración de I , una concentración de sustrato infinitamente alta no hará que todo el enzima pase a la forma ES ; siempre estará presente algo de complejo no productivo ESI . Por lo tanto, debemos predecir que V_{\max} en presencia de un inhibidor acompetitivo ($V_{\max i}$) será menor que V_{\max} en ausencia de inhibidor. Sin embargo, a diferencia de la inhibición no competitiva, la K_m aparente disminuye. La disminución se debe a la reacción $ES + I \leftrightarrow ESI$ que utiliza algo de ES obligando a que la reacción de unión del sustrato $E + S \leftrightarrow ES$ se desplace hacia la derecha.

Inhibición acompetitiva



+

I

↕

ESI

$$k_s = \frac{[E][S]}{[ES]}$$

$$k_i = \frac{[I][ES]}{[ESI]}$$

$$[ES] = \frac{[S]}{k_s} [E] \quad \text{y} \quad [ESI] = \frac{[I]}{k_i} [ES] = \frac{[S][I]}{k_s k_i} [E]$$

$$v = k_p [ES]; \quad \frac{v}{[E]_t} = \frac{k_p [ES]}{[E] + [ES] + [ESI]}$$

$$\frac{v}{k_p [E]_t} = \frac{\frac{[S]}{k_s} [E]}{[E] + \frac{[S]}{k_s} [E] + \frac{[S][I]}{k_s k_i} [E]}; \quad \text{elim. [E]} \quad \frac{v}{V_{\max}} = \frac{\frac{[S]}{k_s}}{1 + \frac{[S]}{k_s} + \frac{[S][I]}{k_s k_i}}$$

Multiplicar numerador y denominador por k_s y a continuación simplificar

$$v = \frac{V_{\max} [S]}{k_s + [S] (1 + \frac{[I]}{k_i})}; \quad \text{cambiar } k_s \text{ por } k_m \quad \frac{1}{v} = \frac{k_m}{V_{\max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}} (1 + \frac{[I]}{k_i})$$

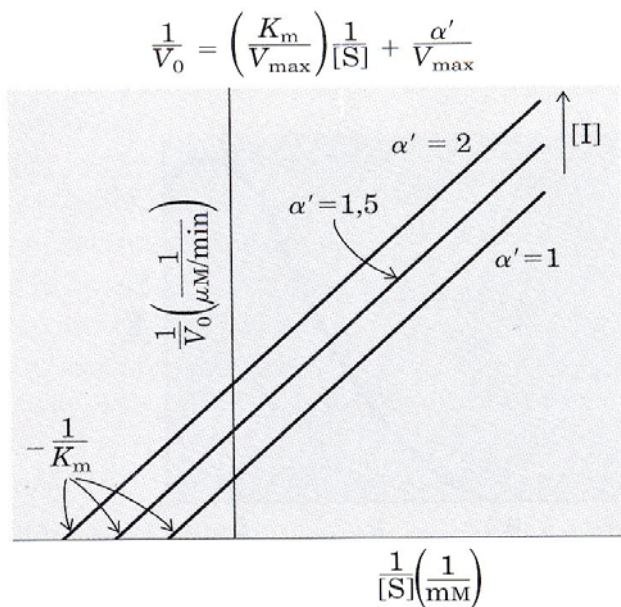
Pendiente = k_m / V_{\max}

$$\text{Cuando } X = 0 \rightarrow \frac{1}{V} = \frac{1}{V_{\max}} (1 + \frac{[I]}{k_i}) = \frac{1}{V_{\max ap}}$$

$$\text{Y cuando } Y = 0 \rightarrow \frac{1}{[S]} = \frac{1}{K_m} (1 + \frac{[I]}{k_i}) = \frac{1}{K_{map}}$$

Dividiendo ambos lados de la ecuación de velocidad por el factor que está entre paréntesis.

$$\frac{v}{V_{\max}} = \frac{[S]}{k_m + [S]} \quad \frac{\frac{[I]}{(1 + \frac{[I]}{k_i})}}{k_i} = \frac{\frac{[I]}{(1 + \frac{[I]}{k_i})}}{k_i}$$



Representación de dobles recíprocos o de Lineweaver-Burk para una inhibición acompetitiva

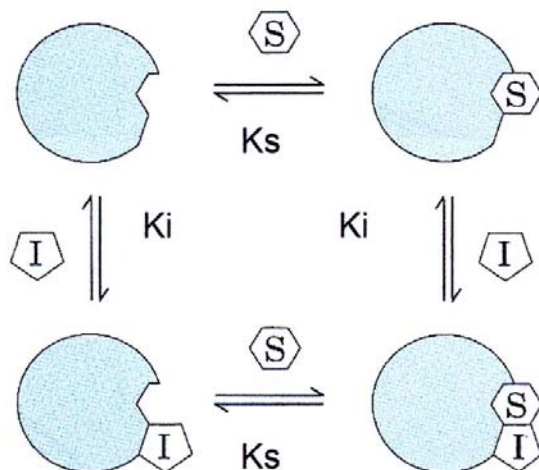
Cuando $X = 0 \rightarrow \frac{1}{V} = \frac{(1 + \frac{[I]}{K_i})}{V_{\max}} = \frac{1}{V_{\max ap}}$

Cuando $Y = 0 \rightarrow \frac{1}{[S]} = - \frac{(1 + \frac{[I]}{K_i})}{K_m} = - \frac{1}{K_{map}}$

Inhibición no competitiva

Un inhibidor no competitivo clásico no tiene ningún efecto sobre la unión al sustrato y viceversa. S e I se unen reversiblemente, al azar e independientemente en diferentes sitios. Es decir, I se une a E y a ES; S se une a E y a EI. Sin embargo, el complejo resultante ESI es catalíticamente inactivo. I podría impedir la conformación adecuada del centro catalítico.

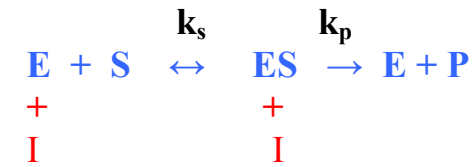
Constantes de disociación



$$k_i = \frac{[E][I]}{[EI]} = \frac{[ES][I]}{[ESI]}$$

$$k_s = \frac{[E][S]}{[ES]} = \frac{[EI][S]}{[ESI]}$$

Inhibición no competitiva



$$k_i = \frac{[\text{E}] [\text{I}]}{[\text{EI}]} = \frac{[\text{ES}] [\text{I}]}{[\text{ESI}]}$$



$$k_s = \frac{[\text{E}] [\text{S}]}{[\text{ES}]} = \frac{[\text{EI}] [\text{S}]}{[\text{ESI}]}$$

$$v = k_p [\text{ES}]; \quad \frac{v}{[\text{E}]_t} = \frac{k_p [\text{ES}]}{[\text{E}] + [\text{ES}] + [\text{EI}] + [\text{ESI}]}$$

$$[\text{ES}] = \frac{[\text{S}]}{k_s} [\text{E}] \quad \text{y} \quad [\text{EI}] = \frac{[\text{I}]}{k_i} [\text{E}]$$

$$[\text{ESI}] = \frac{[\text{S}]}{k_s} [\text{EI}] = \frac{[\text{S}] [\text{I}]}{k_s k_i} [\text{E}]$$

$$\frac{v}{k_p [\text{E}]_t} = \frac{\frac{[\text{S}]}{k_s} [\text{E}]}{[\text{E}] + \frac{[\text{S}]}{k_s} [\text{E}] + \frac{[\text{I}]}{k_i} [\text{E}] + \frac{[\text{S}] [\text{I}]}{k_s k_i} [\text{E}]}; \text{ elim. } [\text{E}] \quad \frac{v}{V_{\max}} = \frac{\frac{[\text{S}]}{k_s}}{1 + \frac{[\text{S}]}{k_s} + \frac{[\text{I}]}{k_i} + \frac{[\text{S}] [\text{I}]}{k_s k_i}}$$

Multiplicar numerador y denominador por k_s y a continuación simplificar

$$v = \frac{V_{\max} [\text{S}]}{k_s (1 + \frac{[\text{I}]}{k_i}) + [\text{S}] (1 + \frac{[\text{I}]}{k_i})}; \text{ cambiar } k_s \text{ por } k_m \quad \frac{1}{v} = \frac{k_m}{V_{\max}} (1 + \frac{[\text{I}]}{k_i}) \frac{1}{[\text{S}]} + \frac{1}{V_{\max}} (1 + \frac{[\text{I}]}{k_i})$$

Doble inversa

$$\text{Pendiente} = \frac{k_m}{V_{\max}} (1 + \frac{[\text{I}]}{k_i}) \quad \text{o} \quad = \frac{k_m}{V_{\max} k_i} [\text{I}] + \frac{k_m}{V_{\max}}$$

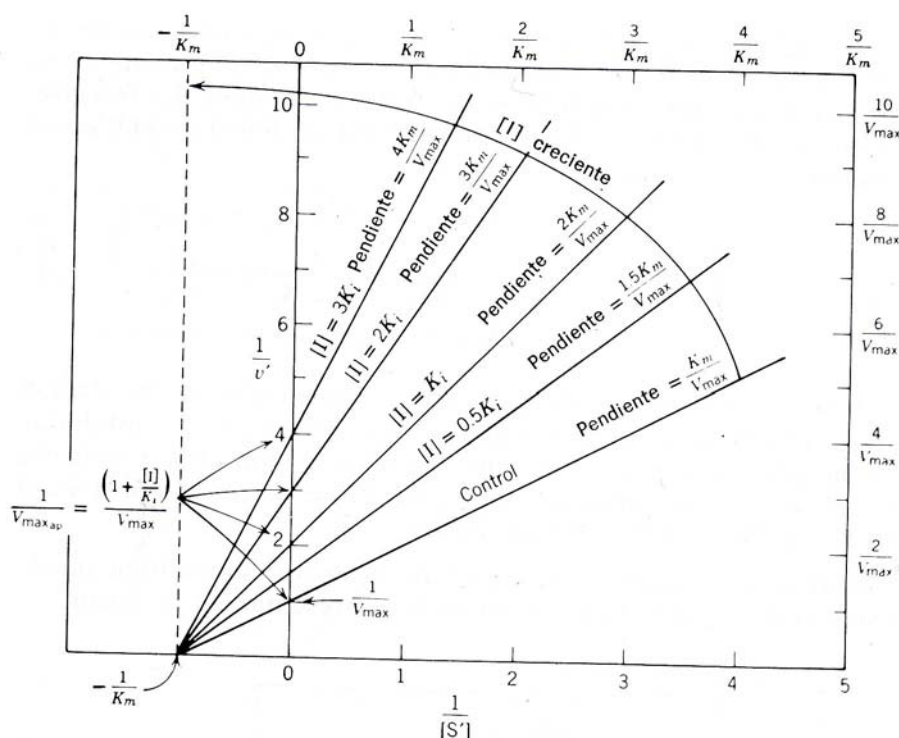
$$\text{Cuando } X = 0 \quad \rightarrow \quad \frac{1}{V} = \frac{1}{V_{\max}} (1 + \frac{[\text{I}]}{k_i}) = \frac{1}{V_{\max}}$$

$$\text{Y cuando } Y = 0 \quad \rightarrow \quad \frac{1}{[\text{S}]} = \frac{1}{K_m}$$

Dividiendo ambos lados de la ecuación de velocidad por el factor que está entre paréntesis.

$$\frac{v}{V_{\max}} = \frac{[\text{S}]}{k_s + [\text{S}]} \quad \frac{[\text{I}]}{(1 + \frac{[\text{I}]}{k_i})}$$

A partir de los equilibrios vemos que para cualquier concentración de inhibidor, una concentración de sustrato infinitamente alta no puede hacer que todo el enzima pase a la forma productiva ES. Para cualquier [I] una porción del enzima permanecerá en la forma de complejo no productivo ESI. Por tanto, podemos predecir que la V_{max} en presencia de un inhibidor no competitivo ($V_{max,i}$) será inferior a la V_{max} observada en ausencia del inhibidor. El valor de K_m no cambiará debido a un inhibidor no competitivo porque, para cualquier concentración de inhibidor, las formas enzimáticas que pueden combinarse con S (E y EI) tienen la misma afinidad por S. El efecto neto de un inhibidor no competitivo es hacer que parezca que hay menos cantidad total de enzima.



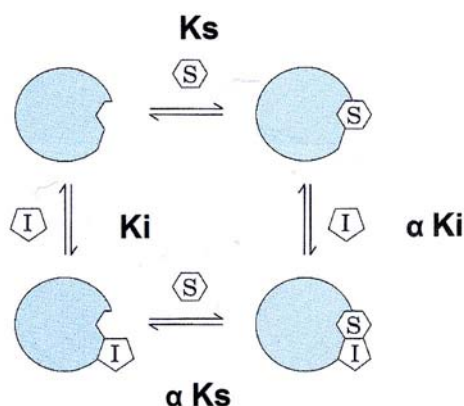
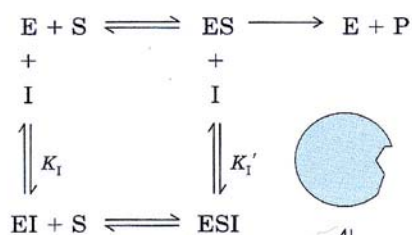
Representación de dobles recíprocos o de Lineweaver-Burk para una inhibición no competitiva

$$\text{Cuando } X = 0 \rightarrow \frac{1}{V} = \frac{1}{V_{max}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) = \frac{1}{V_{maxap}}$$

$$\text{cuando } Y = 0 \rightarrow \frac{1}{[S]} = - \frac{1}{K_m}$$

Inhibición mixta

Los equilibrios que se muestran representan el esquema más sencillo para la inhibición tipo mixto.



Constantes de disociación

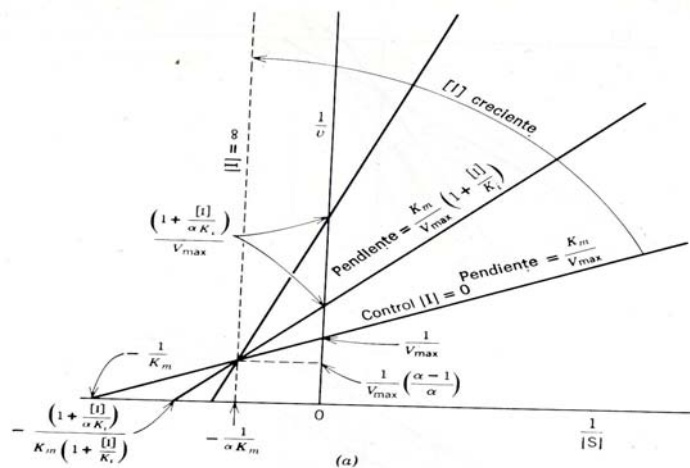
$$K_s = \frac{[E][S]}{[ES]}$$

$$\alpha K_s = \frac{[EI][S]}{[ESI]}$$

$$K_i = \frac{[E][I]}{[EI]}$$

$$\alpha K_i = \frac{[ES][I]}{[ESI]}$$

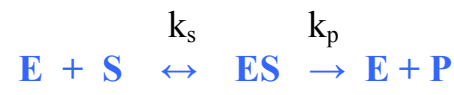
La presencia de I en el enzima cambia la constante de disociación de S de K_s a αK_s . Nótese que la constante de disociación de I a partir de ESI debe modificarse también en el factor α para las cuatro especies enzimáticas que existen en equilibrio, es decir, la K_{eq} total de la reacción entre E y ESI debe ser la misma independientemente del cambio seguido. Así, el paso $E \rightarrow ES \rightarrow ESI$ tiene una K_{eq} total de $1 / K_s \alpha K_i$ y el proceso $E \rightarrow EI \rightarrow ESI$ tiene una K_{eq} de $1 / K_i \alpha K_s$. ESI es catalíticamente inactivo.



Cuando $X = 0 \rightarrow 1/v = \frac{1 + \frac{[I]}{\alpha K_i}}{V_{max}}$

Cuando $Y = 0 \rightarrow 1/[S] = -\frac{1}{K_m(1 + \frac{[I]}{K_i})}$

Inhibición lineal tipo mixto



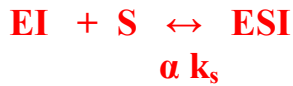
+

+

$\updownarrow k_i$

$\updownarrow \alpha k_i$

$$k_s = \frac{[\text{E}][\text{S}]}{[\text{ES}]} \quad \alpha k_s = \frac{[\text{EI}][\text{S}]}{[\text{ESI}]}$$



$$k_i = \frac{[\text{E}][\text{I}]}{[\text{EI}]} \quad \alpha k_i = \frac{[\text{ES}][\text{I}]}{[\text{ESI}]}$$

$$v = k_p [\text{ES}]; \quad \frac{v}{[\text{E}]_t} = \frac{k_p [\text{ES}]}{[\text{E}] + [\text{ES}] + [\text{EI}] + [\text{ESI}]}$$

$$[\text{ES}] = \frac{[\text{S}]}{k_s} [\text{E}] \quad \text{y} \quad [\text{EI}] = \frac{[\text{I}]}{k_i} [\text{E}]$$

$$[\text{ESI}] = \frac{[\text{S}]}{\alpha k_s} [\text{EI}] = \frac{[\text{S}][\text{I}]}{\alpha k_s k_i} [\text{E}]$$

$$\frac{v}{k_p [\text{E}]_t} = \frac{\frac{[\text{S}]}{k_s} [\text{E}]}{[\text{E}] + \frac{[\text{S}]}{k_s} [\text{E}] + \frac{[\text{I}]}{k_i} [\text{E}] + \frac{[\text{S}][\text{I}]}{\alpha k_s k_i} [\text{E}]}; \text{ elim. } [\text{E}] \quad \frac{v}{V_{\max}} = \frac{\frac{[\text{S}]}{k_s}}{1 + \frac{[\text{S}]}{k_s} + \frac{[\text{I}]}{k_i} + \frac{[\text{S}][\text{I}]}{\alpha k_s k_i}};$$

Multiplicar numerador y denominador por k_s y a continuación simplificar

$$v = \frac{V_{\max} [\text{S}]}{k_s \left(1 + \frac{[\text{I}]}{k_i}\right) + [\text{S}] \left(1 + \frac{[\text{I}]}{\alpha k_i}\right)}; \text{ cambiar } k_s \text{ por } k_m \quad \frac{1}{v} = \frac{k_m}{V_{\max}} \left(1 + \frac{[\text{I}]}{k_i}\right) + \frac{1}{V_{\max}} \left(1 + \frac{[\text{I}]}{\alpha k_i}\right) \frac{[\text{S}]}{[\text{S}]}$$

Doble inversa

$$\text{Pendiente} = \frac{k_m}{V_{\max}} \left(1 + \frac{[\text{I}]}{k_i}\right) \quad \text{o} \quad = \frac{k_m}{V_{\max} k_i} [\text{I}] + \frac{k_m}{V_{\max}}$$

$$\text{Cuando } X = 0 \rightarrow 1/v = 1/V_{\max} \left(1 + \frac{[\text{I}]}{\alpha k_i}\right)$$

$$\text{Y cuando } Y = 0 \rightarrow 1/[S] = \frac{1}{K_m} \left(1 + \frac{[\text{I}]}{k_i}\right)$$