

TEMA 24. *Aminoácidos y proteínas. Biosíntesis proteica. Enzimas y coenzimas. Las vitaminas.***Autora: Rosa Mejías García****Esquema:**

- 1.- Introducción
- 2.- Aminoácidos y proteínas
 - 2.1.- Composición y estructura
 - 2.2.- Funciones biológicas de las proteínas
 - 2.3.- Clasificación de las proteínas
- 3.- Biosíntesis proteica
 - 3.1.- El código genético
 - 3.2.- Biosíntesis de las proteínas
- 4.- Enzimas y coenzimas
 - 4.1.- Enzimas
 - 4.2.- Coenzimas
 - 4.3.- Mecanismo de acción de las enzimas
 - 4.4.- Cinética enzimática
- 5.- Las vitaminas
 - 5.1.- Vitaminas hidrosolubles
 - 5.2.- Vitaminas liposolubles

1.- INTRODUCCIÓN

Las proteínas (del griego *proteios*, primario) son las macromoléculas orgánicas más abundantes de las células constituyendo el 50% o más de su peso seco. Están formadas por átomos de C, H, O, N y en ocasiones S, organizados en subunidades sencillas llamadas aminoácidos. Todas las proteínas están construidas a partir de 20 aminoácidos unidos de forma covalente en secuencias lineales características cuya colinearidad equivale a la secuencia de nucleótidos del gen que las codifica. El proceso biológico por el que se traduce la secuencia de nucleótidos del ARN mensajero en una secuencia de aminoácidos en la proteína, se denomina biosíntesis proteica y requiere la intervención de variedad de componentes celulares. Las proteínas muestran una gran diversidad en cuanto a su función biológica y, a diferencia de glúcidos y lípidos, son moléculas específicas. Su papel central en las células lo refleja el hecho de que la información genética se expresa en último término en forma de proteínas. Un tipo altamente especializado de proteínas son las enzimas, imprescindibles para la vida por su papel como catalizadores de las reacciones biológicas.

Otras moléculas orgánicas de composición variada con función biocatalizadora son las vitaminas, que participan en cantidades muy pequeñas en las funciones celulares.

2.- AMINOÁCIDOS Y PROTEÍNAS

2.1.- Composición y estructura

Además de C, H, O, N y S, algunas proteínas contienen átomos adicionales particularmente P, Fe, Zn y Cu. Por hidrólisis ácida las moléculas proteicas dan una serie de compuestos orgánicos sencillos de bajo peso molecular, los aminoácidos, que difieren entre sí en la estructura de sus cadenas laterales.

AMINOÁCIDOS

- **Definición.** Los aminoácidos son las subunidades monoméricas de las proteínas. Son ácidos orgánicos que poseen la misma estructura básica: un átomo central de carbono (carbono α) al que están unidos un grupo carboxilo libre (COOH), un grupo amino libre (NH₂), un átomo de hidrógeno y un cuarto grupo denominado cadena lateral o grupo R. Los grupos R son los que determinan las propiedades de los aminoácidos tales como carga eléctrica, estructura y tamaño.
- **Clasificación.** Según la polaridad de la cadena R, existen cuatro clases principales:
 1. **Aminoácidos con grupos R no polares o hidrofóbicos.** Poseen grupos de naturaleza hidrocarbonada y por tanto hidrofóbicos. Incluye seis aminoácidos con grupos R que son hidrocarburos alifáticos: *glicina*, *alanina*, *valina*, *leucina*, *isoleucina* y *prolina*; dos aminoácidos con anillos aromáticos: *fenilalanina* y *triptófano* y uno que contiene S la *metionina*.
 2. **Aminoácidos con grupos R polares sin carga (neutros).** Son relativamente más solubles en agua que los anteriores porque sus grupos laterales contienen grupos funcionales neutros que forman enlaces de hidrógeno con el agua. La polaridad de la *serina* la *treonina* y la *tirosina* se debe a sus grupos hidroxilo; la de la *asparagina* y la *glutamina* a sus grupos amídicos y la de la *cisteína* a la presencia del grupo sulfhidrilo (-SH).
 3. **Aminoácidos con grupos R polares con carga positiva (básicos).** Incluye aminoácidos con seis átomos de carbono y grupos R que presentan carga positiva neta a pH 7. Son la *lisina*, *arginina* e *histidina*. La histidina es el único aminoácido cuyo grupo R posee un pK próximo a 7 (es capaz de intercambiar un protón a pH=7).

4. *Aminoácidos con grupos R polares con carga negativa (ácidos)*. Los aminoácidos de este grupo, *aspartato* y *glutamato*, poseen un segundo grupo carboxilo que se halla completamente ionizado y por tanto cargado negativamente a pH 7.

En bioquímica humana se diferencian 10 aminoácidos esenciales y 10 no esenciales. Los *aminoácidos esenciales* no pueden ser sintetizados por el organismo, bien en su totalidad o en cantidad suficiente para cubrir sus necesidades, por lo que deben ser aportados por las proteínas de la dieta (Phe, Val, Thr, Trp, Ile, Met, His, Arg, Leu, Lys). Los *aminoácidos no esenciales* se sintetizan en el organismo por lo que no son necesarios en la dieta.

- *Propiedades de los aminoácidos*. Los aminoácidos son compuestos sólidos, cristalinos, de elevado punto de fusión, solubles en agua, con actividad óptica y con comportamiento químico anfótero.

- *Propiedades estereoquímicas de los aminoácidos*. Con la única excepción de la glicina, todos los aminoácidos obtenidos a partir de la hidrólisis de las proteínas muestran actividad óptica, es decir, pueden hacer girar el plano de la luz polarizada cuando se examinan en un polarímetro. La actividad óptica se presenta en todos los compuestos capaces de existir en dos formas cuyas estructuras son como imágenes especulares, no superponibles, denominadas *imágenes quirales* (del griego mano). El fenómeno de *estereoisomería* o *quiralidad* aparece en todos los compuestos que poseen un átomo de carbono asimétrico, es decir, uno que posea cuatro sustituyentes distintos. Por la naturaleza tetraédrica de los orbitales sp^3 del átomo de carbono, los cuatro grupos sustituyentes pueden ocupar dos ordenamientos diferentes en el espacio para dar dos *estereoisómeros* o *enantiómeros* diferentes.

Los estereoisómeros se clasifican según la configuración de los cuatro sustituyentes del átomo de carbono asimétrico. Para ello se escoge el gliceraldehído como compuesto de referencia, que es el carbohidrato más pequeño con un carbono asimétrico. El gliceraldehído presenta dos isómeros que se designan convencionalmente por L y D. Todos los estereoisómeros relacionados estereoquímicamente con el D-gliceraldehído se designan D- y los que se hallan relacionados con el L-gliceraldehído se designan L- independientemente de la dirección de rotación del plano de la luz polarizada que muestren, por lo que los símbolos D y L se refieren a la configuración absoluta y no a la dirección de la rotación.

Si un aminoácido desvía el plano de luz polarizada hacia la derecha se denomina *destrógiro* y si lo hace hacia la izquierda *levógiro*, de forma que un L-aminoácido podrá ser dextrógiro o levógiro e igual ocurrirá con la configuración D. Los estereoisómeros de un compuesto determinado poseen propiedades físicas idénticas e igual reactividad química. Sin embargo, hay dos excepciones: ambos hacen girar el plano de polarización de la luz, pero en direcciones opuestas y reaccionan a diferente velocidad con reactivos que sean asimétricos. Cuando se sintetizan aminoácidos en reacciones químico-orgánicas se obtiene una mezcla equimolar de los estereoisómeros D y L ópticamente inactiva denominada *racemato*, sin embargo, todos los aminoácidos proteicos que aparecen en la naturaleza pertenecen a la serie estereoquímica L.

- *Propiedades ácido-básicas de los aminoácidos.* En disolución acuosa los aminoácidos muestran un comportamiento *anfótero*, es decir, pueden ionizarse dependiendo del pH, como un ácido (los grupos carboxilo liberan protones) o como un base (los grupos amino captan protones). Dada la presencia simultánea de grupos ácidos y básicos, tienen a la vez cargas positivas y negativas, por lo que son *moléculas anfóteras*. Los aminoácidos pueden ionizarse doblemente apareciendo una forma dipolar iónica denominada *zwitterion*, en la que el grupo carboxilo cede un hidrógeno al grupo amino generando una molécula que posee grupos cargados tanto positivos como negativos y cuya carga eléctrica neta es neutra.

Cada una de estas reacciones es un equilibrio que presenta un pK (transformación logarítmica de la *constante de disociación K* de un ácido) característico: un pK_1 para la cesión del primer protón y un pK_2 para la cesión del segundo protón. La determinación de los pK de los aminoácidos es esencial para conocer sus propiedades y las de las proteínas que forman. Esto se conoce mediante la elaboración de curvas de valoración experimentales denominadas *curvas de titulación* que son características para cada aminoácido.

Pongamos como ejemplo la titulación de la glicina. A pH bajo (ácido), tanto el grupo amino como el carboxilo se encuentran protonados y la molécula (catión) tienen una carga neta positiva. A pH elevado (alcalino), tanto el grupo amino como el carboxilo están desprotonados y la molécula (anión) tienen una carga neta negativa. Entre estos extremos la carga neta de la molécula varía con el pH. El pH para el cual la carga neta de la molécula es neutra (igual a cero), y por tanto, la molécula no se desplazará en un campo eléctrico, se denomina *punto isoeléctrico* (pI) y corresponde al punto de inflexión entre las dos fases de la curva.

PÉPTIDOS

- *Enlace peptídico.* Dos aminoácidos pueden unirse entre sí mediante un *enlace amida*, denominado enlace peptídico, que se forma entre el grupo α -carboxilo de un aminoácido y el grupo α -amino de otro con la eliminación de una molécula de agua. El enlace peptídico es una unión covalente fuerte, resistente al calor, a los pH extremos y a los detergentes, con una energía de enlace de 380 kJ/mol y una longitud de 0,132 nm. Al tener un doble enlace parcial, el grupo peptídico es plano (los átomos del grupo carboxilo y los del grupo amino se sitúan en un mismo plano con distancias y ángulos fijos), sin embargo, alrededor de los otros enlaces se produce la rotación libre dando lugar a diferentes ángulos (*phi* y *psi*) que confieren flexibilidad a la cadena polipeptídica.

De ello se deducen dos consecuencias: la cadena polipeptídica posee una considerable flexibilidad (aunque limitada) y la carga parcial presente en el oxígeno y el nitrógeno del enlace permite la atracción entre dos uniones peptídicas formando un enlace de hidrógeno débil con una energía de enlace de 5 kJ/mol. La unión de dos aminoácidos forma un *dipéptido* y de forma semejante se pueden unir tres aminoácidos para formar un *tripéptido*, cuatro para formar una *tetrapéptido*, etc. La unión de aminoácidos en número menor de diez, forma un *oligopéptido* y la unión de un número superior a diez recibe el nombre de *polipéptido*. Cuando un polipéptido está formado por más de cien aminoácidos o si su peso molecular excede de 5.000, se denomina *proteína*.

- *Residuos.* Las unidades de aminoácido que forman un polipéptido se denominan residuos. El residuo de aminoácido del final de un péptido que tiene un grupo α -amino libre es el *residuo amino-terminal* o *N-terminal* y corresponde a la posición 5'. El que tiene el grupo α -carboxilo libre es el *residuo carboxilo terminal* o *C-terminal* y corresponde a la posición 3'. Por conveniencia los péptidos se designan según la secuencia de aminoácidos constituyentes empezando por la izquierda con el residuo N-terminal y siguiendo hacia el C-terminal en la derecha.

PROTEÍNAS

- *Fuerzas que conforman a las proteínas.* Además del enlace peptídico, se establecen otros tipos de uniones o fuerzas que conforman la estructura tridimensional de las proteínas. La estructura tridimensional y la función biológica de una proteína están determinadas por las características e interacciones de las cadenas laterales de la secuencia de sus aminoácidos.

- *Puentes de hidrógeno.* Se producen entre átomos del enlace peptídico y grupos laterales polares, en los que un átomo de hidrógeno es

compartido por dos átomos electronegativos. Intervienen en la formación de la estructura secundaria y terciaria. Tienen una energía de enlace de 20 kJ/mol y una longitud de 0.3 nm.

- *Interacciones hidrófobas.* Los aminoácidos hidrofóbicos (como ala, val, leu y phe) forman interacciones, más que verdaderos enlaces, allí donde se agrupan estrechamente. La energía de enlace proviene del desplazamiento del agua.
- *Enlaces iónicos.* Se forman por atracciones fuertes entre átomos positivos y negativos y se observan en la estructura terciaria. Tienen una energía de enlace de 335 kJ/mol y una longitud de 0.25 nm.
- *Fuerzas de Van der Waals.* Son fuerzas de atracción débiles entre dos átomos cuando los orbitales de sus electrones se aproximan. La energía de enlace es débil, 0.8 kJ/mol, y su longitud 0.35 nm. Colaboran en la importante energía contenida en las estructuras terciarias de los grandes polipéptidos.
- *Interacciones de las cadenas laterales.* Las interacciones entre las cadenas laterales forman enlaces como el enlace covalente denominado *punto disulfuro* (S-S) de 210 kJ/mol, que se produce entre los grupos tiol de dos residuos de cisteína. Son importantes, por ejemplo, en el mantenimiento de la estructura terciaria y secundaria de la elastina. Como esta reacción no es favorable en el interior de la célula, se encuentran habitualmente en las proteínas exportadas (como la enzima digestiva ribonucleasa con 4 y la hormona peptídica insulina con 3).

- *Estructura de las proteínas*

Estructura primaria. La determina la secuencia lineal de aminoácidos de la proteína unidos por enlaces peptídicos. Indica qué aminoácidos componen la cadena polipeptídica y el orden en que se encuentran.

Estructura secundaria. Es la disposición que adopta en el espacio la estructura primaria debido a los giros y plegamientos que sufre como consecuencia de la capacidad de rotación del carbono α . A medida que los aminoácidos se enlazan durante la síntesis proteica, no se disponen en una serie de planos, sino que gracias a la capacidad de giro de los enlaces, adquieren una disposición espacial estable o estructura secundaria. La mayoría de las proteínas poseen regiones concretas que forman hélice α y hojas plegadas β . Estas estructuras son frecuentes porque están formadas por puentes de hidrógeno entre los enlaces peptídicos y se ven favorecidas por la repulsión de los grupos laterales y la limitada flexibilidad de la cadena peptídica.

- *Hélice α .* Es una espiral con 3.6 residuos por vuelta y giro a la derecha (forma L), que posee un esqueleto de enlaces peptídicos desde el que salen cadenas laterales de forma radial. La estructura se estabiliza

mediante la formación de puentes de hidrógeno entre el átomo de hidrógeno unido al nitrógeno electronegativo de un enlace peptídico y el oxígeno carbonílico del tercer aminoácido que le sucede. Cada puente de hidrógeno es relativamente débil, pero su disposición en paralelo e intracatenaria supone un gran refuerzo. Esta estructura la presentan entre el 90-100% de las proteínas fibrosas (queratina α de la piel) y del 10-60% de las globulares (mioglobina del músculo).

- **Lámina β .** Varias cadenas polipeptídicas pueden situarse unas al lado de otras (paralelas o antiparalelas) en disposición plegada en zig-zag, uniéndose los tramos adyacentes por puentes de hidrógeno entre los grupos CO y NH. Los grupos laterales se proyectan por encima o por debajo de los planos en zig-zag de la lámina plegada. Las hojas plegadas β son estructuras rígidas, no elásticas presentes en proteínas fibrosas como la seda y las β queratinas de garras, uñas, plumas, pelos, escamas y picos de animales.
- **Hélice de colágeno.** El colágeno posee una disposición especial en hélice algo más alargada que la hélice α , debido a que es una proteína rica en prolina e hidroxiprolina, aminoácidos que dificultan la formación de la hélice α dando lugar a una hélice más extendida.

Estructura terciaria. La disposición tridimensional de todos los átomos de una proteína se conoce como estructura terciaria y se presenta como consecuencia de los plegamientos y enrollamientos de las estructuras secundarias constituyendo en el espacio figuras específicas de cada cadena polipeptídica. La estructura terciaria está mantenida por interacciones entre los grupos laterales de los aminoácidos como puentes disulfuro e interacciones electrostáticas/hidrófobas.

Estructura cuaternaria. Dos o más cadenas polipeptídicas se asocian para formar dímeros, tetrámeros u oligómeros. Las subunidades se conectan entre sí mediante los mismos tipos de enlaces que estabilizan la estructura terciaria. Las proteínas formadas por más de una subunidad se denominan *oligoméricas* y a cada una de las subunidades *protómeros*.

- **Relación entre estructura y función de las proteínas.** La forma de determinar la importancia que tiene la estructura específica de una proteína para desempeñar su función biológica es alterar su estructura y determinar el efecto de esta alteración en su función. La *desnaturalización* es la pérdida de la estructura tridimensional debida a la rotura de enlaces estructurales por acción de cualquier tratamiento que rompa los enlaces químicos (calor, pH extremos, oxidación, detergentes, disolventes orgánicos y factores físicos como la agitación).

La desnaturalización de las proteínas siempre está asociada a la pérdida de su actividad biológica. Si las condiciones de desnaturalización no son extremas, la proteína puede recuperar su estructura y por tanto su actividad biológica, si se retorna a las condiciones en las que su configuración nativa es estable. Este proceso se conoce como *renaturalización*. La renaturalización de las proteínas demuestra que la secuencia de aminoácidos de la proteína determina su estructura tridimensional y la desnaturalización demuestra que la estructura tridimensional determina sus funciones biológicas

2.2.- Funciones biológicas de las proteínas

1. *Enzimas*. Representan la clase más amplia y son las más variadas y con mayor especialización de los sistemas biológicos. Son proteínas con actividad catalítica que intervienen en casi todas las reacciones químicas celulares acelerando más de un millón de veces su velocidad. Sin su extraordinario poder catalítico no sería posible la vida tal y como la conocemos.
2. *Proteínas de transporte*. Son capaces de unirse y transportar tipos específicos de moléculas: la *hemoglobina* transporta O₂ en la sangre de vertebrados, la *hemocianina* en la de crustáceos y moluscos, la *hemeritrina* en la de anélidos marinos y braquiópodos y la *mioglobina* en el músculo. Otras sustancias circulan por la sangre mediante la acción de otras proteínas como la *seroalbúmina* (ácidos grasos) la β_1 -*lipoproteína* (lípidos), la *transferrina* (Fe) y la *ceruloplasmina* (Cu). Las proteínas transportadoras de membrana transportan iones hacia el interior o el exterior de la célula.
3. *Proteínas nutrientes y de reserva o almacenamiento*. Desempeñan la función de almacenar aminoácidos como elementos nutritivos y como sillares para el embrión en crecimiento. La *ovoalbúmina* es la principal proteína de la clara de huevo, la *vitelina* del vitelo, la *caseína* de la leche, la *gliadina* de la semilla de trigo, la *hordeína* de la semilla de la cebada y la *zeína* del maíz. La *ferritina* almacena hierro en bacterias y en tejidos vegetales y animales (hígado).
4. *Proteínas contráctiles*. Actúan como elementos esenciales de los sistemas motiles y contráctiles de las células y orgánulos otorgándoles la capacidad de contraerse, cambiar de forma o moverse. Las miofibrillas de *actina* y *miosina* son los elementos proteicos principales de los sistemas contráctiles del músculo. En la motilidad celular intervienen la *dineína*, la *flagelina* y la *tubulina*.
5. *Proteínas estructurales*. Confieren fuerza y protección a las estructuras biológicas. En la célula son ejemplos los microtúbulos del citoesqueleto, las proteínas de cilios y flagelos, las *histonas* del ADN y las proteínas de las subunidades ribosómicas. El *colágeno* es la principal proteína extracelular del tejido conectivo y óseo, la *elastina*

- de tejidos reticulares, la *esclerotina* del exoesqueleto de insectos y la *queratina* de las formaciones dérmicas.
6. *Proteínas de defensa*. El *fibrinógeno* y la *trombina* participan en la coagulación de la sangre impidiendo su pérdida del sistema vascular de vertebrados. Las *inmunoglobulinas* neutralizan la acción de proteínas extrañas (antígenos) que puedan haberse introducido en la sangre o tejidos de vertebrados. Otros ejemplos son los venenos de serpientes, las toxinas bacterianas (diftérica, botulínica) y las toxinas vegetales (*ricina* de la semilla del ricino, *gospina* de la del algodón).
 7. *Proteínas reguladoras*. Algunas proteínas intervienen en la regulación de la actividad celular o fisiológica como las hormonas peptídicas *insulina*, *tiroxina* y *hormona del crecimiento*. La activación de los complejos proteicos de *ciclinas-quinisas* determina la entrada en mitosis en el ciclo celular.
 8. *Proteínas de reconocimiento*. Las glucoproteínas de superficie celular son muy importantes en los procesos de reconocimiento ya que tienen cadenas específicas de oligosacáridos que permiten a las células reconocerse entre sí, como las proteínas del complejo mayor de histocompatibilidad y las proteínas de los grupos sanguíneos ABO. Las *riboforinas* son proteínas transmembranosas de las membranas del retículo endoplasmático rugoso y median en la unión de los ribosomas a éstas.
 9. *Proteínas con funciones especiales*. Algunas proteínas presentan funciones específicas poco habituales. La *fibroína* la segregan arañas y gusanos de seda en forma de disolución espesa, que solidifica rápidamente formando un filamento insoluble y de gran fuerza tensil que sirve para formar telarañas y capullos. Algunos peces de aguas antárticas, que habitan a temperaturas inferiores a 0°C, poseen en su sistema vascular una proteína anticoagulante que impide la congelación de la sangre.

2.3.- Clasificación de las proteínas

Según su composición las proteínas se clasifican en:

- *Holoproteínas*. Están formadas únicamente por aminoácidos y según su estructura terciaria se diferencian:
 - *Proteínas globulares o esferoproteínas*. Son solubles en agua o en disoluciones polares. Son ejemplos las *protaminas* asociadas al ADN de los espermatozoides animales, las *histonas* asociadas al ADN en el núcleo celular, las *prolaminas* y *gluteninas* de semillas vegetales, las *albúminas* (seroalbúmina de la sangre u ovoalbúmina del huevo) y las *globulinas* (seroglobulinas de la sangre o lactoglobulina de la leche).
 - *Proteínas filamentosas o escleroproteínas*. Son insolubles en agua y aparecen principalmente en animales. Pertenecen a este grupo las

queratinas, las *fibroínas*, las *elastinas* de vasos sanguíneos y tendones y los *colágenos* de tejidos conjuntivos, cartilaginosos, óseos y tegumentarios.

- *Heteroproteínas o proteínas conjugadas*. Están formadas por un *grupo proteico* (aminoácidos) y un *grupo prostético* o no proteico. Según la naturaleza del grupo prostético se diferencian:

- *Cromoproteínas*. El grupo prostético es una sustancia coloreada por lo que también reciben el nombre de pigmentos. Los *pigmentos porfirínicos* tienen como grupo prostético un anillo tetrapirrólico o *porfirina* en cuyo centro aparece un catión metálico. Si se trata de un catión ferroso (Fe^{2+}), la porfirina se llama *grupo hemo* (hemoglobina y mioglobina). Si es un catión férrico (Fe^{3+}) la porfirina se llama *grupo hemino* (peroxidasas y catalasas). El catión también puede ser de cobalto divalente (Co^{2+}) como en la vitamina B_{12} . Los *pigmentos no porfirínicos* son la hemocianina (pigmento respiratorio que contiene Cu) y la hemeritrina (que contiene Fe).
- *Glucoproteínas*. El grupo prostético contiene moléculas de glúcidos como glucosa, galactosa, arabinosa, etc. Son ejemplos algunas hormonas (FSH, TSH, LH), las mucoproteínas, las inmunoglobulinas y las glucoproteínas de las membranas celulares.
- *Lipoproteínas*. Su grupo prostético está formado por ácidos grasos (lipoproteínas sanguíneas y de las membranas celulares).
- *Fosfoproteínas*. El grupo prostético es el ácido fosfórico como en la caseína o en la vitelina.
- *Nucleoproteínas*. El grupo prostético es un ácido nucleico. Se consideran nucleoproteínas las asociaciones de histonas o protaminas a las moléculas filamentosas del ADN.

3.- BIOSÍNTESIS PROTEICA

3.1.- El código genético

Las proteínas se sintetizan con una secuencia de aminoácidos determinada mediante la traducción de la información codificada en el ARN mensajero (ARNm). En el ARNm los aminoácidos vienen especificados por unidades de información de tres nucleótidos denominadas *codones*. El código genético es la correspondencia entre los nucleótidos del ARNm (o del gen del que ha sido transcrito) y la secuencia de aminoácidos de la proteína que codifica.

- *Descifrado del código genético*. En las proteínas hay 20 tipos de aminoácidos distintos y en el ADN sólo existen 4 tipos de nucleótidos (A,

G, C, U en el ARN y A, G, C, T en el ADN). La relación entre el gen (ADN) y el producto final (proteína) no puede interpretarse como un código de “un nucleótido-un aminoácido” ya que sólo 4 aminoácidos estarían codificados y quedarían 16 sin codificar. Si se tratara de un código de dobletes, dos nucleótidos codificarían para un aminoácido por lo que resultarían 16 combinaciones posibles (4^2) y quedarían 4 aminoácidos sin codificar. Si la combinación es de tres nucleótidos para cada aminoácido, resultarían 64 combinaciones posibles (4^3) para los 20 aminoácidos por lo que 44 de ellas parecen superfluas. Sin embargo, es ésta la posibilidad más operativa ya que un aminoácido puede ser codificado por más de un triplete y pueden existir tripletes sin sentido que no codifiquen aminoácidos.

En los años 50 se estableció la hipótesis de que el código genético se lee en grupos de tres bases o tripletes y para dilucidar la correspondencia entre éstos y los aminoácidos que codifican, se realizaron una serie de experimentos que representaron uno de los mayores retos de la historia de la bioquímica:

- *Experimentos con polímeros de ARN de secuencia conocida.* En 1955 Severo Ochoa aisló la *polinucleótido ARN-fosforilasa*, una enzima que actúa *in vitro* enlazando entre sí ribonucleótidos en una larga cadena de ARN y que inicia su actividad en ausencia de cebador y sin precisar cadena molde de ADN. La composición del ARN que sintetiza vendrá determinada por las proporciones de ribonucleótidos presentes en la mezcla de incubación. Ochoa y Nirenberg (1961-1962) obtuvieron polímeros de ARN de secuencia conocida que se añadían después a un sistema sintetizador libre de células extraído de *E. coli*, tras lo cual se determinaba el polipéptido sintetizado. Por ejemplo: poli-A → poli-lisina; poli-G → poli-glicina; poli-C → poli-prolina y poli-U → poli-fenilalanina, de lo que se podían deducir los tripletes correspondientes a cada aminoácido (AAA: lisina; GGG: glicina; etc.). Posteriormente se obtuvieron polímeros sintéticos de ARN de bases mezcladas modificando las proporciones de bases nitrogenadas añadidas a la mezcla.
- *Estudios de colinearidad gen-proteína.* Experimentos posteriores demostraron la correspondencia entre los nucleótidos del gen y los aminoácidos de la proteína. En 1964 C. Yanofsky realizó el mapa genético de las mutaciones del *gen de la cadena A de la triptófano sintetasa* y secuenció los aminoácidos de las cadenas mutantes. Observó que los puntos de mutación en el gen correspondían a puntos de sustitución de un aminoácido en la proteína demostrando la relación directa entre la ordenación en el mapa de los sitios mutados y la localización en la cadena polipeptídica de los aminoácidos alterados. En el mismo año, S. Brenner estudió las *mutaciones ámbar*

de la proteína 23 de la cubierta del fago T_4 . Estas mutaciones determinan la formación de cadenas polipeptídicas más cortas de lo normal por introducción de un codón de paro. Observó que las distintas longitudes de las proteínas resultantes correspondían exactamente a la posición de las distintas mutaciones ámbar en el mapa genético. La conclusión a la que llevaron estos experimentos es que: la secuencia lineal de nucleótidos del gen determinaba la secuencia lineal de aminoácidos en la proteína.

- *Características del código genético*

1. El código genético está formado por tripletes: 61 de ellos funcionales y 3 de paro (5'UAG3'; 5'UGA3'; 5'UAA3'). La unidad de codificación o *codón* es un triplete de tres nucleótidos. Los codones que se diferencian en la tercera base pueden ser reconocidos por el mismo ARN-t, mientras que los que difieren en la segunda o en la primera, no. La *hipótesis del balanceo* sugiere que inicialmente pudo existir afinidad estereoquímica entre aminoácidos y entre dos de las 3 bases nitrogenadas, la discriminación de la tercera base podría haber sucedido más tarde. El sistema actual resulta de una selección a favor de la eficacia y la exactitud.
2. Es un código no imbricado o no solapado. La lectura de los codones es independiente. Se codifican tantos aminoácidos como codones hay de un extremo al otro del gen.
3. Es un código degenerado o redundante. Existen codones sinónimos que codifican para el mismo aminoácido. Por ejemplo, los codones UUU y UUC codifican para el aminoácido alanina.
4. Carece de comas o espaciadores. Las señales de separación o pausa están entre los genes, pero no dentro del mismo gen.
5. El código genético es universal. En procariotas y eucariotas se utiliza la misma correspondencia de codones. Este hecho se confirma por que el ARNm de unas especies puede ser traducido correctamente (*in vivo* e *in vitro*) por el aparato de síntesis de proteínas de otras especies. La universalidad del código genético indica que debió establecerse en una fase temprana de la evolución (monofilogenia). Únicamente se han encontrado excepciones de forma sistemática a dicha universalidad en mitocondrias que sintetizan proteínas específicas. Para algunos autores se trata de un código más primitivo.

3.2.- Biosíntesis de las proteínas

La biosíntesis de proteínas o traducción es el proceso de lectura de las bases nitrogenadas del ARNm, en el que, con ayuda de los ribosomas y otros componentes celulares, se traduce una determinada secuencia de nucleótidos del ARNm en una determinada secuencia de aminoácidos en la proteína. La traducción tiene lugar en el interior de los ribosomas a medida que éstos se desplazan a lo largo del ARNm en dirección 5'→3'.

- *Esquema general de la traducción.* En la traducción intervienen:

1. Aminoácidos. 20 tipos de aminoácidos libres en el citoplasma.
2. Ribosomas. Son el soporte mecánico de la traducción. En su *estructura secundaria* se distinguen 4 lugares funcionales: la subunidad mayor posee dos sitios de unión para el ARNt, el sitio o *locus aminoacílico* (A) y el *locus peptidílico* (P) y el *locus de la peptidil-transferasa*, enzima que es parte de dicha subunidad. Entre las subunidades se localiza la *hendidura M* que es el espacio que ocupa el ARNm. Se ha sugerido que la subunidad mayor tiene un surco por el que sale la cadena polipeptídica naciente.
3. ARNm. Portador de la secuencia de nucleótidos a traducir.
4. ARN de transferencia (ARNt). 20 tipos distintos (como mínimo) específicos para cada aminoácido. Su estructura secundaria, que se mantiene por el apareamiento de bases entre regiones complementarias cortas, forma 4 brazos principales que acaban en asas funcionales de regiones no complementarias designadas por su estructura y función:
 - El brazo I termina en el *extremo aceptor* en 3' (3'-ACC) donde se une el aminoácido.
 - El brazo II con el *asa D*, que sirve para el reconocimiento de la aminoacil-ARNt-sintetasa.
 - El brazo III con el *asa anticodón*, donde 3 bases que reconocer formarán puentes de hidrógeno con el codón del ARNm.
 - El brazo V con el *asa T*, es el lugar de unión al ribosoma.
5. Enzima *aminoacil-ARNt-sintetasa*. Cataliza la unión del ARNt con su aminoácido específico con gasto de ATP.
6. Enzima *peptidil-transferasa*. Cataliza la unión de dos aminoácidos entre sí mediante un enlace peptídico.
7. Factores proteicos de Iniciación, Elongación y Terminación, ATP y GTP.

- *Mecanismo de la síntesis de proteínas.* La síntesis de proteínas puede considerarse como una reacción química formada por una serie de reacciones intermedias:

A. Activación de los aminoácidos. El aminoácido se activa por la unión al ATP en presencia de la enzima aminoacil-ARNt-sintetasa específica para ese aminoácido, formando un aminoácido adenilado:



La aminoacil-ARNt-sintetasa incorpora un enlace éster de alta energía entre el grupo aminoacilo del aminoácido adenilado y el grupo 3' ACC del ARNt específico (en el OH del C 3' de la ribosa de la adenosina terminal) formándose el complejo *aminoacil-ARNt*. Se denomina “carga” del ARNt y cuando se rompe este enlace, la energía liberada dirige la fase de formación de enlaces peptídicos en la elongación de la cadena.



B. Traducción. La traducción consta de tres etapas: iniciación, elongación o extensión y terminación.

B.1. Iniciación. El complejo de iniciación está formado por un ribosoma, ARNm y aminoacil-ARNt iniciador. El proceso requiere tres factores de iniciación (IF-1, IF-2, IF-3) y una molécula de GTP. La lectura del ARNm comienza siempre por el codón 5'-AUG-3' que codifica la incorporación del aminoácido metionina (eucariotas) o formil-metionina (bacterias). El codón AUG va precedido por una porción de nucleótidos ricos en purina (*secuencia de Shine-Dalgarno*) que se une a una secuencia correspondiente rica en pirimidina en la subunidad 30S del ribosoma.

- Los factores IF1 y IF-2 se unen a la subunidad 30S del ribosoma para promover la disociación de la subunidad 50S.
- El complejo formil-metionina-ARNt (f-Met-ARNt), IF-2, GTP y ARNm se unen a la subunidad ribosómica 30S. Se requiere IF-2 para que la f-Met-ARNt se una al ARNm, por lo que esta unión no es dependiente de la asociación codon-anticodon. El IF-3 participa en la unión de la subunidad 30S a la región Shine-Dalgarno del ARNm.
- Se libera IF-3 y se hidroliza el GTP.
- Se asocia la subunidad 50S y se liberan el IF-1 y el IF-2.
- La f-Met-ARNt descansa sobre el locus peptídico (P) del ribosoma por lo que el locus aminoacílico (A) queda dispuesto para aceptar el aminoacil-ARNt entrante.

B.2. Elongación. La elongación de la cadena implica la adición de residuos aminoacilos al polipéptido en formación. Es un proceso en tres fases:

- Fase primera. El siguiente aminoacil-ARNt con su aminoácido correspondiente, se une al GTP y al factor de elongación EF-T para formar el complejo aminoacil-ARNt $\approx$ GTP $\approx$ EF-T que llega al ribosoma

- y se instala en el locus A mediante unión codón-anticodón con hidrólisis del GTP. A continuación, se libera GDP, P_i y el factor EF-T.
- Fase segunda. La formación del enlace peptídico está catalizada por la enzima peptidil-transferasa de la subunidad 50S del ribosoma. El extremo carboxilo de la formil-metionina (grupo peptidilo en el locus P) se enlaza con el extremo amino del nuevo aminoácido (grupo aminoacilo del locus A). La reacción está dirigida por un enlace éster de alta energía entre el grupo aminoacilo y el ARNt.
 - Fase tercera. Se retira del complejo el ARNt no cargado situado en el locus P. El conjunto peptidil-ARNt se transfiere desde el locus A al locus P lo que requiere gasto de GTP y la intervención del factor EF-G. El ARNt está todavía unido al codón del ARNm, por lo que a medida que el peptidil-ARNt se va trasladando desde el locus A al locus P, el ARNm se mueve con él quedando ahora un nuevo codón en el locus A. Este mecanismo permite que se mantenga la fase de lectura del ARNm.

El proceso descrito se repite tantas veces como aminoácidos se incorporen a la cadena polipeptídica, ocupando cada aminoacil-ARNt entrante el locus A del ribosoma.

B.3. Terminación. La finalización de la lectura viene dada por la lectura de los codones de paro o sin sentido 5'UAG3', 5'UGA3' y 5'UAA3'. No existen ARNt que los reconozcan por lo que cesa la incorporación de aminoácidos a la cadena polipeptídica. Los codones de terminación son reconocidos por factores de terminación ("relase"): el RF-1 reconoce el UAG y UAA; el RF-2 reconoce el UGA y UAA y el RF-3, que se une al GTP, estimula la unión de RF-1 y RF-2 al ribosoma. La unión de un factor de terminación hace que la enzima peptidil-transferasa transfiera el grupo peptidilo al agua en vez de a un grupo aminoacilo, lo que provoca la liberación del polipéptido. Desde el ribosoma se libera el ARNt no cargado y se retiran los RF. El ribosoma se disocia en sus dos subunidades.

C. Asociación de varias cadenas polipeptídicas. A medida que va formándose la cadena polipeptídica va adquiriendo una determinada estructura secundaria y terciaria. Tras finalizar la traducción existen proteínas enzimáticas que ya son activas mientras que otras precisan eliminar algunos aminoácidos para serlo. Algunas enzimas precisan asociarse a iones o coenzimas para ser funcionales. Las proteínas pueden estar constituidas por una sola cadena polipeptídica o por varias subunidades que pueden ser iguales entre sí (procedentes de un mismo cistron) o diferentes entre sí (procedentes de distintos cistrones).

La comparación entre la traducción en células procariotas y eucariotas se muestra en la siguiente tabla:

	PROCARIOTAS	EUCARIOTAS
ARNm	- Policistrónico (codifica para más de una cadena polipeptídica).	- Monocistrónico (codifica para una sola cadena polipeptídica).
Ribosoma	- 70 S (subunidad mayor 50 S y subunidad menor 30 S).	- 80 S (subunidad mayor 60 S y subunidad menor 40 S).
Iniciación	- Tres factores de iniciación: IF-1, IF-2 e IF-3. - El ARNt iniciador transporta formil-metionina. - La secuencia Shine-Dalgarno precede al punto de inicio en el ARNm y se une a una secuencia complementaria en la subunidad 30 S del ribosoma.	- Más de 10 factores de iniciación llamados eIF ("e" de eucariota). - El ARNt iniciador lleva metionina. - Ausencia de la secuencia Shine-Dalgarno. - El cap 5' metilado del ARNm podría tener un punto de unión en la subunidad 40 S del ribosoma que guiaría el complejo de traducción hasta el punto de inicio.
Elongación	- Factores de elongación EF-T y EF-G.	- EF-T es reemplazado por el factor eEF-1 y el EF-G por el factor eEF-2.
Terminación	- Factores de liberación RF-1, RF-2 y RF-3. - RF-3 se une a GTP y el complejo estimula la unión de RF-1 y RF-2 al ribosoma. - La hidrólisis del GTP desencadena el desempalme del complejo de traducción.	- Único factor de liberación eRF que se une al ribosoma con el GTP. - La hidrólisis del GTP desencadena la liberación de eRF del ribosoma.

- *Modificaciones postraduccionales en las proteínas.* El procesamiento postraducciona es la modificación de las proteínas después de la traducción. Estas modificaciones dotan a la proteína madura de actividad funcional e incluyen escisión de fragmentos peptídicos y modificaciones covalentes como fosforilación, carboxilación, hidroxilación y glucosilación de residuos específicos. Una proteína recién sintetizada puede estar destinada a la secreción extracelular o a diferentes compartimentos celulares (núcleo, lisosomas, membrana plasmática, citoplasma u orgánulos).

Las proteínas se dirigen a sus destinos mediante la presencia de secuencias conservadas en su secuencia de aminoácidos (como el *péptido señal* que dirige los polipéptidos a la luz del retículo endoplasmático y la *señal guía* al núcleo) o mediante la adición de moléculas (como la manosa-6-fosfato para la orientación al lisosoma).

4.- ENZIMAS Y COENZIMAS

4.1.- Enzimas

- *Concepto.* Las enzimas son proteínas especializadas en la catálisis de reacciones biológicas. Son biocatalizadores sin los que las reacciones metabólicas se desarrollarían demasiado despacio para la vida. Poseen las siguientes propiedades:

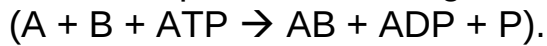
- Tienen un gran poder catalítico modificando enormemente la velocidad de reacción.
- Se unen a ligandos específicos (*sustratos*) mediante sitios activos y catalizan su transformación en *productos*.
- Permanecen en el mismo estado químico al final de la reacción por lo que pueden reutilizarse.
- Catalizan la reacción en ambos sentidos.
- Presentan gran especificidad (algunas enzimas reconocen únicamente un estereoisómero).

Generalmente el nombre de un enzima es el nombre del sustrato añadiendo el sufijo *asa*. Las *isoenzimas* catalizan la misma reacción, pero tienen diferentes estructuras primarias y pueden trabajar bajo condiciones óptimas diferentes. Por ejemplo, la lactato deshidrogenasa que posee isoformas cardíacas y musculares o la creatina cinasa que posee isoformas cerebrales y musculares.

- *Clasificación de las enzimas.* Todas las enzimas conocidas pueden clasificarse, atendiendo a la reacción que catalizan, en uno de los seis grupos definidos por *The International Union of Biochemistry*:

1. *Oxidorreductasas.* Catalizan reacciones redox en las que oxidan o reducen sustratos. Las *deshidrogenasas* transfieren hidrógeno a las coenzimas (sustrato + coenzima $\rightarrow$ sustrato oxidado + coenzima reducida: $AH_2 + NAD^+ \rightarrow A^+ + 2NADH$). Las *oxidasas* transfieren hidrógeno a las moléculas de oxígeno (sustrato $\rightarrow$ sustrato oxidado: $AH_2 + \frac{1}{2} H_2O \rightarrow A + H_2O$).
2. *Transferasas.* Catalizan la transferencia de moléculas de un sustrato a otro. ($AB + C \rightarrow A + BC$).
3. *Hidrolasas.* Catalizan reacciones de hidrólisis en las que forman dos productos a partir de un único sustrato, acoplando el átomo de hidrógeno del agua a un componente y el grupo hidroxilo a otro. ($AB + H_2O \rightarrow AH + BOH$).
4. *Isomerasas.* Cambian la configuración isomérica de una molécula transfiriendo átomos desde una región a otra de la molécula. ($ABC \rightarrow ACB$).
5. *Liasas.* Rompen los enlaces C-C formando dos productos más simples que las hidrolasas y sin intervención del agua. ($AB \rightarrow A + B$).

6. *Ligasas*. Catalizan la síntesis de nuevas moléculas formando nuevos enlaces a partir de la energía liberada en la rotura del ATP.



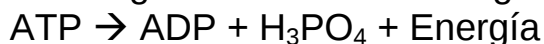
- *Estructura de las enzimas*. A excepción de los *ribozimas* (ARN con funciones catalíticas) todas las enzimas conocidas son proteínas. Sin embargo, algunas enzimas requieren de uno o más componentes no proteicos para desempeñar su actividad catalítica. Se diferencian dos tipos de enzimas: las enzimas estrictamente proteicas y las enzimas formadas por la asociación más o menos fuerte de una fracción polipeptídica denominada *apoenzima* (que por sí misma es inactiva catalíticamente) y una fracción no proteica o grupo prostético denominado *cofactor*. El cofactor puede ser un ion inorgánico (Fe^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} o Zn^{2+}) o un complejo orgánico (*coenzima*). La unión de la coenzima con el apoenzima recibe el nombre de *holoenzima*.

En la cadena polipeptídica de una enzima se diferencian tres tipos de aminoácidos: *aminoácidos estructurales* sin función dinámica; *aminoácidos de fijación* encargados de establecer enlaces débiles con el sustrato (*centro de fijación* de la enzima) y *aminoácidos catalizadores* que se unen al sustrato mediante enlaces covalentes de manera que se debilita la estructura molecular del sustrato favoreciendo su ruptura (*centro catalítico* de la enzima).

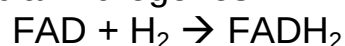
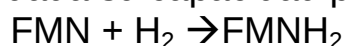
4.2.- Coenzimas

Las coenzimas son moléculas orgánicas que deben asociarse a una enzima determinada para que ésta funcione. Se unen a la enzima, experimentan cambios químicos y por último se liberan cuando finaliza la reacción regenerándose rápidamente para volver a ser funcionales. Las coenzimas no suelen ser específicas de un solo tipo de apoenzima, existiendo casos de coenzimas que pueden unirse a más de 100 tipos de apoenzimas diferentes. Los principales tipos son:

1. *Adenosín-fosfatos*. Formados por adenosina y ácido fosfórico. Un ejemplo es el *ATP* que participa en reacciones de transferencia de grupos fosfato liberando gran cantidad de energía.



2. *Flavín-nucleótidos*. Formados por riboflavina (vitamina B_2). Son el *FMN* (flavín-mono-nucleótido), formado por riboflavina y ácido fosfórico y el *FAD* (flavín-adenín-dinucleótido), formado por el anterior unido a adenina. Son deshidrogenasas que participan en reacciones redox dada su capacidad para intercambiar hidrógenos.



3. *Piridín-nucleótidos*. Constituidos por nicotinamida (vitamina B₃) y un nucleótido de adenina. Son el *NAD* (nicotinamín-adenín-dinucleótido) y el *NADP* (nicotinamín-adenín-dinucleótido-fosfato). Son también deshidrogenasas que intervienen en reacciones redox.



4. *Coenzima A (CoA-SH)*. Formado por ácido pantoténico (vitamina B₅) y un nucleótido de adenina. Participa en reacciones de transferencia de grupos acéticos.



4.3.- Mecanismo de acción de las enzimas

- *Catalizadores*. En cualquier reacción química, cuando un sustrato se convierte en producto y a medida que los enlaces químicos se rompen y modifican, se generan compuestos intermedios muy inestables que poseen más energía libre que el sustrato y por lo tanto no están favorecidos desde el punto de vista energético.

La energía de activación es la diferencia de energía libre entre el sustrato y los compuestos intermedios inestables, por lo que los sustratos deben tener un nivel de energía de activación superior al necesario. Si la energía de activación es elevada, sólo unas pocas moléculas tendrán suficiente energía para reaccionar en un momento determinado y la reacción será lenta. Un catalizador acelera la reacción química pero no resulta modificado por la misma. Los catalizadores se unen a las moléculas de transición y las estabilizan disminuyendo la energía de activación.

En una reacción catalizada más moléculas alcanzarán la energía de activación necesaria, la velocidad de la reacción se incrementará y dado que aceleran la reacción en ambas direcciones, el punto de equilibrio no se modifica.

- *Sitios activos*. El sitio activo es la región de la enzima a la que se unen las moléculas de sustrato. La especificidad enzimática se debe a que la forma del sitio activo es tal que sólo se pueden unir los sustratos que posean una estructura complementaria según un modelo "llave-cerradura". Sin embargo, la hipótesis del "*ajuste inducido*" no considera el centro activo como una estructura rígida, sino que explica cómo la unión del sustrato a la enzima modifica la conformación del sitio activo. Este modelo de encaje propone que la unión del sustrato al dominio de unión al sustrato, induce un cambio en la conformación del sitio activo que pondría al descubierto los grupos funcionales y a medida que se disocia el producto la enzima regresaría a su conformación original.

• *Regulación de la actividad enzimática.* La regulación coordinada de la actividad enzimática permite al organismo adaptarse a los cambios ambientales. La actividad de una enzima depende de un cierto número de factores físico-químicos de forma que existen una serie de condiciones óptimas para su actuación. Los factores más importantes que afectan a la velocidad enzimática son:

- *Temperatura.* Existe una *temperatura óptima* para la cual la actividad enzimática es máxima. Al suministrar energía en forma de calor a una reacción enzimática, las moléculas la captan y la transforman en energía cinética lo que provoca el aumento del número de encuentros intermoleculares. Si la temperatura es excesiva la enzima se desnaturaliza lo que desencadena la pérdida de sus propiedades y actividad. No obstante, existen organismos termófilos que poseen enzimas capaces de actuar a temperaturas próximas a 100° C.
- *pH.* Todos los enzimas presentan dos valores límites de pH entre los que son efectivas y más allá de los cuales se desnaturalizan y dejan de actuar. Entre estos valores la enzima posee un *pH óptimo* con el que su eficacia es máxima ya que el pH influye en el grado de ionización de los radicales del centro activo y en el grado de ionización de los radicales del sustrato.
- *Concentración de sustrato.* Si en una reacción enzimática, con una concentración de enzima constante, aumenta la concentración del sustrato se produce un aumento de la velocidad de reacción tendente a restablecer el equilibrio químico entre las concentraciones de sustrato y de producto. Esto se debe a que aumenta la probabilidad de encuentros entre las moléculas del enzima y las del sustrato.
- *Activadores.* Algunos iones favorecen la unión del enzima con el sustrato como los iones Mg^{2+} que activan la fosforilasa, enzima que cataliza la formación de ATP a partir de ADP y ácido fosfórico.
- *Inhibidores.* Los inhibidores enzimáticos son sustancias que disminuyen la actividad y eficacia de una enzima o bien impiden totalmente su actuación. La *inhibición irreversible* se da cuando el inhibidor se fija permanentemente al centro activo alterando su estructura e inutilizándola. La *inhibición reversible* tiene lugar cuando la sustancia inhibidora impide temporalmente el funcionamiento normal de la enzima, pero no inutiliza su centro activo y su acción se anula aumentando la concentración de sustrato. La *inhibición reversible competitiva* se debe a la presencia de un inhibidor cuya molécula es igual a la del sustrato por lo que puede competir con él en la fijación al centro activo de la enzima que sólo podrá actuar cuando se libere de dicho inhibidor. La *inhibición reversible no competitiva* se debe a inhibidores que se fijan al complejo enzima-sustrato impidiendo la liberación de los productos o a inhibidores que se unen a la enzima impidiendo el acceso del sustrato al centro activo.

- **Enzimas alostéricas.** Son enzimas formadas por varias subunidades o *protómeros*. Cada protómero posee un centro regulador y un centro activo o catalítico. Cuando una molécula denominada *activador*, *modulador* o *ligando* se une al centro regulador, la enzima pasa de un estado inhibido (T) a un estado activo (R). Esta activación se transmite a los otros protómeros por cambio en la conformación espacial haciéndolos activos, efecto que se denomina *transmisión alostérica*. Algunas enzimas alostéricas se encuentran en estado inhibido y requieren un activador para pasar a estado activo que generalmente es el sustrato. Otras se encuentran normalmente en estado catalítico y es la unión del producto al centro regulador lo que induce su paso a estado inhibido.

Las enzimas alostéricas actúan como *enzimas reguladoras* en los sistemas enzimáticos constituidos por varias enzimas y se sitúan en las etapas limitantes de la velocidad de las rutas metabólicas, ajustando la velocidad global de dichas rutas en función de las necesidades de la célula en cada momento.

4.4.- Cinética enzimática

La cinética enzimática es el estudio de la tasa de recambio de sustratos y productos en las reacciones enzimáticas. Para su análisis se utilizan biosensores, electrodos de oxígeno o cromógenos entre otros métodos.

- **Velocidad de reacción.** Una reacción enzimática sencilla se puede escribir como: $E + S \rightarrow ES \rightarrow E + P$, donde E es el enzima, S el sustrato, ES el complejo enzima-sustrato y P el producto de la reacción. Como se ha comentado, al aumentar la concentración de sustrato aumenta la velocidad de reacción, pero si la concentración de sustrato es excesiva la velocidad de la reacción no aumentará debido a que se produce una saturación de las enzimas que se hallan todas en forma de complejo ES. Este hecho llevó a L. Michaelis y M. L. Menten a formular una ecuación que relaciona la velocidad de reacción con la concentración de sustrato:

$$V_0 = \frac{V_{\text{máx}} [S]}{[S] + K_m}$$

Donde: V_0 es la velocidad inicial de la enzima
 $V_{\text{máx}}$ es la velocidad máxima
 $[S]$ es la concentración de sustrato
 K_m es la constante de Michaelis-Menten

En la ecuación se pone de manifiesto que la velocidad de reacción depende de la concentración de sustrato, de la velocidad máxima que se puede alcanzar con una determinada concentración de la enzima y de la

constante de Michaelis-Menten que depende de la afinidad existente entre la enzima y el sustrato. La constante K_m es igual a la concentración de sustrato para la cual la velocidad de la reacción corresponde a la mitad de la velocidad máxima, es decir la concentración de sustrato para la que se cumple $V_0 = V_{m\acute{a}x} / 2$.

5.- LAS VITAMINAS

Las vitaminas son compuestos orgánicos relativamente sencillos que participan en cantidades mínimas en la función normal de las células y son esenciales en la función de la mayor parte de formas de vida. Algunos organismos no pueden sintetizarlas por lo que deben conseguirlas de fuentes exógenas. Desde un punto de vista químico, las vitaminas poseen una composición muy variada, siendo el denominador común que las agrupa su papel biológico como sustancias biocatalizadoras (coenzimas). Son sustancias lábiles ya que se alteran con facilidad y resisten mal los cambios de temperatura y los almacenamientos prolongados. Comprenden un gran número de moléculas y se clasifican atendiendo a su solubilidad en hidrosolubles y liposolubles.

5.1.- Vitaminas hidrosolubles

Son vitaminas solubles en agua, móviles y de gran capacidad de difusión. Su exceso no provoca trastornos fisiológicos ya que disueltas en la sangre son transportadas hasta el riñón, donde se filtran y eliminan por la orina. La mayor parte actúan como componentes de diversas coenzimas importantes en las rutas metabólicas centrales.

- *Complejo vitamínico B*

1. *Tiamina (B_1), aneurina o vitamina antiberibérica.* La producen bacterias, levaduras y vegetales. Es abundante en las envolturas de cereales y legumbres. Se precisa en la dieta de la mayor parte de vertebrados y de algunos microorganismos. Está presente en las células en su forma de coenzima activo (*pirofosfato de tiamina*) que interviene en el metabolismo de glúcidos y lípidos. Su deficiencia produce polineuritis en aves y un cuadro de síntomas denominado *beriberi* en el hombre que se caracteriza por una degeneración de las neuronas que conlleva debilidad muscular, pérdida de reflejos, hipersensibilidad, insuficiencia cardíaca, pérdida de apetito y en casos extremos la muerte.
2. *Riboflavina (B_2) o lactoflavina.* La producen bacterias, levaduras y vegetales que contengan pigmentos flavínicos (amarillos). Está

presente en casi todos los alimentos en especial en la leche, los huevos y el hígado. Actúa como grupo prostético de los FAD y los FMN que intervienen en la degradación oxidativa del piruvato, de los ácidos grasos y de los aminoácidos y en el proceso de transporte electrónico. Su carencia origina dermatitis, fotofobia y enrojecimiento de labios, lengua, mejillas y ojos.

3. *Acido nicotínico (B₃)*. Se designa de este modo porque es un componente de la nicotina del tabaco (un alcaloide tóxico), también se llama *niacina* o *vitamina PP* (preventiva de la pelagra). Una molécula derivada es la nicotinamida. A partir de precursores como el triptófano, la sintetizan las levaduras, los vegetales y la mayor parte de los animales. Forma parte de las coenzimas NAD y NADP que actúan con enzimas deshidrogenasas en los procesos de oxidación de glúcidos y lípidos. Su deficiencia produce la *pelagra* en el hombre que se caracteriza por el enrojecimiento de la cavidad bucal, trastornos del aparato digestivo y aparición de piel áspera y color oscuro en las zonas expuestas al sol. En casos graves produce trastornos nerviosos y mentales y en casos extremos la muerte.
4. *Acido pantoténico (B₅)*. La sintetizan bacterias, hongos y vegetales de hoja verde. Está presente en todos los tejidos animales donde se almacena en forma de coenzima A que actúa como transportador de grupos acilo en reacciones enzimáticas de síntesis y oxidación de los ácidos grasos y en la oxidación del piruvato. Se conoce su actividad en gran número de reacciones metabólicas. Su carencia produce dermatitis, anemia, despigmentación y retraso en el crecimiento.
5. *Vitamina B₆*. La *piridoxina* la sintetizan levaduras y vegetales que la almacenan en las hojas verdes. Los animales la acumulan en el hígado. Las formas coenzimáticas activas de la piridoxina son el *fosfato de piridoxal* y el *fosfato de piridoxamina*. Interviene en la formación de niacina a partir de triptófano por lo que su deficiencia se confunde con los síntomas carenciales de la vitamina B₅. El fosfato de piridoxina es una coenzima de enzimas transferasas que intervienen en el metabolismo de los aminoácidos. Su déficit provoca anemia y trastornos nerviosos como alteraciones del sueño, depresión e irritabilidad.
6. *Acido fólico (B₉)*. Identificada por primera vez en hojas de espinacas (de ahí su nombre *folium*: hoja) se conoce también como *folacina* o *folato*. Se encuentra en variedad de alimentos como hígado, riñón, huevos, leche, alimentos obtenidos por fermentación de levaduras, partes verdes de los vegetales y semillas. El síntoma bioquímico más sobresaliente de su deficiencia es el impedimento de la síntesis de las purinas y de la timina, ya que el ácido fólico es una coenzima de enzimas transferasas de grupos monocarbonados que actúan en

éstas y otras rutas biosintéticas. Su deficiencia en mamíferos provoca diversas formas de anemia y disminución del crecimiento.

7. **Cobalamina (B_{12}) o cianocobalamina.** Está formada por un anillo porfirínico asociado a un átomo de Co y por un ribonucleótido. Sólo pueden sintetizarla ciertos microorganismos y los animales la obtienen gracias a bacterias simbiotes del tracto digestivo. Es una coenzima de enzimas transferasas de grupos metilo que intervienen en la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos. Participa en la eritropoyesis junto al ácido fólico. Su carencia provoca la *anemia perniciosa* debida a anomalías en la formación de los glóbulos rojos. Sin embargo, esta anemia no es sólo el resultado de una deficiencia en cobalamina en la dieta. Está motivada por la incapacidad del paciente para absorber la vitamina B_{12} de los alimentos ingeridos, por falta de una glucoproteína específica del jugo gástrico (*factor intrínseco*).
8. **Biotina o vitamina H.** Los animales la obtienen a través de la pared del intestino cuya flora bacteriana la produce. Es un coenzima de enzimas transferasas de grupos carboxilo y actúa en el metabolismo de glúcidos, lípidos y proteínas. Su déficit produce dermatitis, dolores musculares, anemia, depresión, etc.

- **Vitamina C (Ácido ascórbico).** Se sintetiza a partir de glucosa y otros precursores sencillos en los vegetales y en la mayoría de los animales (se precisa en la dieta del hombre, los monos, algunos peces y otros vertebrados). No está presente en microorganismos y es abundante en cítricos, hortalizas y leche de vaca. Actúa como cofactor en reacciones de hidroxilación como la hidroxilación de la prolina a hidroxiprolina. Participa en la síntesis de colágeno de los tejidos reticulares y en la formación de la matriz intercelular y se ha comprobado su acción reguladora de las hormonas antiestrés.

Su carencia provoca un cuadro de síntomas denominado *escorbuto* caracterizado por abundantes hemorragias, encías sangrantes, caída de dientes y trastornos digestivos. Todo ello favorece la aparición de infecciones pudiendo ocasionar la muerte. Aunque los síntomas del escorbuto pueden eliminarse en el hombre con una dosis diaria de 20 mg de ácido ascórbico, parece que puedan necesitarse dosis mayores para una correcta función fisiológica.

5.2.- Vitaminas liposolubles

Son compuestos isoprenoides que presentan las características de las moléculas lipídicas. Aunque han sido ampliamente empleadas en la nutrición humana, su función biológica es menos conocida que la de las vitaminas hidrosolubles. No actúan como componentes de las coenzimas pero desempeñan otras funciones importantes. No se

absorben ni se excretan fácilmente. Se almacenan en el hígado y su exceso puede resultar tóxico (en particular la A y la D).

1. *Vitamina A* (antixeroftálmica). Su molécula es un diterpeno que aparece en dos formas: *vitamina A₁* o *retinol* (forma más frecuente en tejidos de mamíferos y peces marinos) y *vitamina A₂* o *retinol₂* (en peces de agua dulce). Se encuentra en vegetales que contengan carotenos (el β -caroteno es un precursor que rinde dos moléculas de retinol). El retinol se encuentra en los huevos, la leche de vaca y los tejidos de mamíferos. Es transportado por la sangre en forma de ésteres de los ácidos grasos de cadena larga y se almacena en el hígado, por lo que este órgano es fuente de vitamina A. Se conoce su acción protectora de tejidos epiteliales (piel, mucosas) y es necesaria para la percepción de la luz ya que de ella deriva el retinal que interviene en ciclo visual de las células bastoncillo de la retina. Su deficiencia causa el debilitamiento de los tejidos epiteliales que se hacen vulnerables a las infecciones y da lugar a un empobrecimiento en la cantidad de retinal con pérdida de la agudeza visual y ceguera nocturna. En lactantes y niños pequeños el estado patológico conocido como *xeroftalmia* ("ojos secos") es un síntoma temprano de esta deficiencia debido a un engrosamiento y opacidad de la córnea. El exceso de vitamina A ocasiona alteraciones como escamación de la piel, debilidad, caída del cabello y vómitos. Tanto la deficiencia como el exceso afecta a todos los tejidos de los mamíferos en particular al tejido conectivo y el óseo. Es posible que desempeñe un papel general en el transporte de Ca^{2+} a través de ciertas membranas por analogía con su papel en las células bastoncillo.
2. *Vitamina D* (antirraquítica). Engloba una serie de esteroides: las vitaminas D₂, D₃, D₄, D₅ y D₆. Las más importantes son la vitamina D₂ o *calciferol* y la vitamina D₃ o *colecalfiferol* (forma corriente en los mamíferos) que se obtienen a partir de provitaminas por la acción de los rayos UV. En el hombre existen tres vías de obtención: por ingestión de alimentos ricos en ella (extractos de hígado, leche, huevos, arenque, salmón, sardina); por ingestión de *ergosterol* (provitamina de origen vegetal que se transforma en la piel en vitamina D₂) y a partir del *7-deshidrocolesterol* (derivado del colesterol que se transforma en la piel en vitamina D₃). La vitamina D se transforma en los riñones en la hormona *1,25-dihidroxicolecalciferol* se transporta por vía sanguínea hasta los órganos diana: el intestino, donde regula la absorción del Ca^{2+} y los huesos participando en la estabilidad y formación ósea. Su déficit origina *raquitismo* en los niños y *osteomalacia* en adultos, enfermedades que producen una defectuosa calcificación ósea (los huesos se ablandan y deforman). Su exceso provoca trastornos digestivos (vómitos, diarreas) y calcificaciones de órganos (riñón, corazón, hígado).

3. *Vitamina E* (antiestéril), *tocoferol* o *vitamina restauradora de la fertilidad*. Se reconoció por primera vez como un factor presente en aceites vegetales que restauraban la fertilidad de ratas alimentadas exclusivamente con leche de vaca. Su acción antiestéril no se ha comprobado en el hombre. Agrupa una serie de moléculas similares entre las que el α -*tocoferol* es la más activa y abundante. Se encuentra en alimentos de origen vegetal, principalmente en los de hoja verde, en aceites vegetales, semillas y yema de huevo. Los tocoferoles poseen actividad antioxidante, es decir que impiden la auto-oxidación de los ácidos grasos muy insaturados (vitaminas A, fosfoaminolípidos, etc.) cuando se hallan expuestos al oxígeno molecular. En roedores la hipovitaminosis produce esterilidad, distrofia muscular y parálisis.
4. *Vitamina K* (antihemorrágica) o *filoquinona*. Incluye las vitaminas K₁, K₂, K₃ y K₄. La vitamina K₁ se obtiene de alimentos de hoja verde, la K₂ de derivados del pescado y la K₃ la sintetizan bacterias intestinales. La vitamina K es una coenzima necesaria para la γ -carboxilación de los factores de coagulación II, VII, IX y X que provocan la activación de la cascada de la coagulación sanguínea. La carencia de vitamina K favorece la aparición de hemorragias. Se debe a alteraciones en la absorción intestinal causada generalmente por déficit de los ácidos biliares encargados de favorecer la absorción de lípidos en el intestino.

BIBLIOGRAFÍA

- AYALA, F.J. y KIGER, J.A. *Genética Moderna*. Omega. Barcelona, 1984.
- BENITO, C. *360 problemas de Genética*. Síntesis. Madrid, 1999.
- GRIFFITHS, A.J.F. y col. *Modern Genetic Analysis*. Freeman. New York, 1999.
- MANSON, A. *Lo esencial en célula y genética*. Elsevier. Madrid, 2003.
- PANIAGUA, R. y col. *Biología celular*. McGraw-Hill. Madrid, 2003.