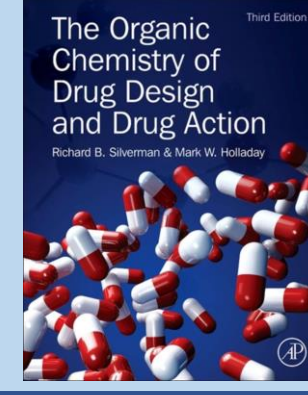




OBJETIVOS

1. Conocer las reacciones en el carbono α de aminoácidos en las que se ve implicado el PLP
2. Profundizar en los mecanismos existentes de inhibición de este cofactor, fármacos y enzimas sobre los que esos mecanismos se aplican.
3. Explorar brevemente la estructura de estas enzimas y su relación con el PLP y los inhibidores.



METODOLOGÍA: Revisión Bibliográfica

PLOS ONE Future Medicine

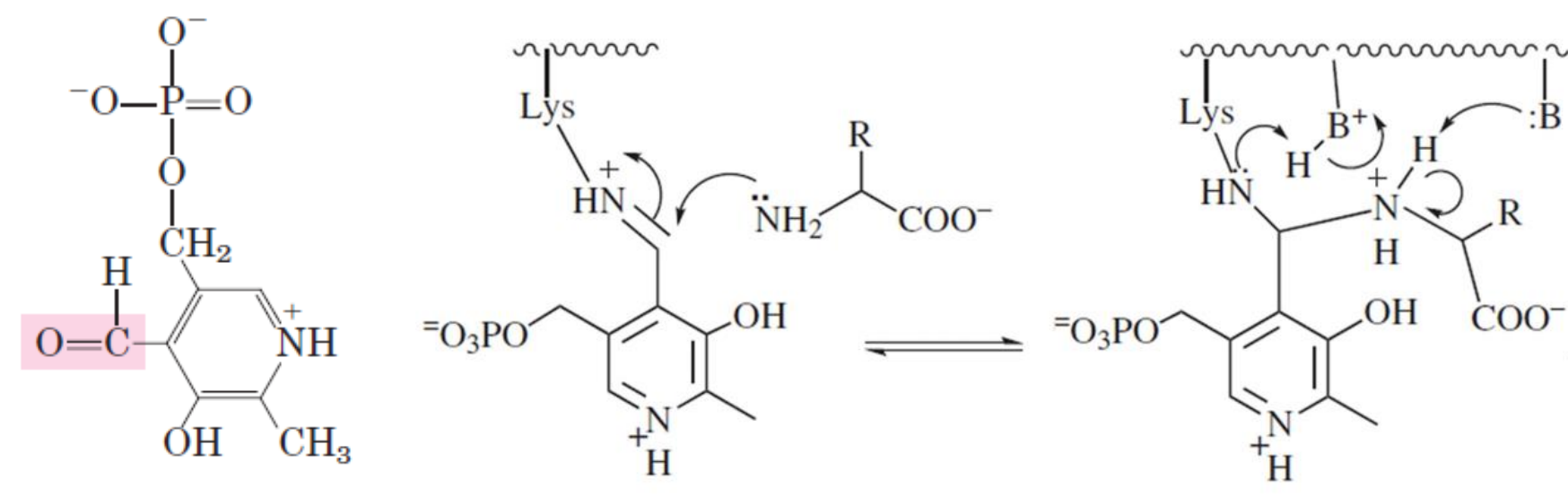
PublMed FASEB JBC JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY

NCBI The FEBS Journal

BIBLIOGRAFÍA

INTRODUCCIÓN

El piridoxal-5'-fosfato o PLP se trata de una molécula ubicua que participa como cofactor en un gran número de enzimas y cataliza una amplia gama de reacciones, entre ellas la reactividad del carbono α de aminoácidos.



Transaminasas:
Catalizan reacciones Ping-Pong. En la primera fase usa un aminoácido y da lugar a un α -cetoácido junto con la piridoxamina fosfato (PMP). En la segunda regenera el enzima mediante un segundo α -cetoácido.

Mecanismo inicial en la reactividad del C α de aminoácidos

- 1 $^\circ$ Formación de una imina o base de Schiff (**aldimina interna**)
- 2 $^\circ$ **Transaldiminación** Formación de una segunda base de Schiff (**aldimina externa**)

Racemasas:

Permiten la conversión entre los **enantiómeros** de un aminoácido. El punto clave de la racemización se encuentra en la **reprotonación** en el carbono α del quinonoide.

3 $^\circ$ Quinonoide:

A partir de este punto inician las diferentes rutas metabólicas. Formándose diferentes intermedios en función del enzima.

Descarboxilasas:

Proceso en el que se elimina, irreversiblemente, una molécula de **CO₂** del intermedio quinonoide (**α -descarboxilación**) y termina con la formación de una amina.

Formación (carbono α)

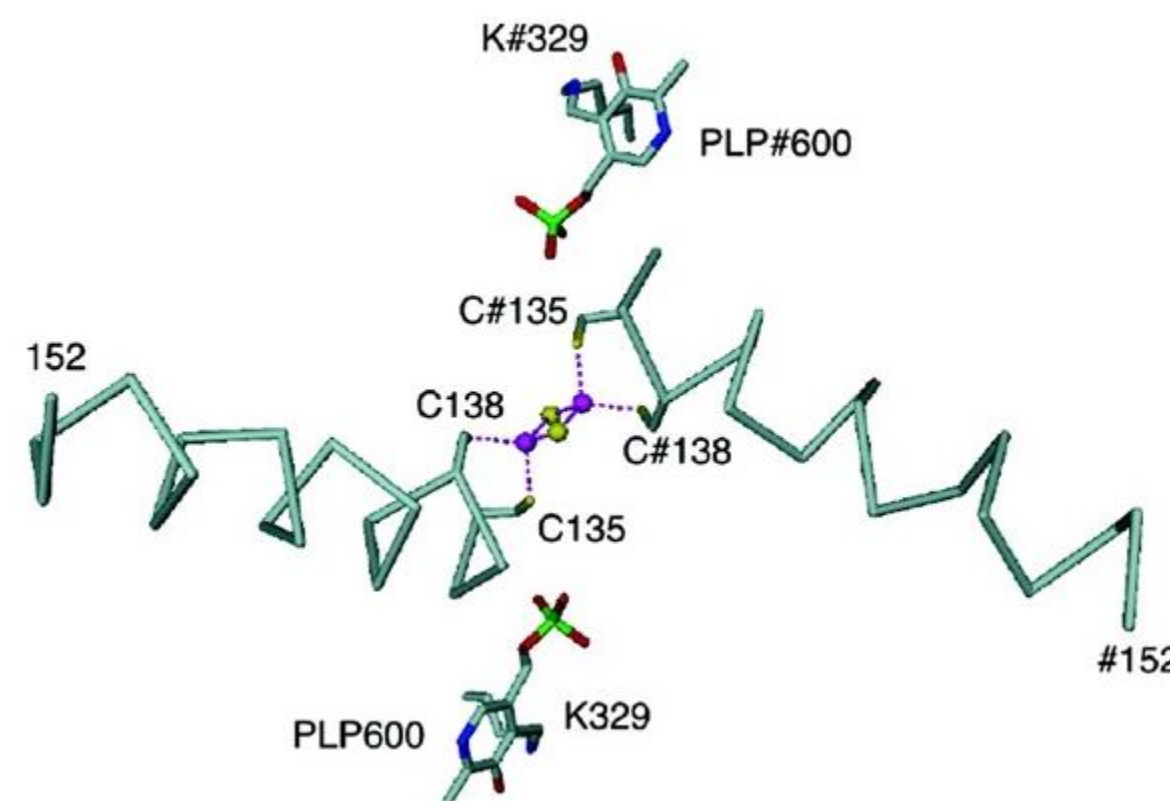
- **Transaminasas y Racemasas:** Abstracción de un H⁺
- **Descarboxilasas:** Eliminación de CO₂

RESULTADOS

TRANSAMINASAS: GABA-aminotransferasa

Detalles estructurales:

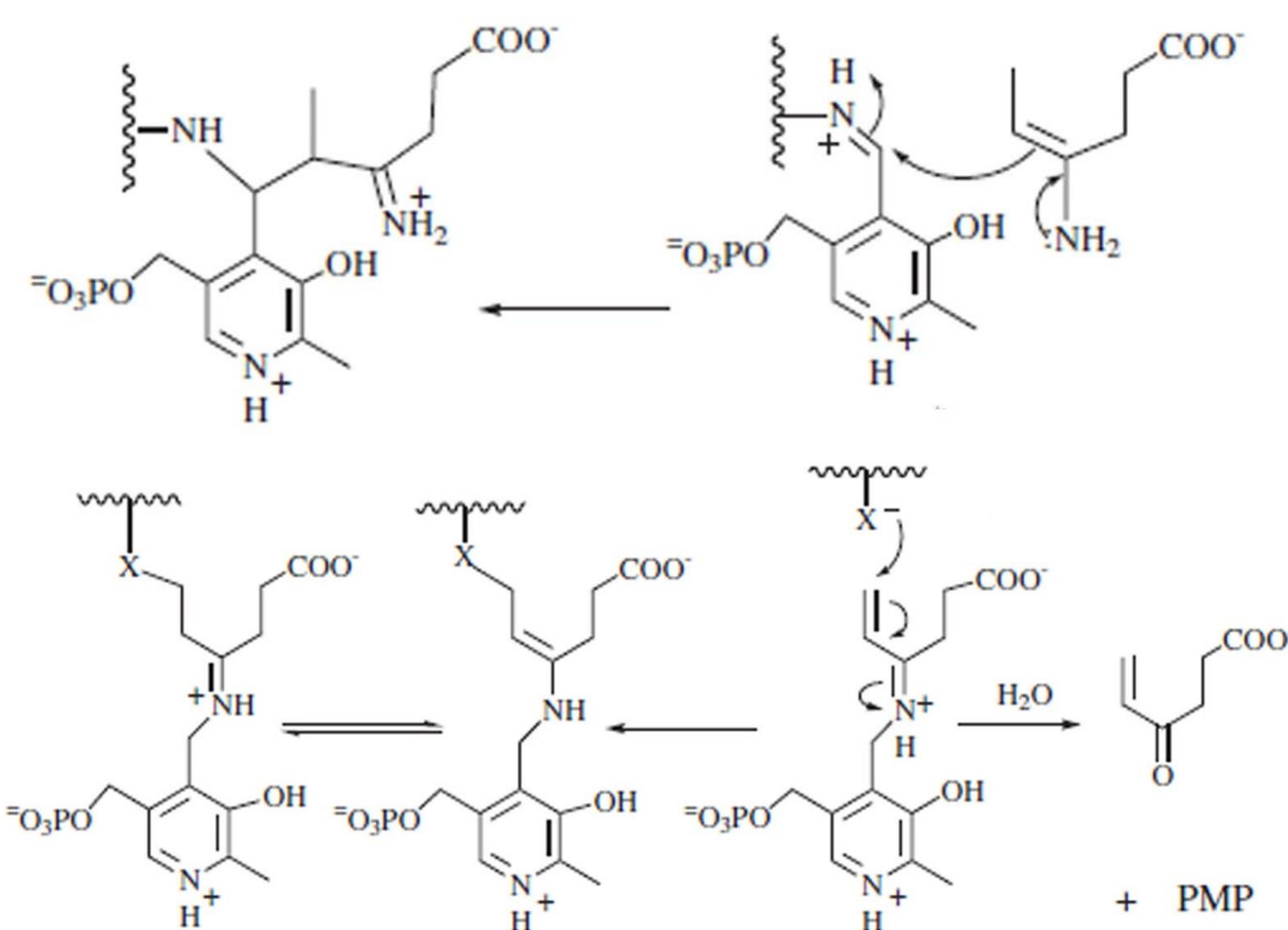
- **Homodímero:** Utiliza dos moléculas PLP
- **Formación de la aldimina interna:** Lys329
- **Otros residuos:** Arg192 posiblemente implicación en unión al grupo carboxilo del GABA. Cys135 y Cys138 formación del complejo [2Fe-2S] y unión de las subunidades del homodímero.



Inhibidores que actúan sobre la PLP:

VIGABATRINA

- Se trata de un análogo estructural del GABA (sustituyente vinilo). Tratamiento de la epilepsia y los espasmos infantiles.
- **30% de la inactivación:** isomerización alílica inicial y ataque del grupo alilo a la aldimina interna. Formación de un aducto Enzima-Inhibidor irreversible.
 - **70% de la inactivación:** Reacción Ping-Pong y formación de PMP
 - **Ramificación:** adición conjugada y formación de un aducto Enzima-Inhibidor.

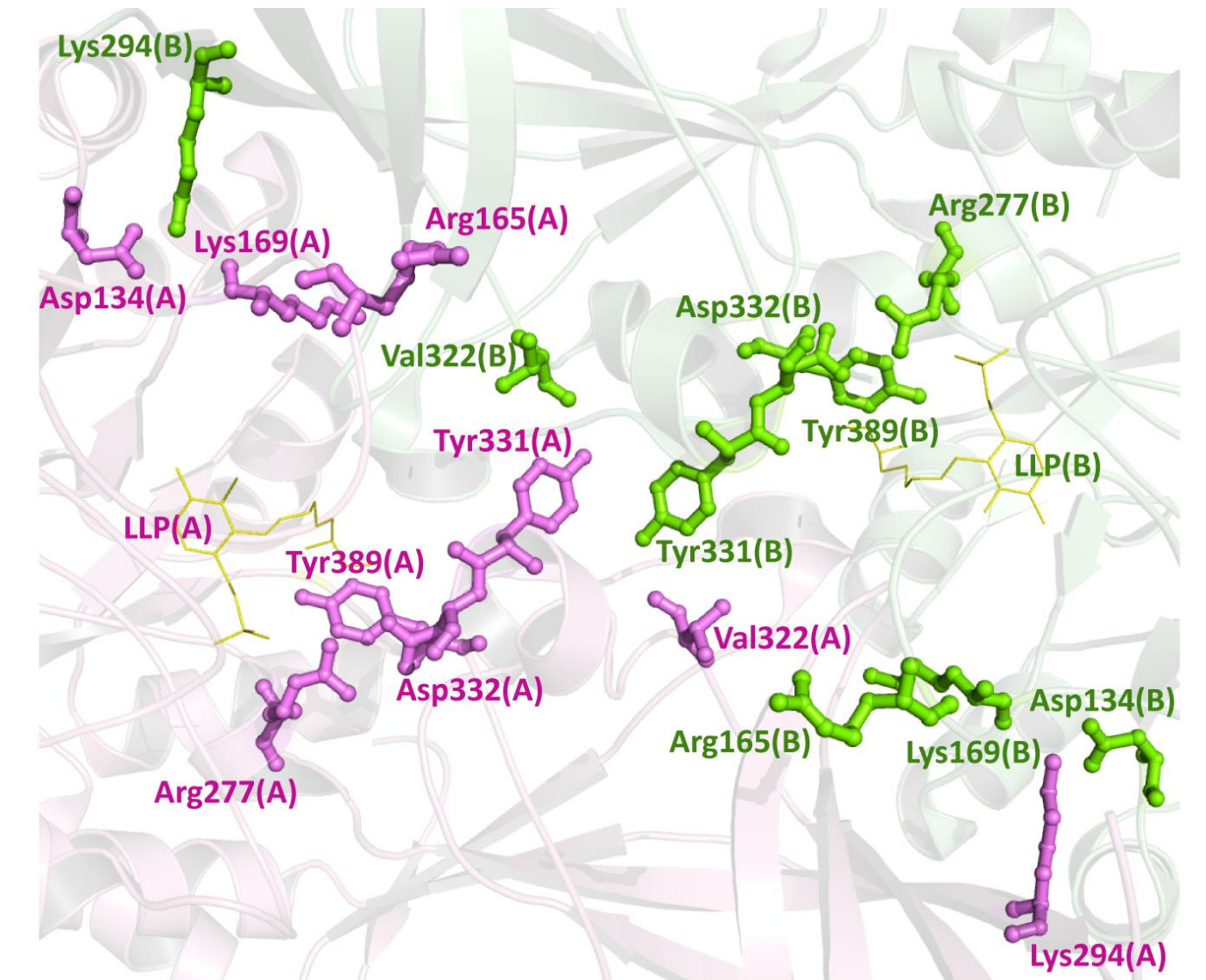


DESCARBOXILASAS:

Ornitina descarboxilasa

Detalles estructurales:

- **Homodímero:** Los centros activos residen en la interfaz del enzima. Los dominios N-terminal, interaccionan con el PLP, y los dominios C-terminal involucran la unión al sustrato.
- **Formación del dímero:** Tyr331 y Val322 (interacciones hidrofóbicas), Asp134, Lys169 y Lys294 (atracción electrostática e interacciones iónicas).
- **catálisis enzimática** Arg277 y Tyr389 (mutación: pérdida directa). Tyr331 y Val322 (mutación: disminución de la actividad)

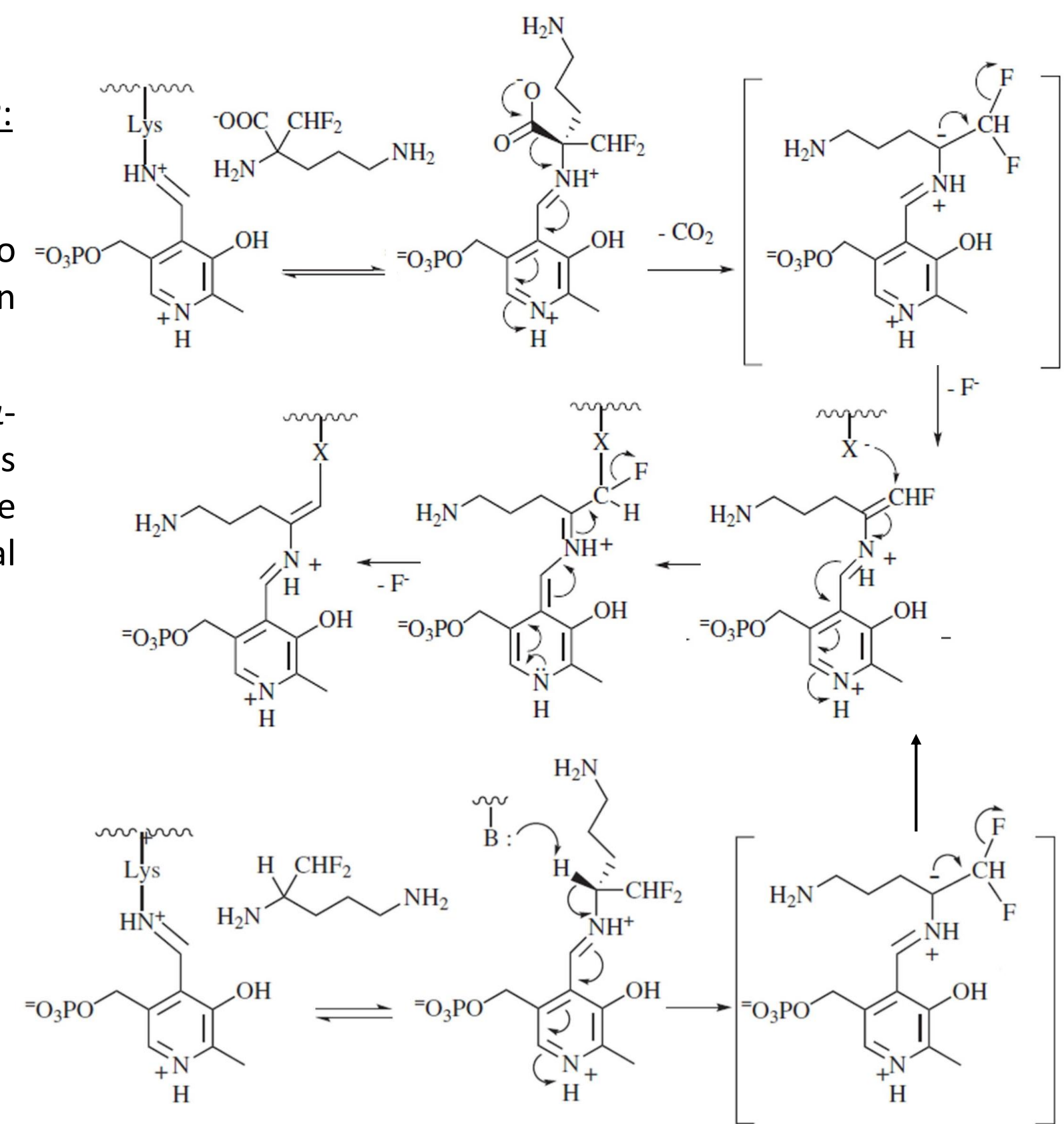


Inhibidores que actúan sobre la PLP:

EFLORNITINA

La Eflornitina es un derivado difluorometilado de la ornitina con actividad antineoplásica

Inhibe la enzima mediante una α -descarboxilación y dos sustituciones nucleofílicas internas (escisión de los átomos de fluor) dando lugar al complejo inactivador del enzima.



α -DIFLUOROMETILPUTRESCINA

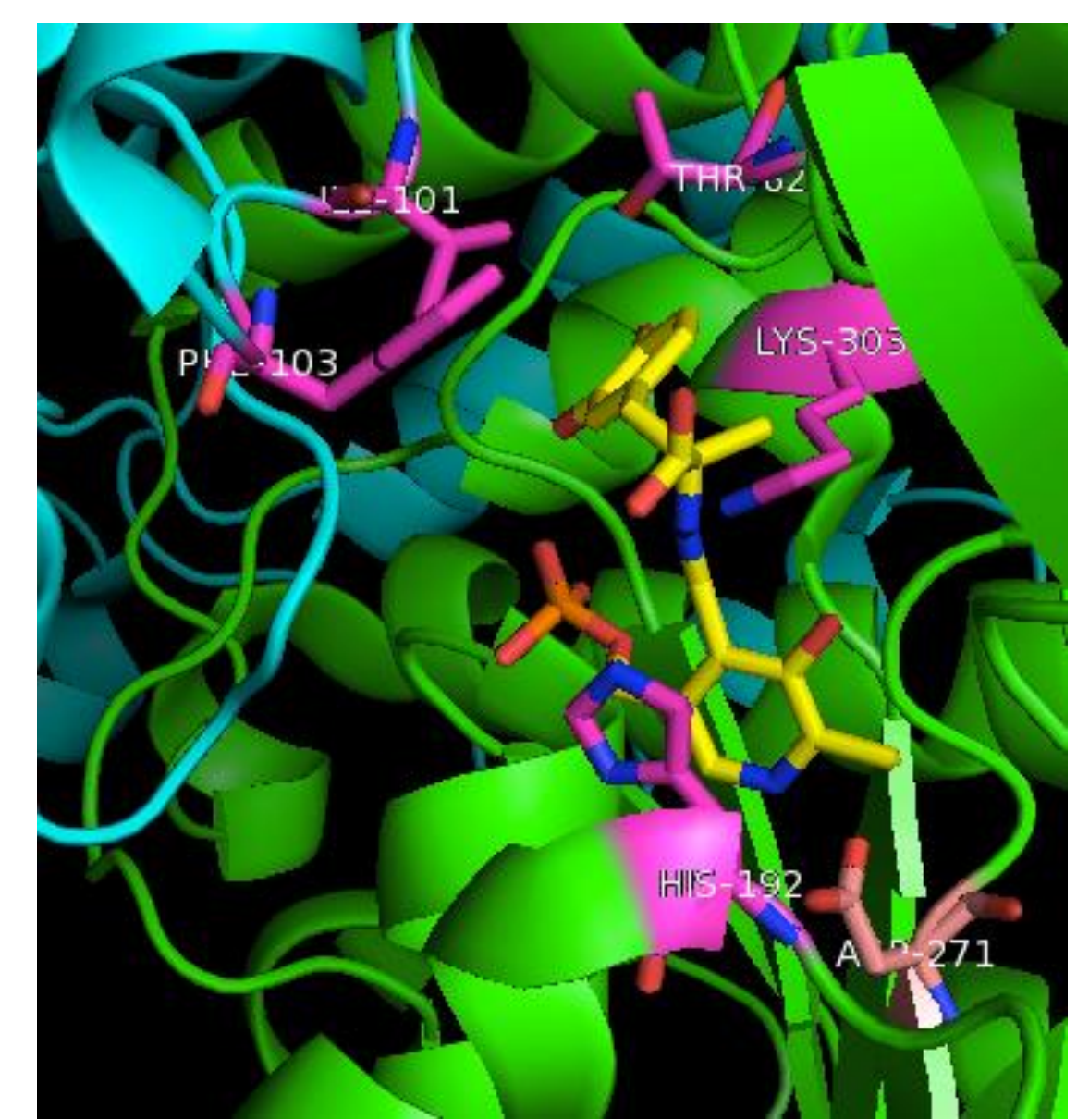
Es un análogo de la putrescina.

Al contrario que la eflornitina no sufre la reacción de α -descarboxilación, se obteniéndose directamente la estructura resonante, y forma el complejo inhibidor de forma idéntica a la eflornitina.

DOPA descarboxilasa:

Detalles estructurales:

- **Homodímero:** el centro activo se encuentra inmerso en la parte central. Cada monómero cuenta con una estructura exclusiva en el dominio N-terminal.
- **Formación de la aldimina interna:** Lys303
- **Otros residuos:** His302 y His192 anclan el cofactor a la enzima. (interacción de apilamiento con PLP y unión al cofactor) Motivo Asp-X-Ala que interactúa con el anillo del PLP (hidrofobia del centro activo). Ser193 y Thr82 interactúan con el 3'O del PLP. Asp271 el cual forma un enlace iónico con el NH⁺ - Pyr del PLP.



Inhibidores que actúan sobre la PLP:

CARBIDOPA y BENSERAZIDA

Son derivados de hidrazina aromáticos utilizados en el tratamiento del Parkinson.

- **Carbidopa:** acción directa sobre la enzima
- **Benserazida:** profármaco, la responsable de la inhibición enzimática es la **trihidroxibencilhidrazina**.

Carbidopa y trihidroxibencilhidrazina forman un enlace hidrazona con el PLP inhibiendo irreversiblemente la enzima.

Particularmente la carbidopa enterra el anillo catecol en la hendidura del sitio activo, quedando estabilizado con Thr82 (puente de hidrogeno) y con Ile101 y Phe103 (fuerzas de van der Waals)

CONCLUSIONES

- El PLP es un cofactor **imprescindible** del organismo y **diana** de múltiples tratamientos.
- Las **características estructurales** de las enzimas **definen como van a interactuar** el cofactor, los sustratos endógenos y los inhibidores.
- Las cuatro enzimas son **homodímeros**.
- **GABA-T, Alr y ODC** utilizan **dos moléculas de PLP** como cofactores.
- **GABA-T, Alr y DDC.** Tienen el **residuo de Lys** (aldimina interna) definido.
- La **reactividad en el C α** de aminoácidos se desarrolla como una **secuencia ramificada con múltiples puntos en común**
- **Vigabatrina, eflornitina, α -difluorometilputrescina, carbidopa y benserazida** forman un **complejo ternario** Enzima-Inhibidor-Cofactor.
- **D-cicloserina y vigabatrina** forman un **aducto inhibidor-Cofactor**. Siendo la Vigabatrina la única en llevar a cabo el mecanismo endógeno completo en presencia del inhibidor.