

# UNIVERSIDADE ESTADUAL DE RORAIMA

## CURSO DE MEDICINA

Disciplina: Bioquímica

### MÓDULO 1: Biomoléculas

## AULA 2

# ENZIMAS, CINÉTICA ENZIMÁTICA E SUAS APLICAÇÕES NO DIAGNÓSTICO CLÍNICO

**Prof. Higo Nasser S. Moreira**

**Doctor Scientiae em Bioquímica Aplicada**

**Universidade Federal de Viçosa – Brasil**

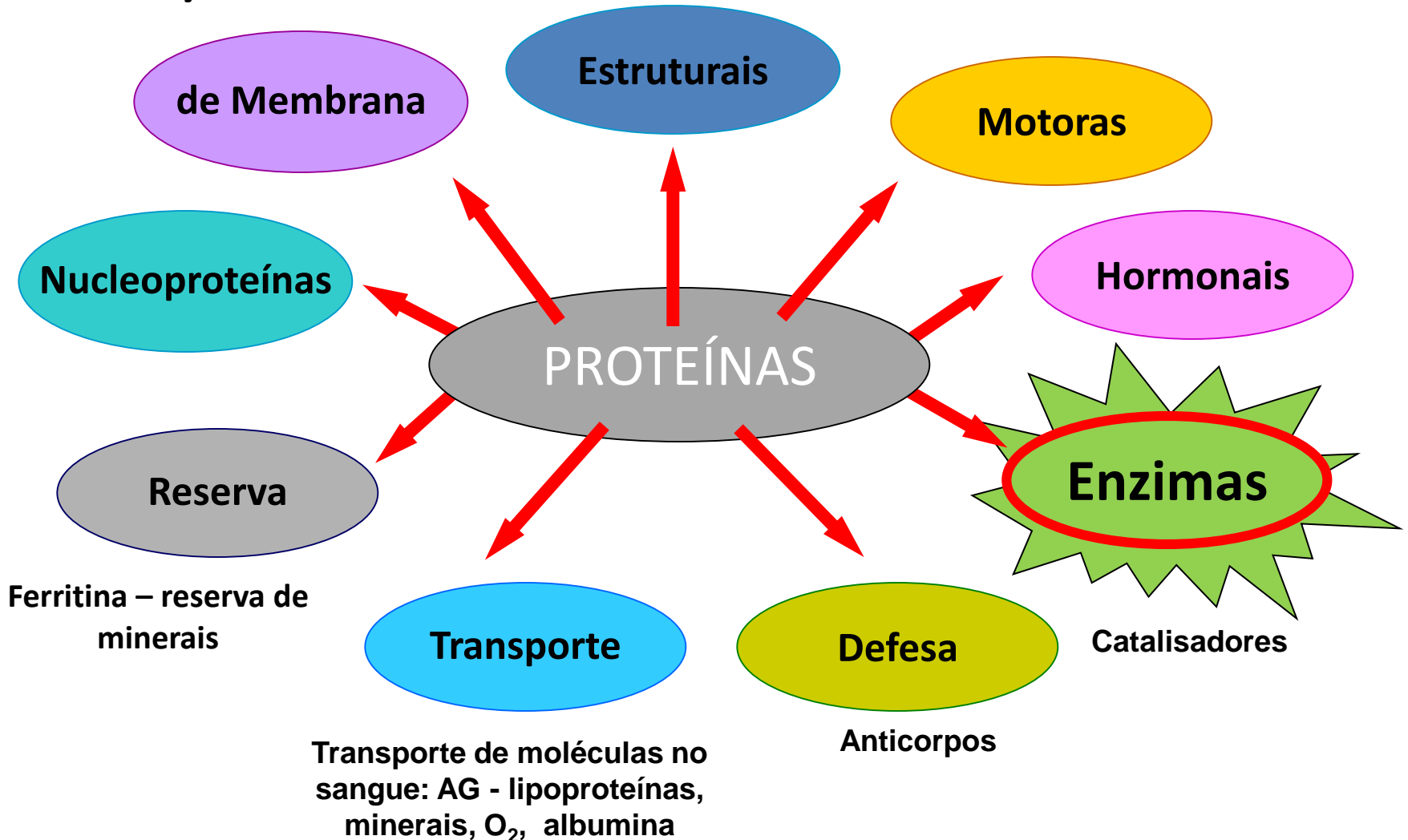
**Docente do Curso de Medicina da Universidade Estadual de Roraima**

**Boa Vista – Roraima**

# FUNÇÕES DAS PROTEÍNAS

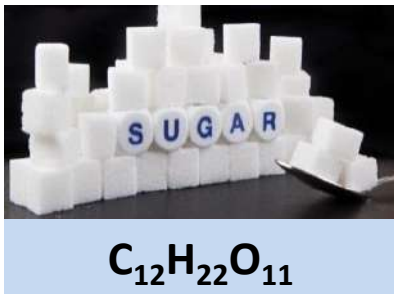
Transportadores transmembranas:  
canais iônicos, transp. de elétrons,  
transdução de sinais

Centríolos – actina, miosina, troponina.  
Túbulos - ancorina



# 1. ENZIMAS: FUNDAMENTOS

- ✓ Enzimas são biocatalisadores - substâncias de origem biológica (proteínas ou RNA) que aumentam a velocidade das reações químicas
- ✓ Quase todas as enzimas são proteínas. Alguns RNAs apresentam atividade catalítica (SNRNAs catalisam o processo de splicing alternativo)

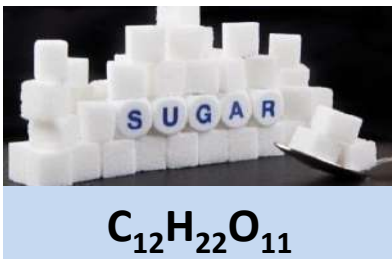


sem  
enzimas

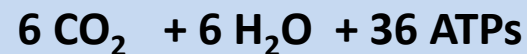


NÃO HÁ  
REAÇÃO

$\Delta G^{\circ} = - 2840 \text{ kJ/mol}$

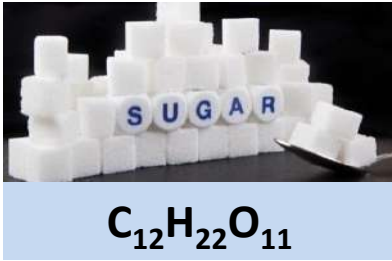


com  
enzimas

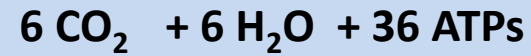


$\Delta G^{\circ} = - 2840 \text{ kJ/mol}$

# 1. ENZIMAS: FUNDAMENTOS



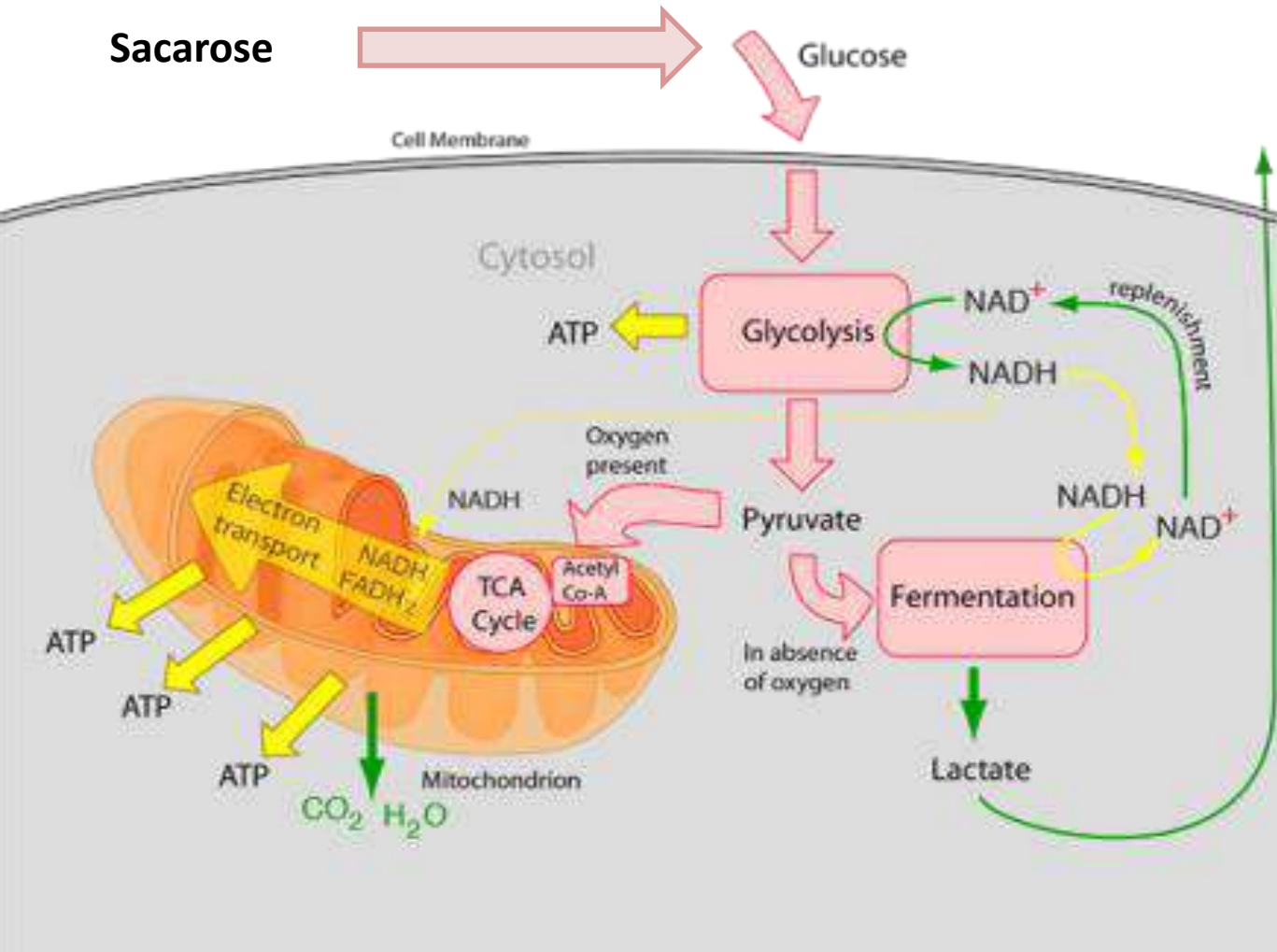
com  
enzimas



$\Delta G^\circ = -2840 \text{ kJ/mol}$

Sacarose

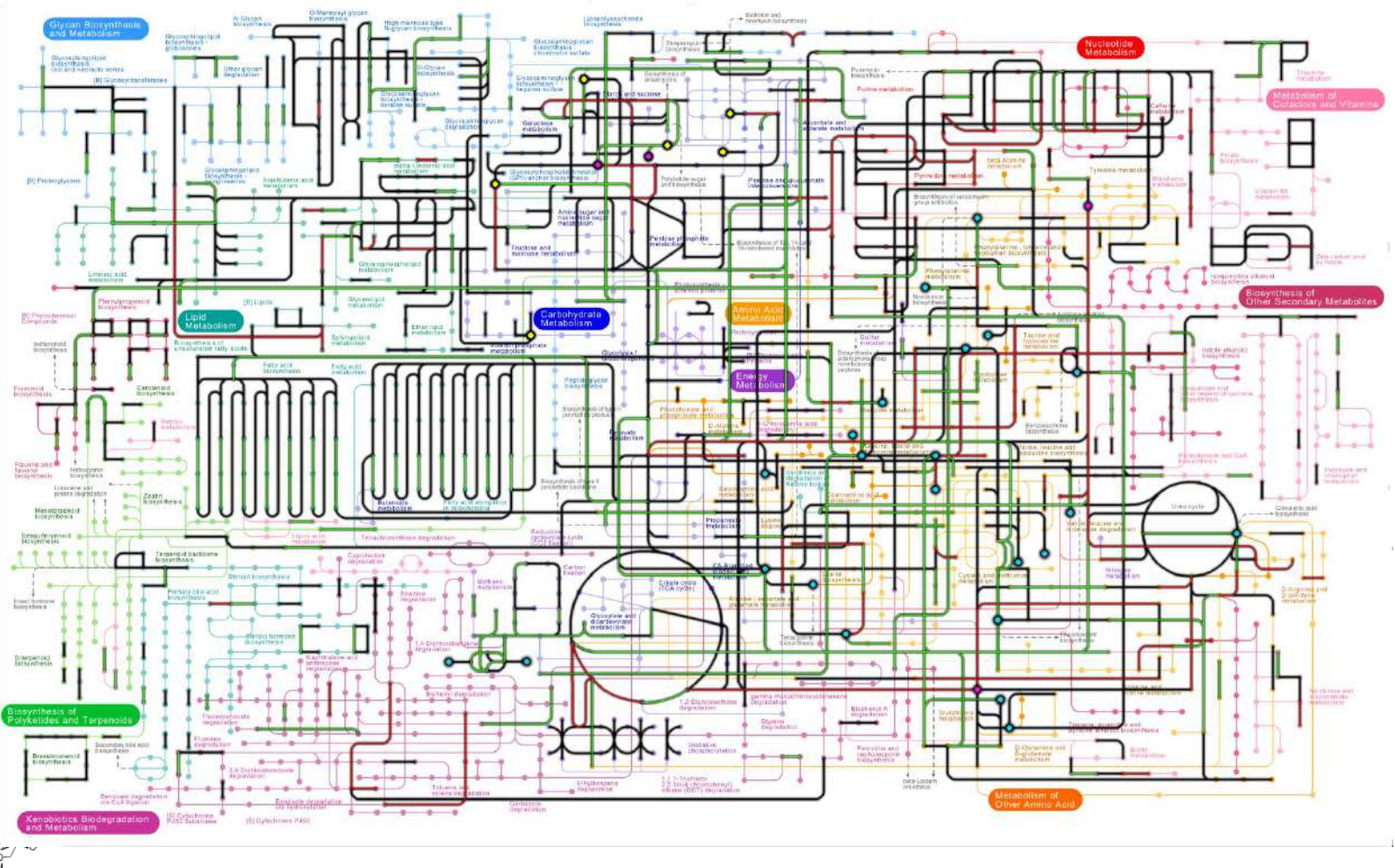
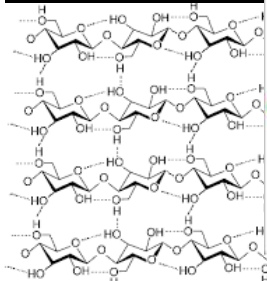
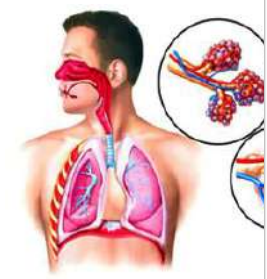
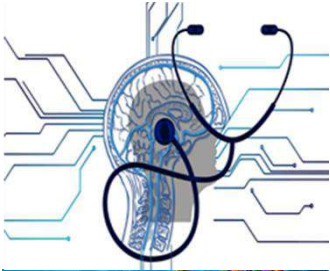
Glucose

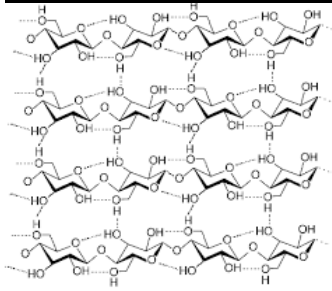
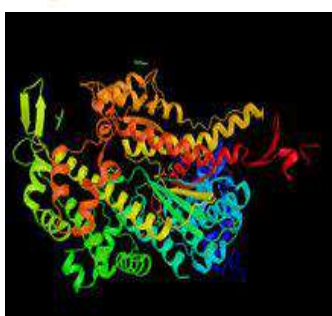
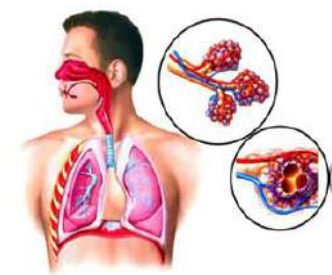
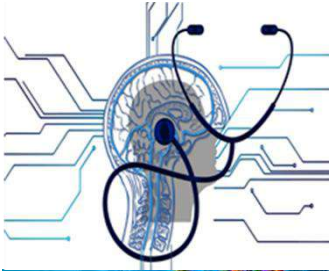




# 1. ENZIMAS: FUNDAMENTOS

- ✓ ENZIMAS (e seus respectivos controles de taxas de expressão e controle alostérico) são responsáveis por organizar uma sequência coordenada de reações metabólicas.



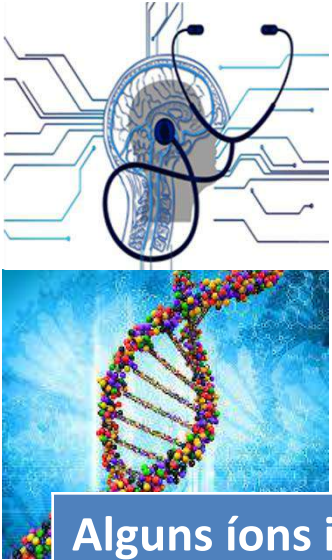


## ATIVIDADE ENZIMÁTICA

- ✓ Enzimas podem aumentar a velocidade de uma reação biológica em uma ordem de  $10^{17}$  vezes.

### Aumento da velocidade de reações catalisadas por enzimas

Ciclofilina	$10^5$
Anidrase carbônica	$10^7$
Triose-fosfato isomerase	$10^9$
Carboxipeptidase A	$10^{12}$
Fosfoglicerato cinase	$10^{13}$
Succinil-CoA transferase	$10^{14}$
Orotidina monofosfato descarboxilase	$10^{17}$

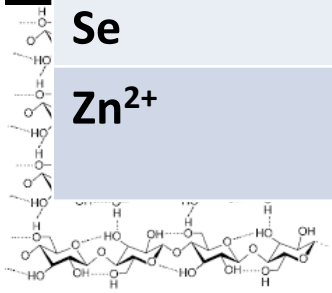


## COFATORES

- ✓ Algumas enzimas requerem cofatores para sua atividade
- ✓ Se o componente não protéico for um íon metálico, como  $\text{Zn}^{2+}$  ou  $\text{Fe}^{2+}$ , é chamado de COFATOR

### Alguns íons inorgânicos que servem como cofatores enzimáticos

$\text{Cu}^{2+}$	Citocromo oxidase
$\text{Fe}^{2+}$ ou $\text{Fe}^{3+}$	Citocromo oxidase, catalase, peroxidase
$\text{K}^{+}$	Piruvato cinase
$\text{Mg}^{2+}$	Hexocinase, glucose 6-fosfatase, piruvato cinase
$\text{Mn}^{2+}$	Arginase, ribonucleotídeo redutase
Mo	Dinitrogenase
$\text{Ni}^{2+}$	Urease
Se	Glutathiona peroxidase
$\text{Zn}^{2+}$	Anidrase carbonica, Álcool desidrigenase, Carboxipeptidase A e B



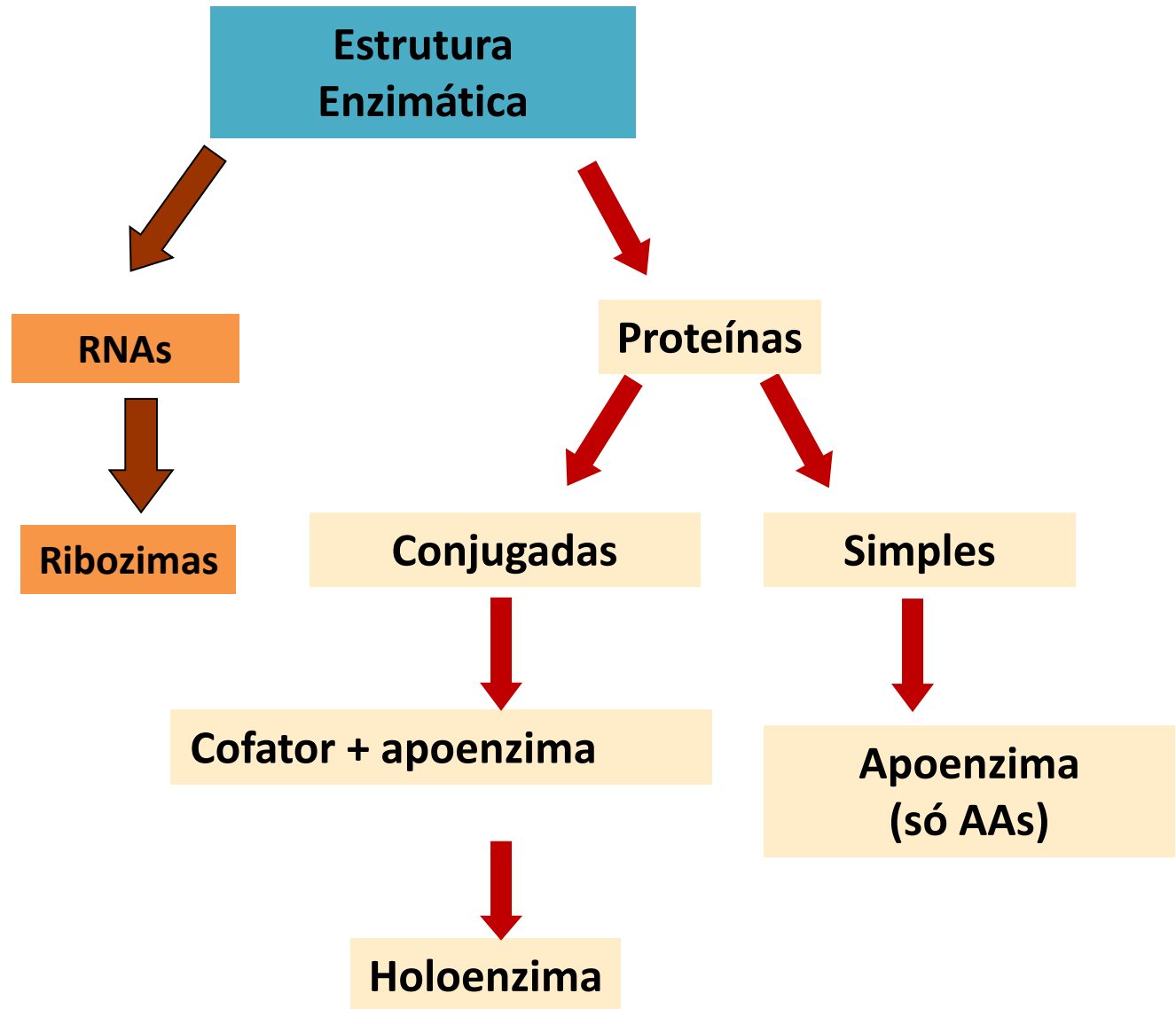
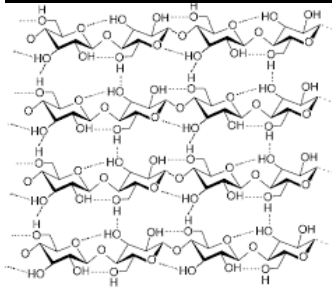
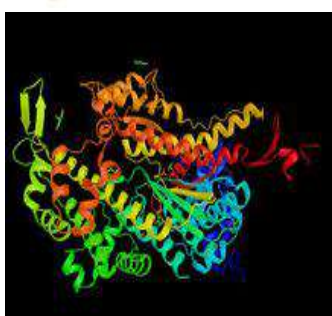
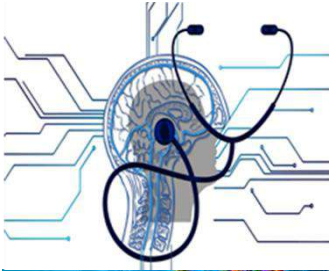


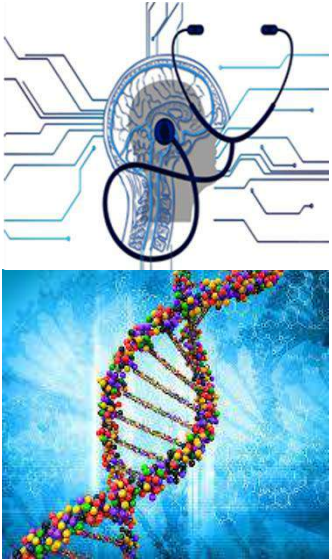
# COENZIMAS

✓ Se a parte não protéica for um composto orgânico, será chamado de COENZIMA.

Coenzima	Grupo químico transferido	Precursor em mamíferos (dieta)
Biocitina	CO <sub>2</sub>	Biotina
Coenzima A	Grupos Acil	Ácido pantotênico
Coenzima B <sub>12</sub>	Átomos de H e grupos Acil	Vitamina B <sub>12</sub>
Flavina adenina dinucleotídeo	Elétrons	Riboflavina (Vitamina B <sub>2</sub> )
Lipoato	Elétrons e grupos acil	Não requerido na dieta
Nicotinamida adenina dinucleotídeo	Hidreto (:H <sup>-</sup> )	Niacina
Piridoxal fosfato	Grupo Amino	Piridoxina (vitamina B <sub>6</sub> )
Tetraidrofolato	Grupo metil	Folato
Tiamina pirofosfato	Grupo Aldeído	Tiamina (Vitamina B <sub>1</sub> )

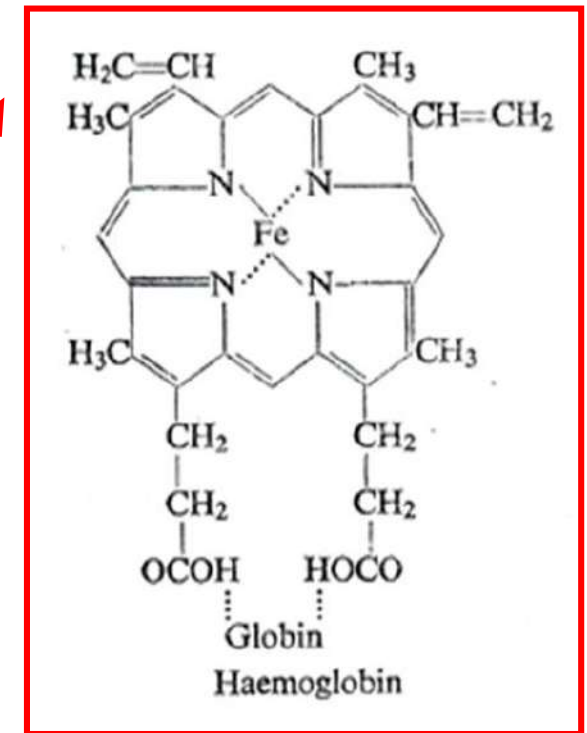
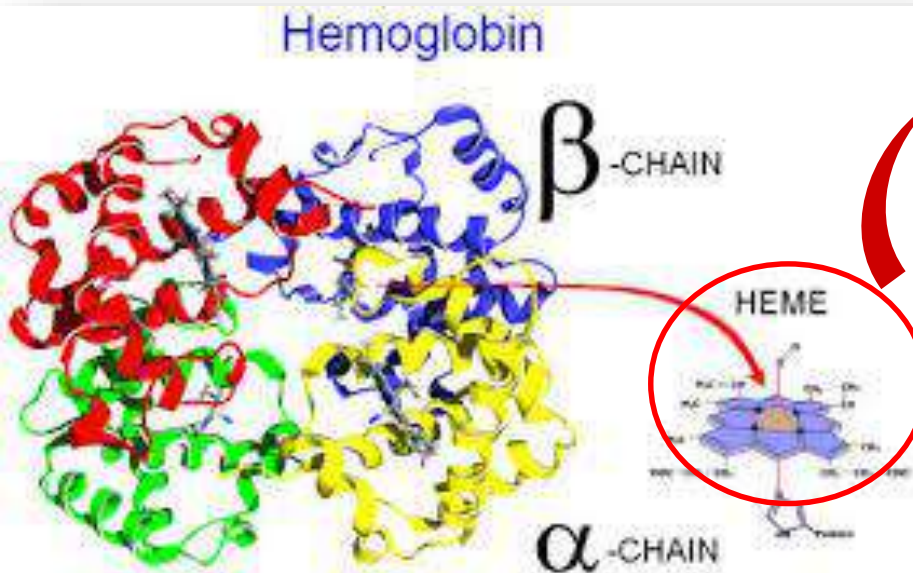




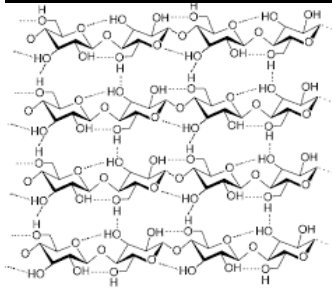
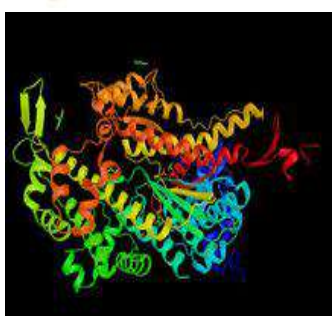
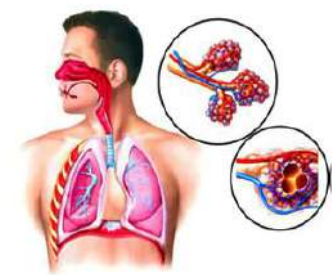
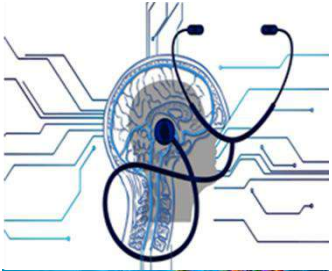


## GRUPOS PROSTÉTICOS

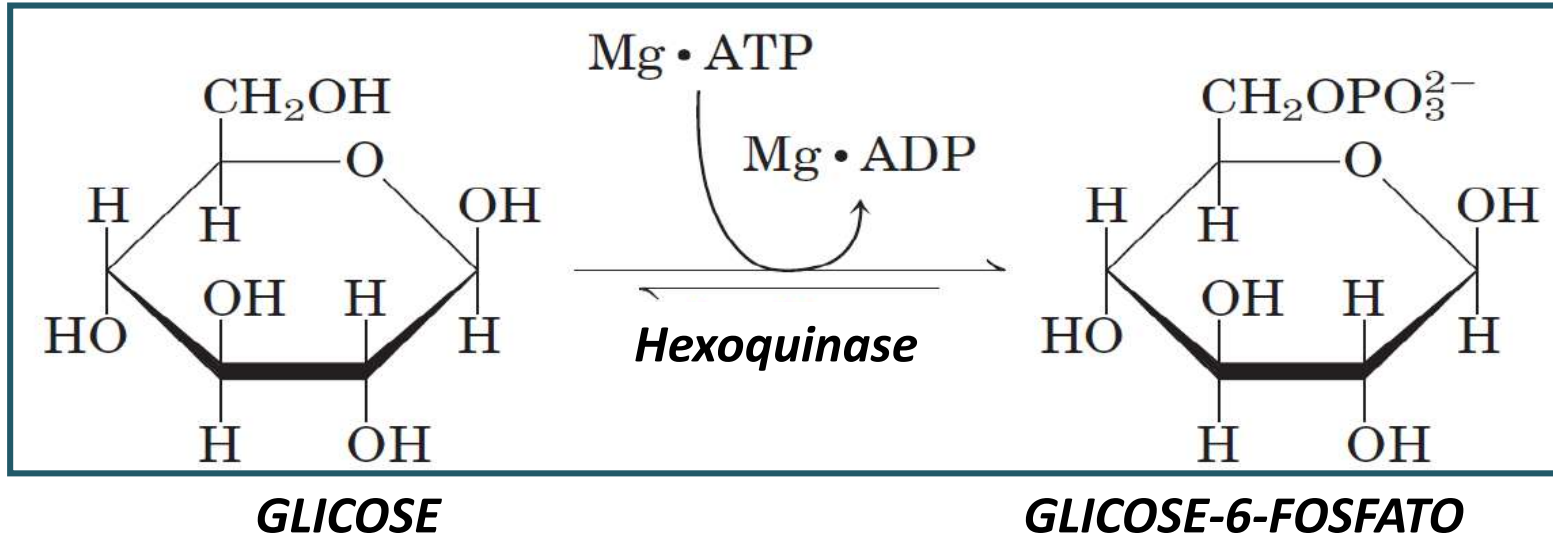
- ✓ GRUPOS PROSTÉTICOS são coenzimas ou íons metálicos (cofatores) os quais estão fortemente associados ou mesmo covalentemente ligados à enzima.



**HOLOENZIMA:** Enzima ativa + componente não proteico





## NOMENCLATURA ENZIMÁTICA






# CLASSIFICAÇÃO DAS ENZIMAS (Enzyme Comission – EC)

- 
- ✓ Enzimas com especificidade de EFEITO similares são agrupadas dentro de 1 das principais classes a seguir:



**CLASSE 1 – OXIDO REDUTASES:** catalisam a transferência de equivalentes de redução entre 2 sistemas de oxido-redução. Case sempre requerem coenzimas.



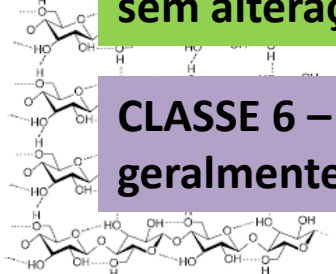
**CLASSE 2 – TRANSFERASE:** Catalisam a transferência de grupamentos químicos entre moléculas. Quase sempre requerem coenzimas.

**CLASSE 3 – HIDROLASES:** Reações de transferência de grupos onde o acceptor final será uma molécula de  $H_2O$ .



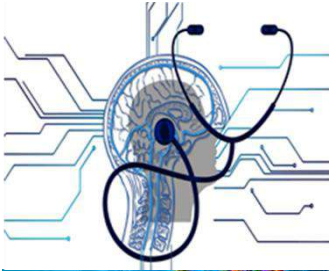
**CLASSE 4 – LIASE ou SINTASE:** Enzimas que catalisam reações de quebra ou formação de novas ligações químicas.

**CLASSE 5 – ISOMERASES:** modificação de grupos dentro de uma mesma molécula, sem alteração da fórmula molecular do substrato.



**CLASSE 6 – LIGASES ou SINTETASES:** Reações de ligação (dependentes de energia), geralmente acopladas à hidrólise de ATP ou GTP.





## CLASSIFICAÇÃO DAS ENZIMAS (Enzyme Comission – EC)

- ✓ Mais de 2.000 tipos diferentes de enzimas são conhecidas.
- ✓ Classificação enzimática: Especificidade de EFEITO e SUBSTRATO.
- ✓ EC number: Cada enzima é identificada por um número de 4 dígitos.

(Lactato-desidrogenase)

EC = 1.1.1.27

CLASSE: 1 óxido-redutase

SUBCLASSE: 1.1. Grupo CH–OH como doador de elétrons;

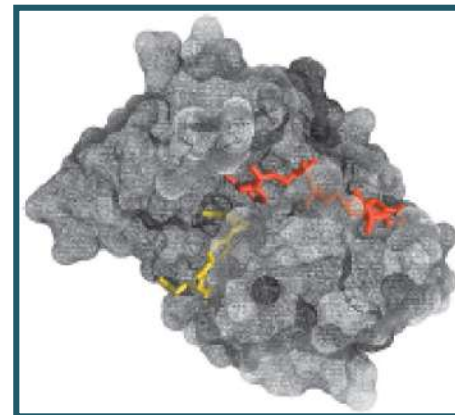
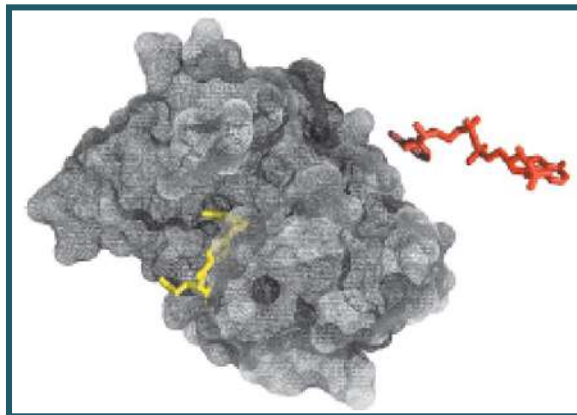
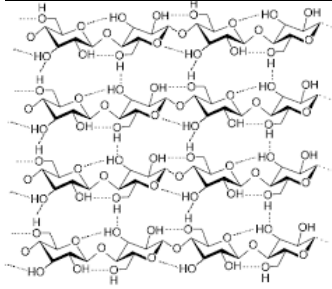
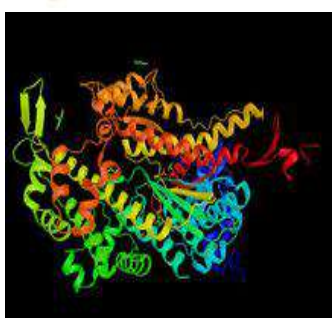
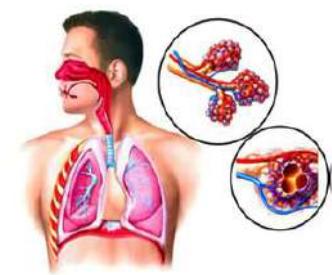
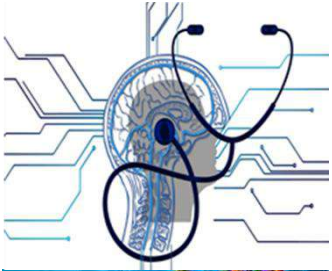
SUB-SUBCLASSE: 1.1.1. NAD(P)+ comoceptor de elétrons;

NÚMERO DA ENZIMA DENTRO DA SUBCLASSE: 27



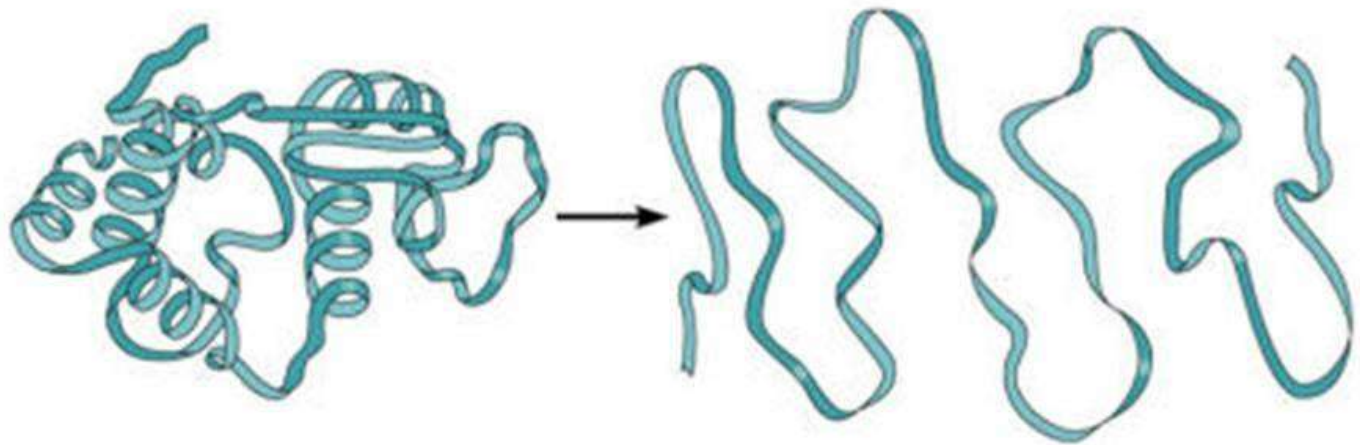
## CATÁLISE ENZIMÁTICA

- ✓ A reação ocorre em uma fenda ou cavidade denominada **SÍTIO ATIVO** ou **SÍTIO CATALÍTICO**
- ✓ O substrato se liga ao sítio catalítico da enzima formando o **complexo enzima-substrato (ES)**;
- ✓ Ocorre a reação formado o **complexo enzima-produto (EP)** que se dissocia em enzima livre (E) e mais produto (P).



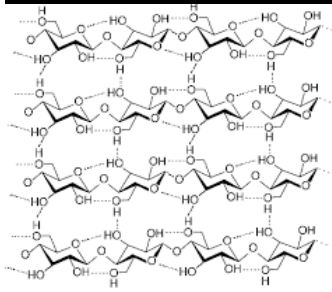
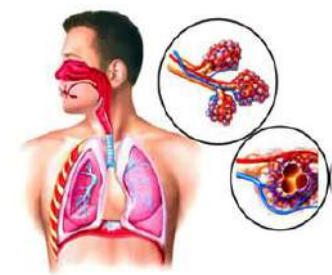
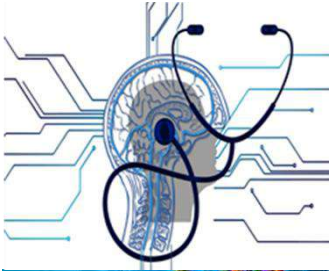
## CATÁLISE ENZIMÁTICA

✓ A atividade catalítica depende da conformação nativa, que pode ser perdida com a desnaturação ou com a hidrólise da cadeia polipeptídica.



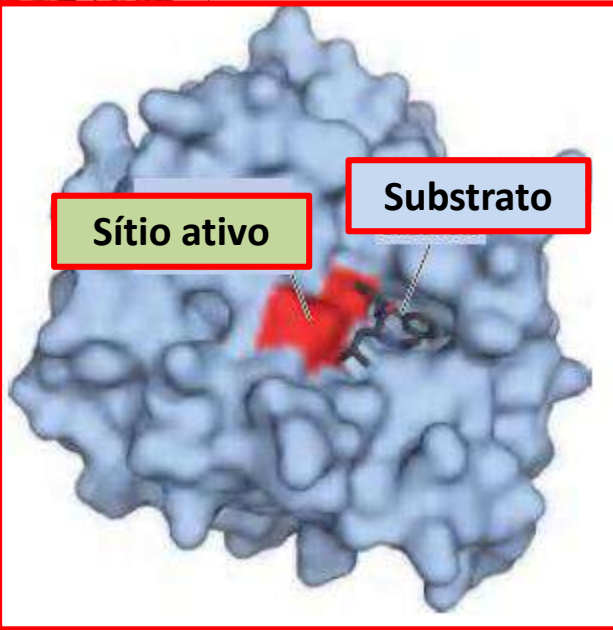
### INTERAÇÕES FRACAS:

- ✓ Ligação de Hidrogênio
- ✓ Dipolo-dipolo permanente
- ✓ Interações de Van de Waals
- ✓ Forças eletrostáticas
- ✓ Pontes dissulfeto



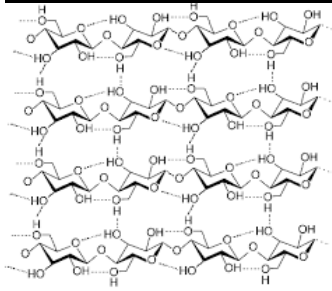
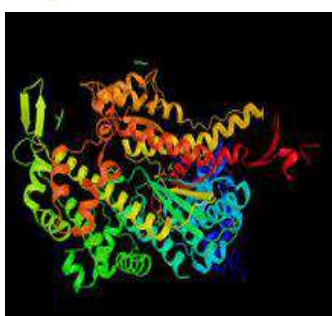
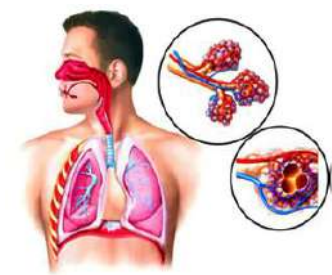
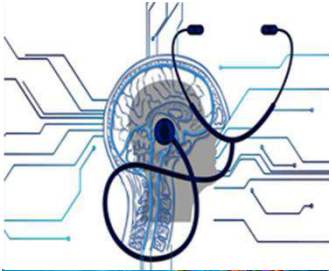
# CATÁLISE ENZIMÁTICA: COMO AS ENZIMAS TRABALHAM?

- ✓ Enzimas alteram a velocidade da reação, não o equilíbrio

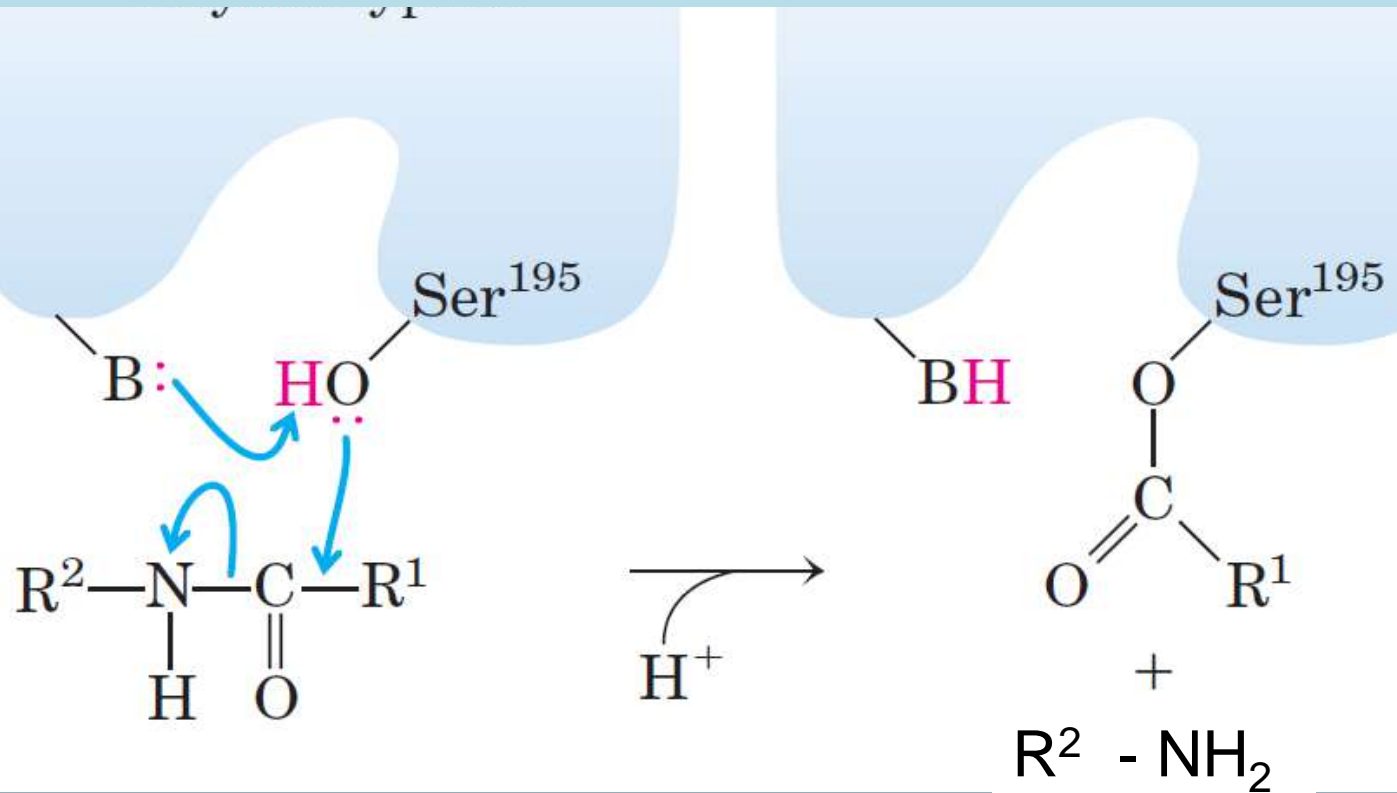


**SÍTIO ATIVO** é a região específica dentro da estrutura tridimensional da enzima na qual a catálise irá ocorrer. O processo de catálise ocorre através de interações fracas e ligações covalentes reversíveis entre o sítio ativo e a molécula de substrato.

# CATÁLISE ENZIMÁTICA: GRUPOS CATALÍTICOS NAS ENZIMAS



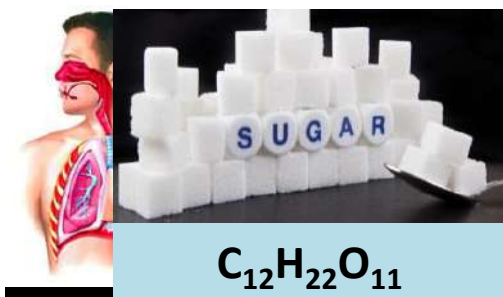
**QUIMIOTRIPSINA: Quebra de ligações peptídicas via ataque nucleofílico no carbono da carbonila**





## $\Delta G^\circ$ VERSUS $\Delta G^{++}$

- ✓ A velocidade de uma reação enzimática dependerá da ENERGIA DE ATIVAÇÃO ( $\Delta G^{++}$ ), e não da VARIAÇÃO DA ENERGIA LIVRE ( $\Delta G^\circ$ ) entre produtos e reagentes.

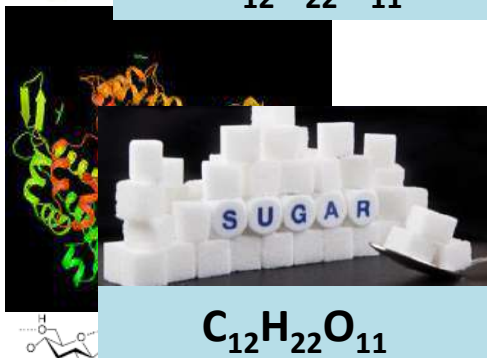


sem  
enzimas

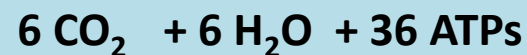


NÃO HÁ  
REAÇÃO

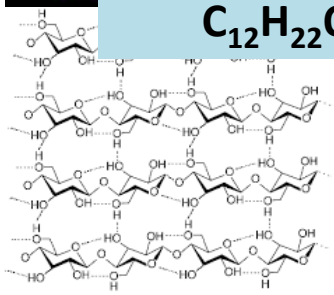
$$\Delta G^\circ = - 2840 \text{ kJ/mol}$$



com  
enzimas



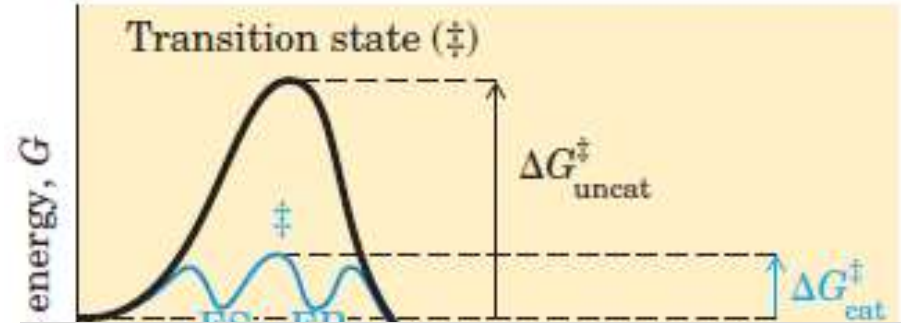
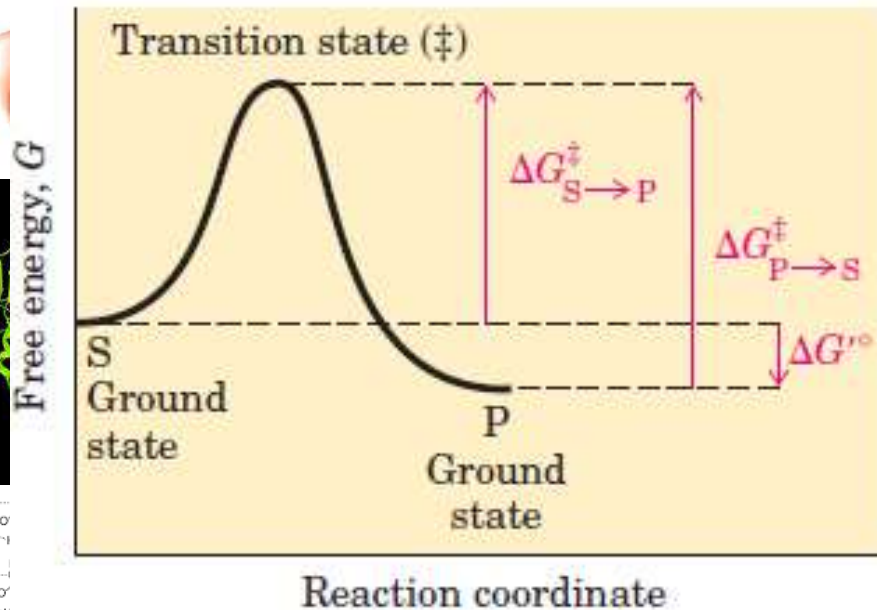
$$\Delta G^\circ = - 2840 \text{ kJ/mol}$$





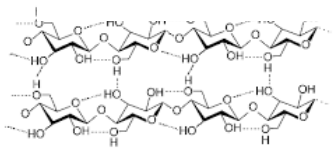
## 2. ATIVIDADE ENZIMÁTICA

- ✓ Enzimas aumentam a velocidade das reações bioquímicas através da diminuição da ENERGIA DE ATIVAÇÃO ( $\Delta G^\ddagger$ ) necessária para a ocorrência destas reações.
- ✓ A diminuição da ENERGIA DE ATIVAÇÃO é dirigida pela ESTABILIZAÇÃO DO ESTADO DE TRANSIÇÃO.



Por que a energia requerida para se atingir o ESTADO DE TRANSIÇÃO é atingida apenas no SÍTIO CATALÍTICO?

1. Estabiliza o estado de transição
2. Repele a água;
3. Presença de grupos reativos;
4. Coenzima;



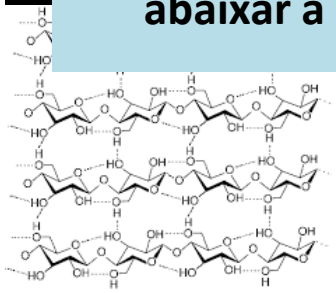


## CATÁLISE ENZIMÁTICA: Energia de Ligação ( $\Delta G_B$ )

### Princípios da catálise enzimática

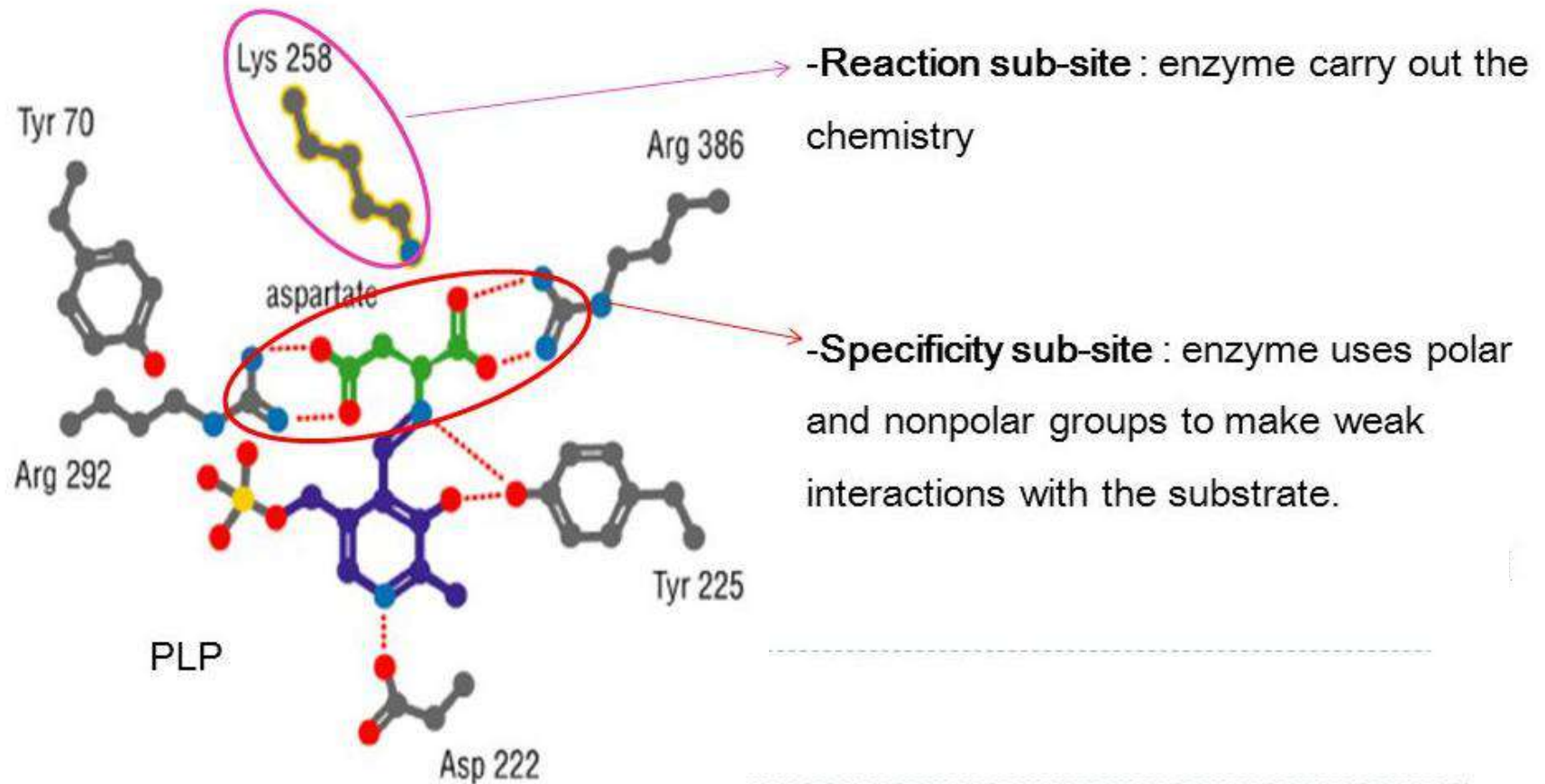
1. Aproximação e orientação do substrato;
2. Expulsão da água de solvatação do substrato;
3. Estabilização do estado de transição através de interações fracas (*Energia de Ligação* -  $\Delta G_B$ )

- ✓ A energia de ligação ( $\Delta G_B$ ) é a energia derivada de interações fracas entre o sítio ativo da enzima e o substrato.
- ✓ A energia de ligação ( $\Delta G_B$ ) liberada através da formação de interações fracas entre sítio ativo e substrato é a principal fonte de energia usada pelas enzimas para abaixar a ENERGIA DE ATIVAÇÃO DA REAÇÃO.



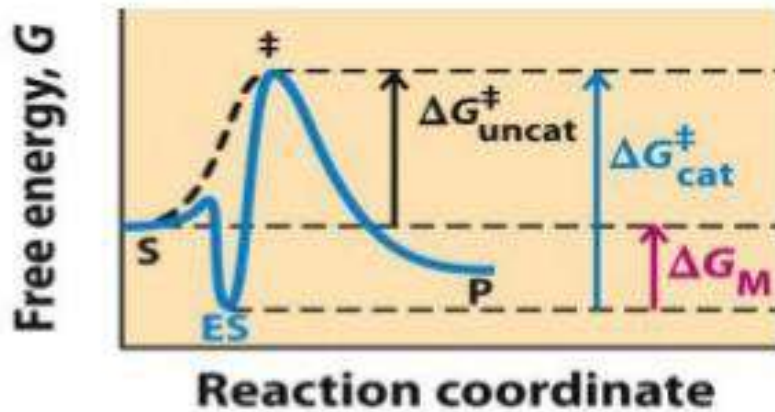
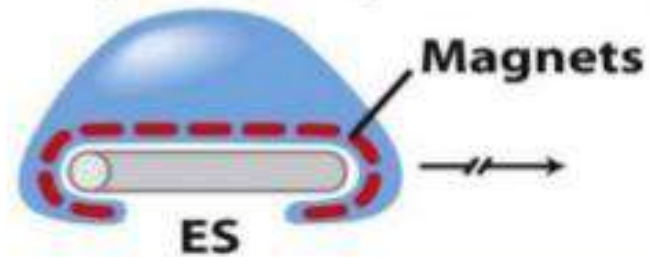
## CATÁLISE ENZIMÁTICA: Energia de ligação ( $\Delta G_B$ )

- ✓ Muito do poder catalítico das enzimas esta intimamente relacionado à energia livre liberada durante a formação de milhares de interações fracas entre o substrato e o sitio ativo. Essa energia de ligação  $\Delta G_B$  contribui tanto para a catálise como para a especificidade enzimática

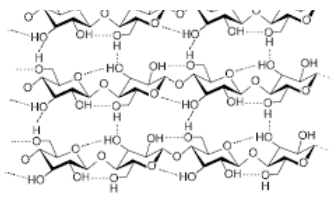


## CATÁLISE ENZIMÁTICA: MODELO CHAVE-FECHADURA (ERRADO!!)

- ✓ As interações fracas são otimizadas no Estado de Transição. O Sítio Catalítico da enzima é complementar NÃO AO SUBSTRATO, mas AO ESTADO DE TRANSIÇÃO através do qual substratos são convertidos em moléculas dos produtos.

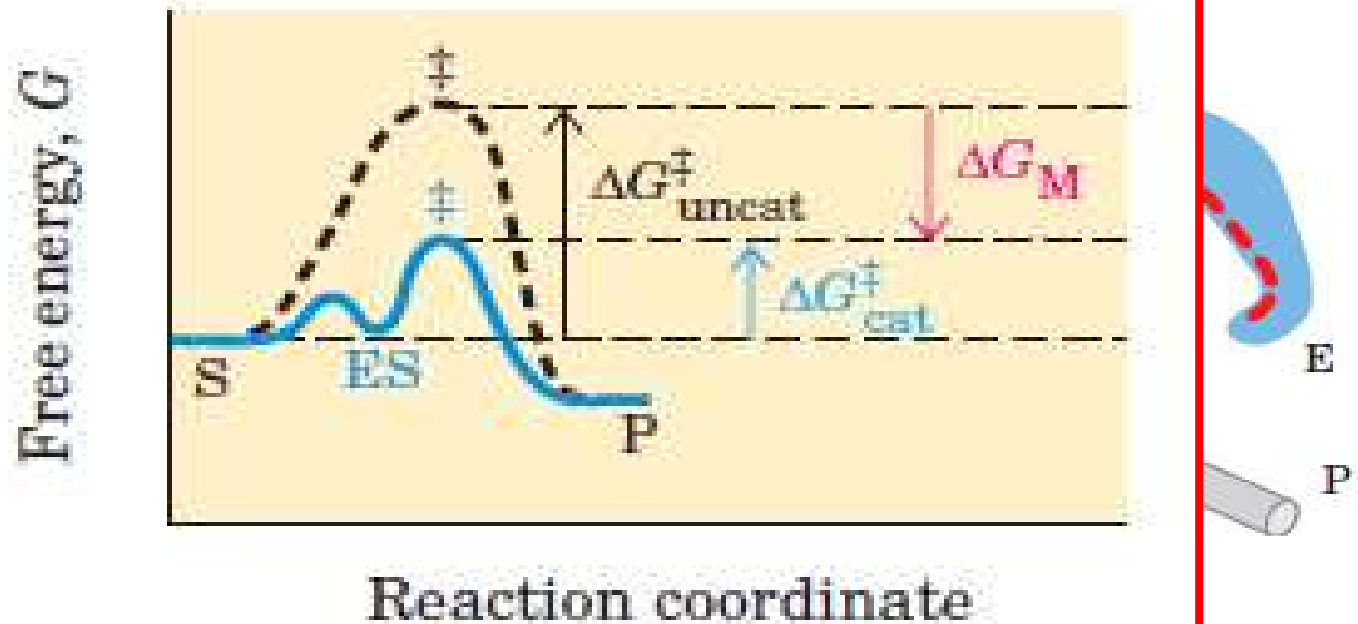
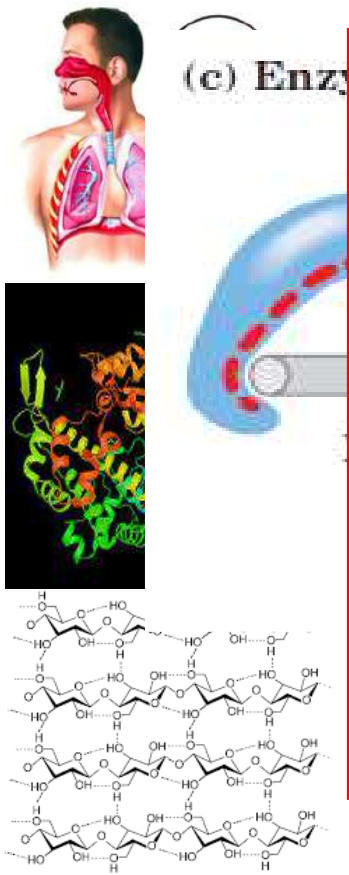


- ✓ A interação da enzima com o substrato seria tão forte, de modo que o complexo enzima-substrato se tornaria estável e o substrato não se transformaria em produto.
- ✓ Aumentando a ENERGIA DE ATIVAÇÃO



## CATÁLISE ENZIMÁTICA: Energia de ligação ( $\Delta G_B$ )

- ✓ As interações fracas são otimizadas no Estado de Transição. O Sítio Catalítico da enzima é complementar NÃO AO SUBSTRATO, mas AO ESTADO DE TRANSIÇÃO através do qual substratos são convertidos em moléculas dos produtos.

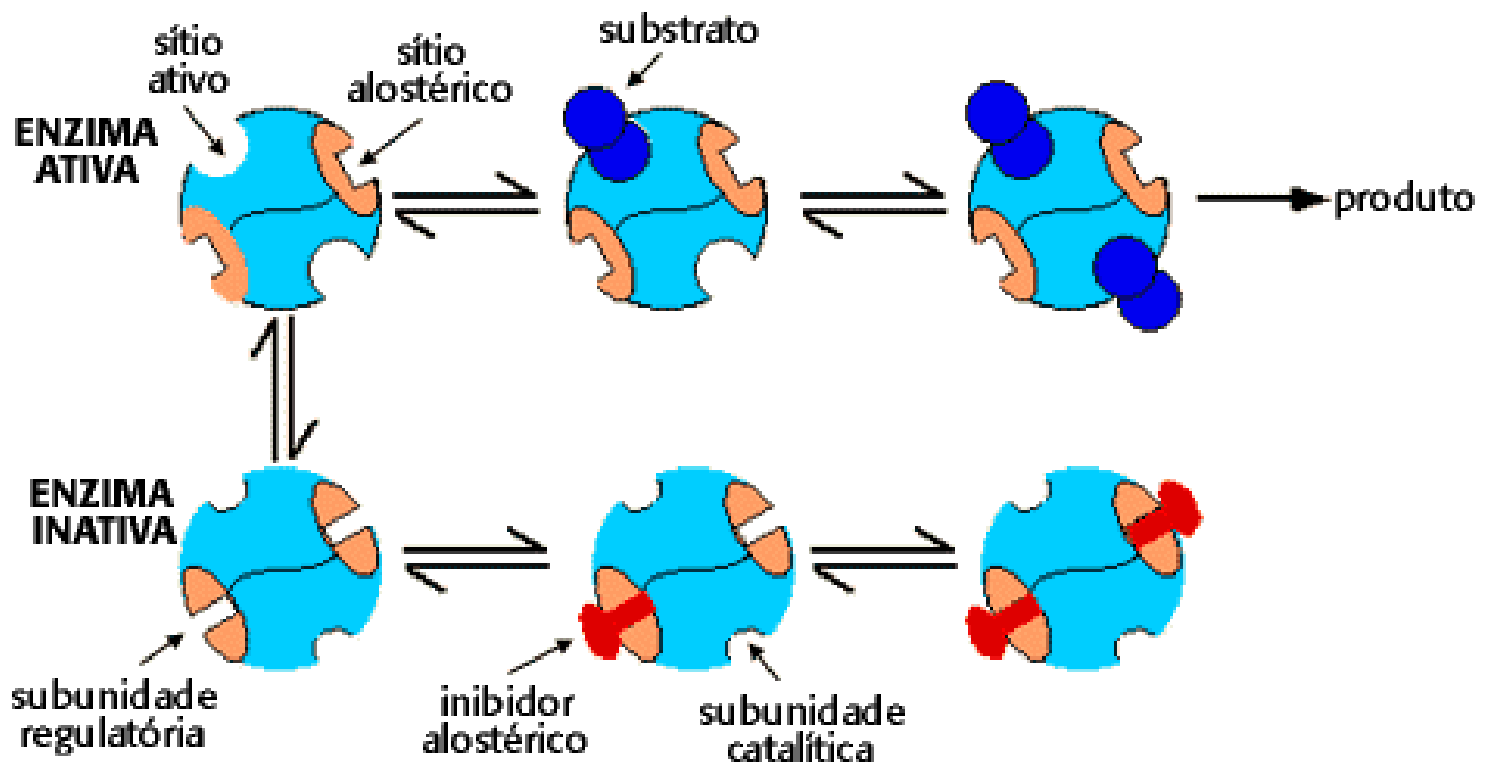
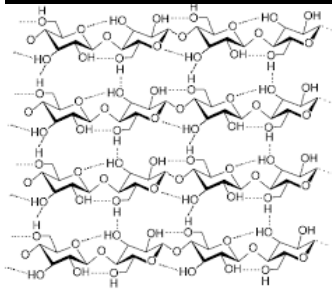
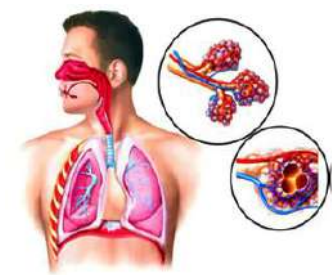
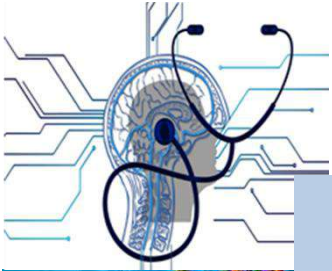




# ENZIMAS ALOSTÉRICAS

## ENZIMAS ALOSTÉRICAS

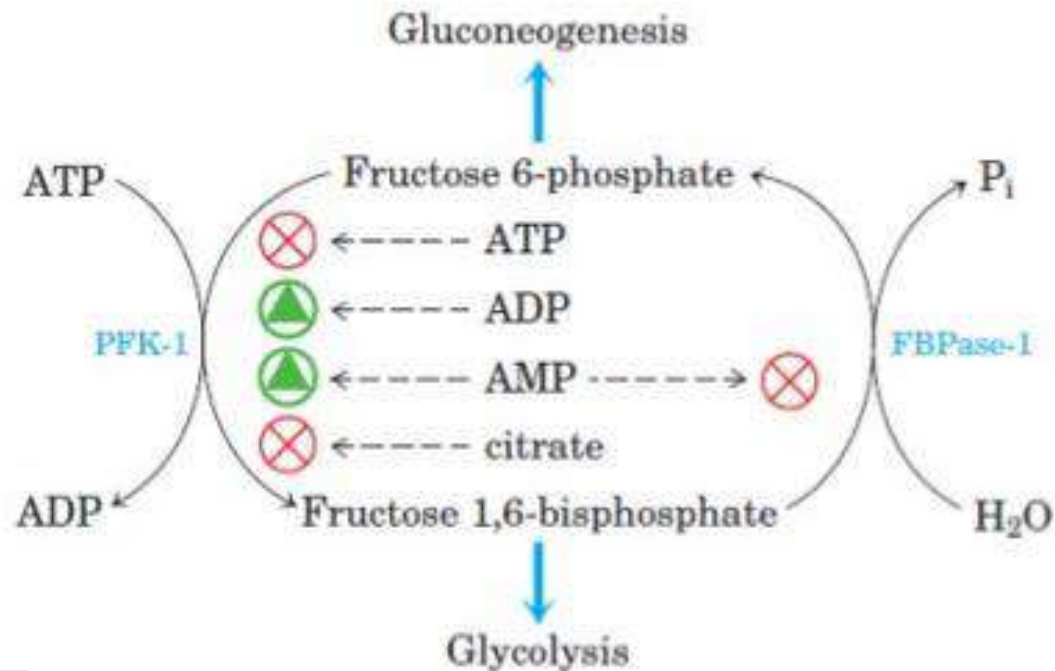
- ✓ Sítio ativo
- ✓ Sítio de regulação (alostérico)
- ✓ Enzimas regulatórias do metabolismo



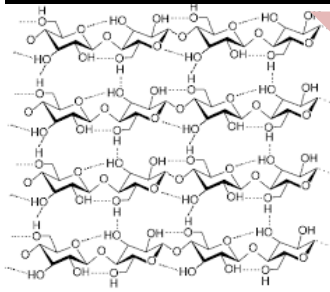
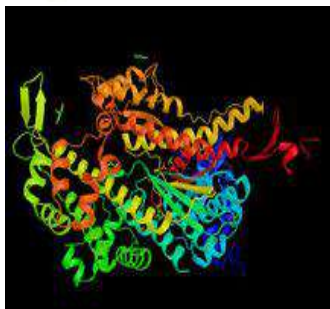
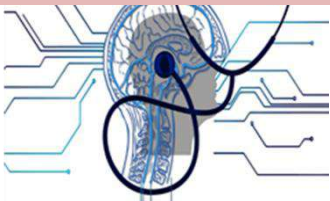
# REGULAÇÃO ALOSTÉRICA: FOSFOFRUTOQUINASE-1 (PFK-1)

- Inhibited by AMP, when energy currency ATP is less
- Thus gluconeogenesis is down regulated because it is a energy consuming process.
- The opposing effect of PFK-1 and FBPase-1 helps to regulate glycolysis and gluconeogenesis according to current need of cell

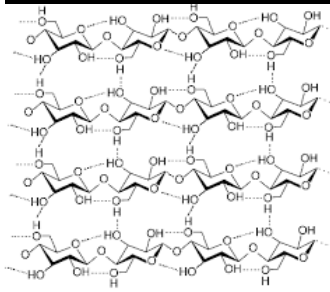
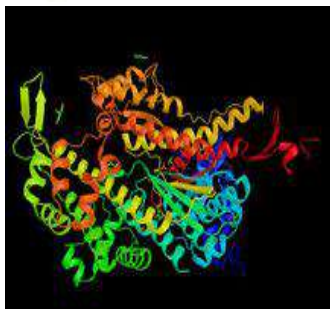
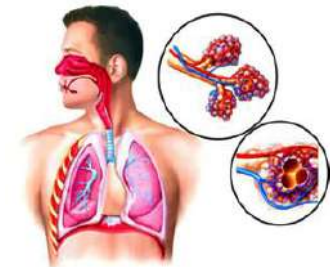
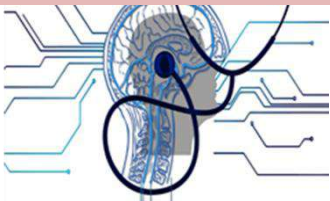
GLICÓLISE



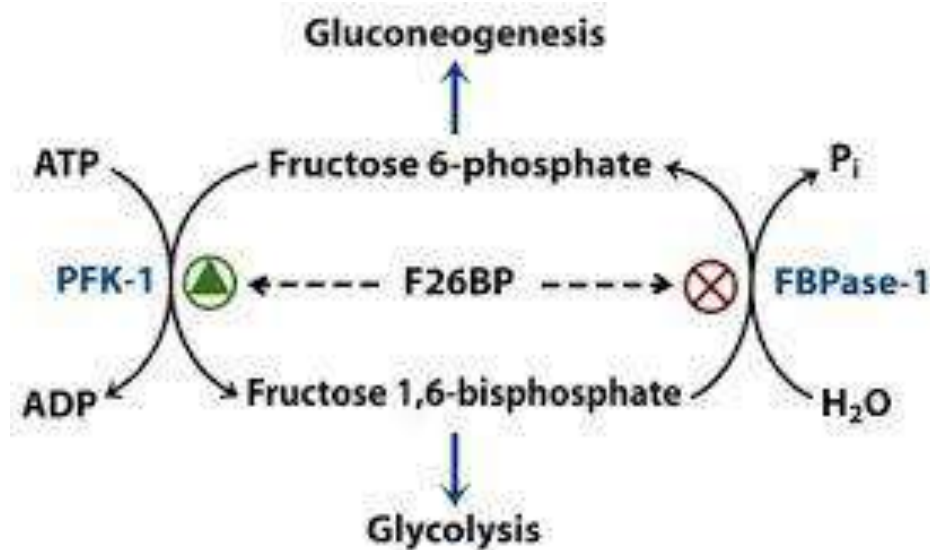
GLICONEOGENESE



# REGULAÇÃO ALOSTÉRICA: FRUTOSE 1,6-BIFOSFATASE



GLUCONEOGENESE



GLICÓLISE

- Allosteric regulation (metabolites):

ATP, acetyl coA (citrate) (+)

AMP, ADP, fructose 2,6 bisphosphate (-)

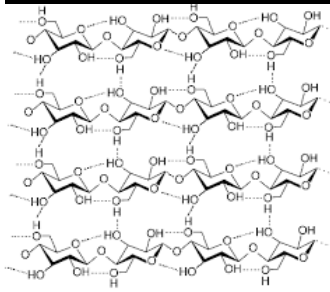
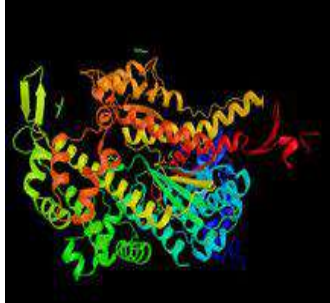
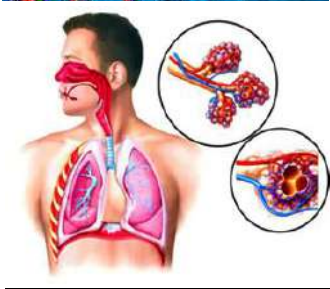
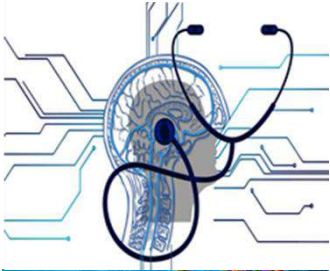
- Covalent modification (Hormones):

insulin (-)

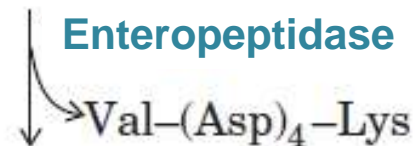
glucagon (+)

# ZIMOGENÍOS

Zimogênio	Agente ativador	Enzima ativa	Peptídeo inativo
Pepsinogênio	H <sup>+</sup> pepsina	Pepsina	Fragmentos
Tripsinogênio	Tripsina	Tripsina	Fragmentos
Quimotripsinogênio		Quimotripsina	Fragmentos



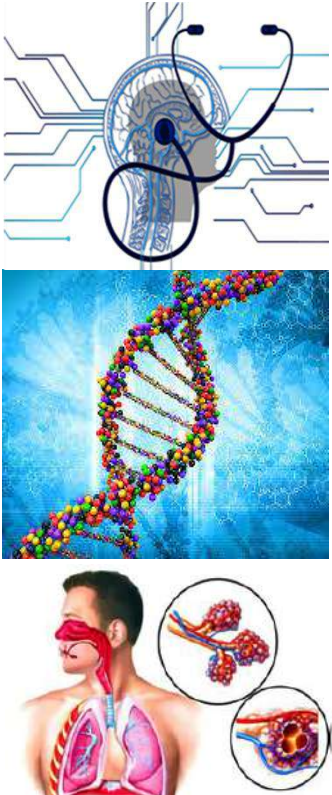
**Tripsinogênio  
(inativo)**



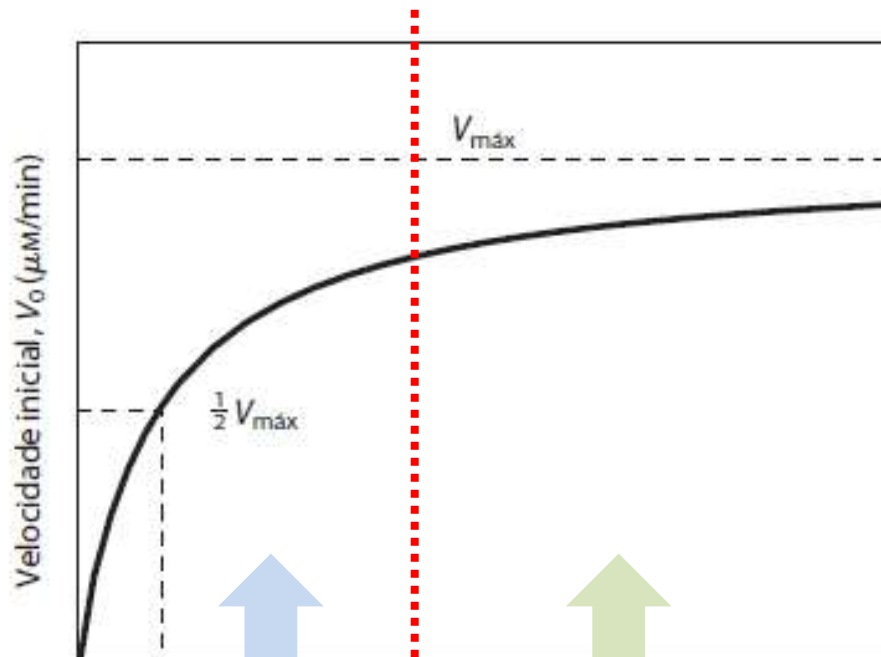
**Tripsina  
(ativa)**







## ANÁLISE DE $V_0$ : CINÉTICA DO ESTADO ESTACIONÁRIO (BRIGGS & HALDANE)



### Estado pré-estacionário

- ✓ Rápido crescimento da concentração de  $[ES]$ .
- ✓ Muito rápida = apenas milissegundos
- ✓  $V_0$  aumenta linearmente em função da concentração do substrato
- ✓  $[S] \gg [E]$ : Concentração do substrato muito maior que a concentração da enzima

### Estado Estacionário

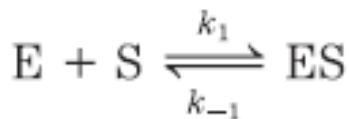
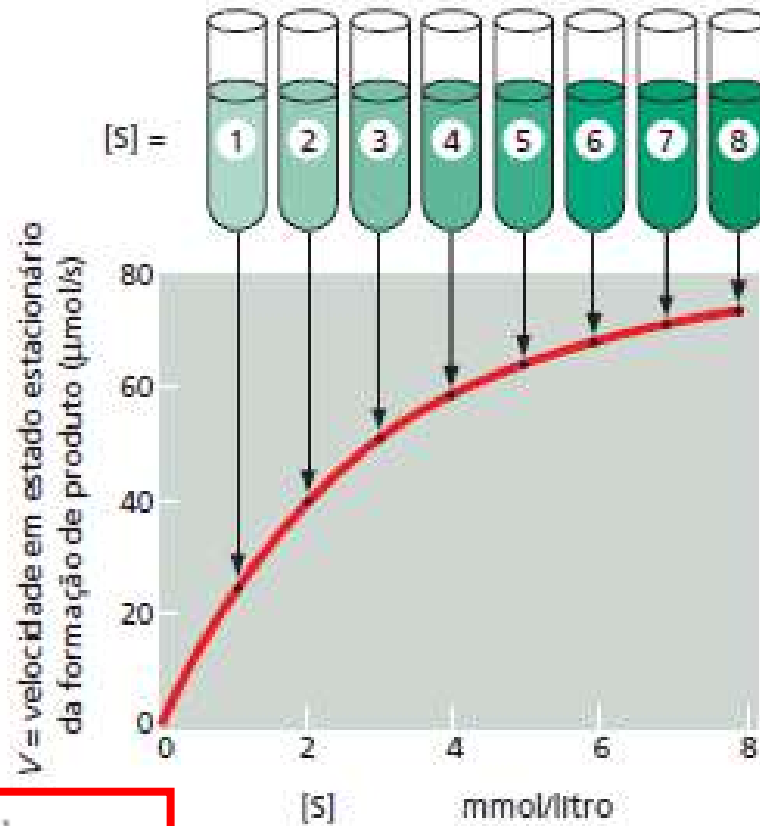
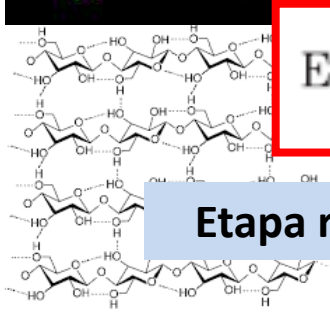
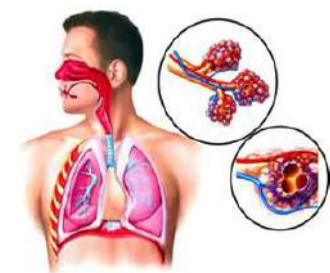
- ✓ Concentração  $[ES]$  permanece constante
- ✓  $V_0$  não mais aumenta com aumento de  $[S]$
- ✓  $V_0$  tende à atingir  $V_{max}$  (CONSTANTE)
- ✓ Determinação de  $V \rightarrow$  Estado estacionário



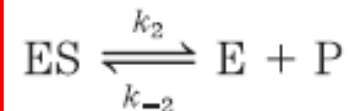


# CINÉTICA ENZIMÁTICA – TEORIA DE MICHELIS - MENTEN

Medida as velocidades iniciais ( $V_o$ ) quando a concentração de substrato  $[S]$  é muito maior que a concentração da enzima  $[E]$ .

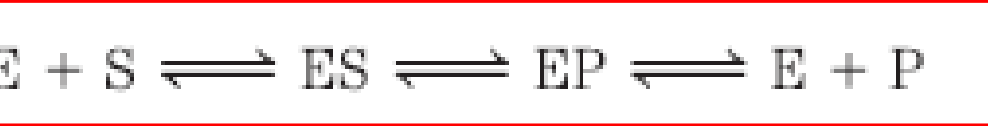
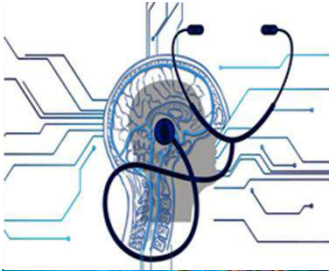


Etapa rápida e reversível



Etapa lenta e determinante da velocidade de reação

# CINÉTICA ENZIMÁTICA – MICHELIS - MENTEN



$$K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$$



Leonor Michaelis,  
1875-1949



Maud Menten,  
1879-1960

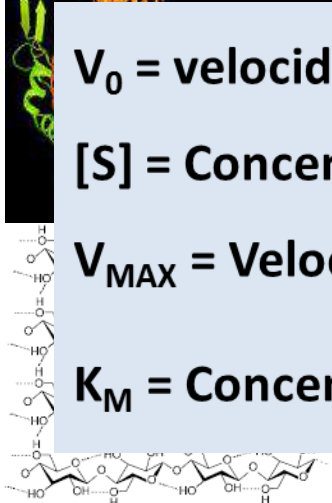
$V_0$  = velocidade inicial (mols/min)

$[S]$  = Concentração molar (mol/L) do substrato

$V_{MAX}$  = Velocidade máxima

$K_M$  = Concentração do substrato quando  $V_0 = \frac{1}{2} V_{MAX}$

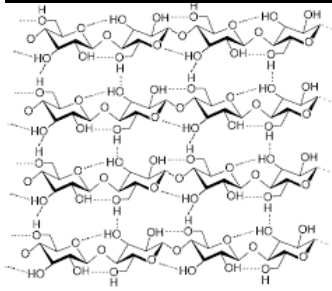
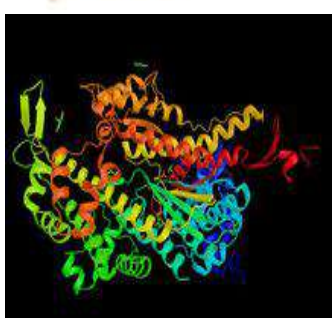
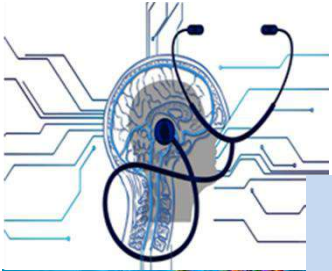
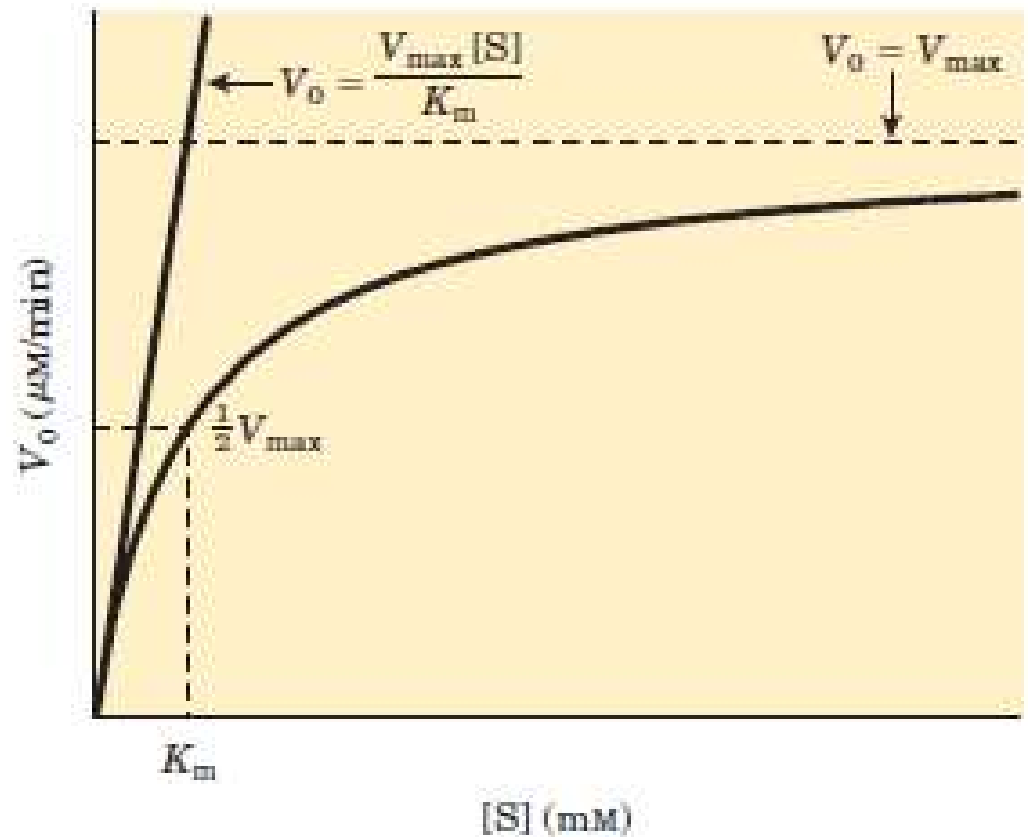
$$V_0 = \frac{V_{max} [S]}{K_m + [S]}$$



# CINÉTICA ENZIMÁTICA – MICHELIS - MENTEN

Gráfico de Michaelis-Menten: A velocidade da reação tende a PARAR DE AUMENTAR com o aumento da concentração do substrato (SATURAÇÃO DO SÍTIO CATALÍTICO DA ENZIMA)

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



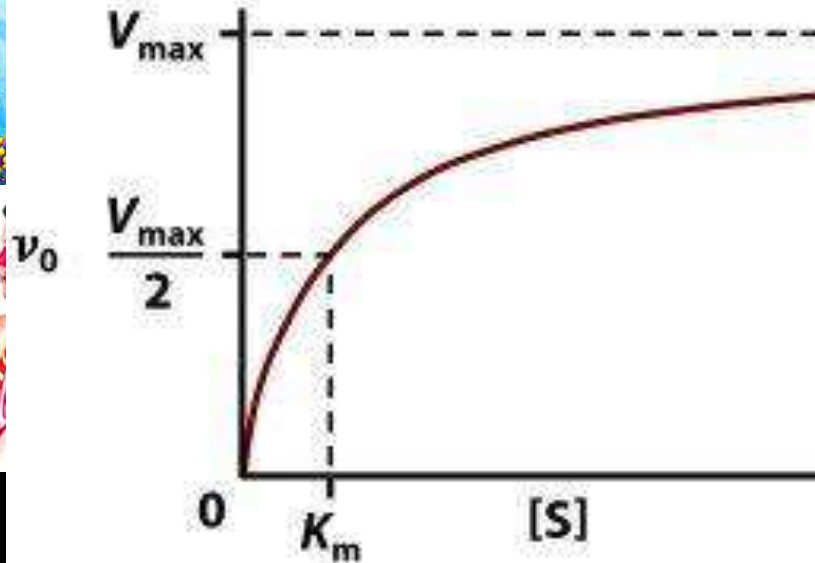
## CINÉTICA ENZIMÁTICA: VALORES DE $K_M$

Valore de  $K_M$  de algumas enzimas

Enzyme	Substrate	$K_M$ ( $\mu\text{M}$ )
Chymotrypsin	Acetyl-L-tryptophanamide	5000
Lysozyme	Hexa-N-acetylglucosamine	6
$\beta$ -Galactosidase	Lactose	4000
Threonine deaminase	Threonine	5000
Carbonic anhydrase	$\text{CO}_2$	8000
Penicillinase	Benzylopenicillin	50
Pyruvate carboxylase	Pyruvate	400
	$\text{HCO}_3^-$	1000
	ATP	60
Arginine-tRNA synthetase	Arginine	3
	tRNA	0.4
	ATP	300

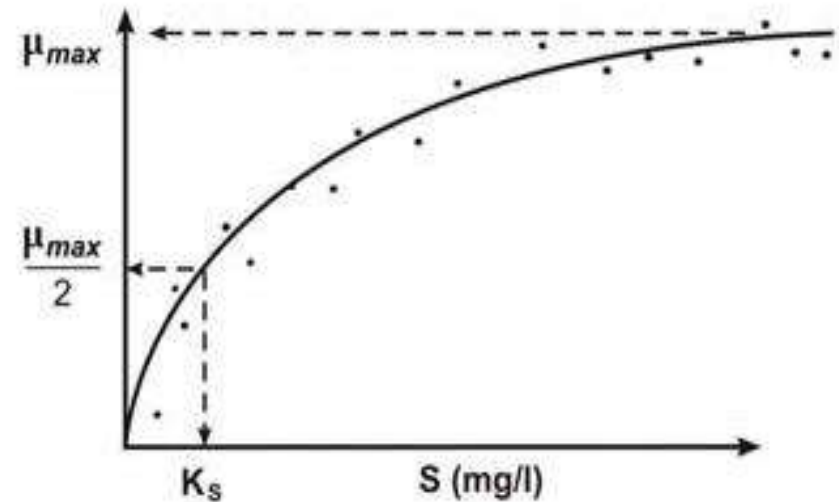


- ✓ Relação entre a equação de MICHAELIS (Enzimática) e a equação de MONOD (crescimento bacteriano)



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

**Equação de Michaelis**



$$\mu = \frac{\mu_{max} [S]}{K_s + [S]}$$

**Equação de Monod**



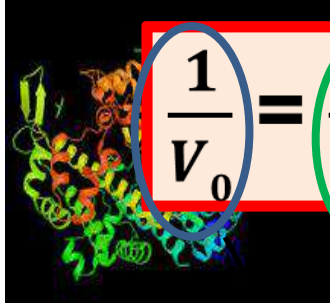
# CINÉTICA ENZIMÁTICA– LINEWEAVER-BURK (DUPLO-RECÍPROCO)

DETERMINAÇÃO DE  $K_M$  E  $V_{MAX}$  USANDO A CURVA DE LINEWEAVER BURK

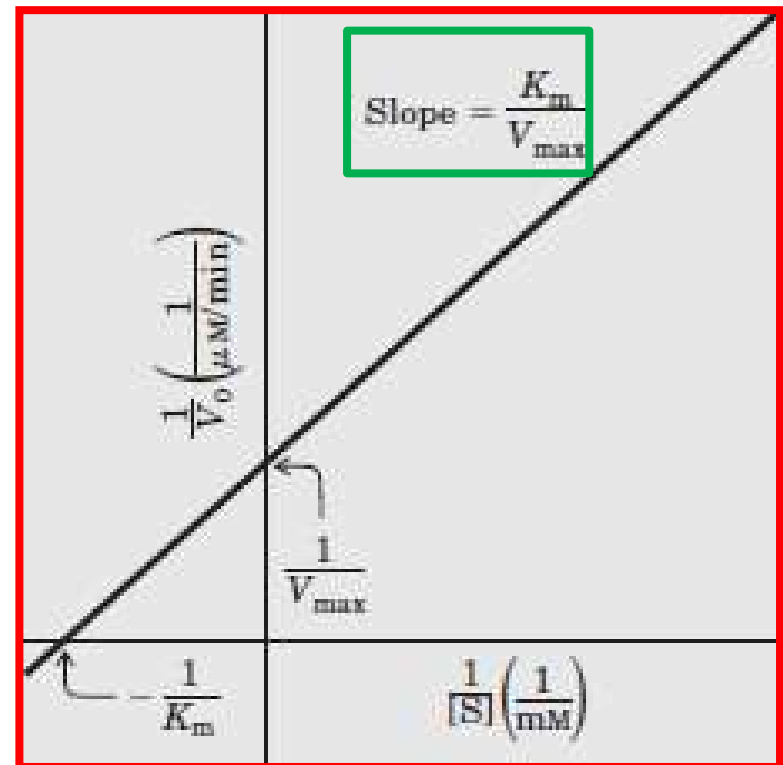

$$V_0 = \frac{V_{max} [S]}{K_m + [S]}$$

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m + [S]}{V_{max} [S]}$$


$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m}{V_{max} [S]} + \frac{1}{V_{max}}$$


$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m}{V_{max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$


$$Y = a \cdot X + b$$



$$\text{Eixo Y} = \frac{1}{V_0}$$

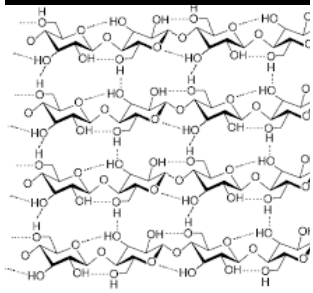
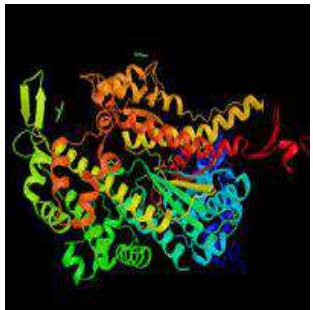
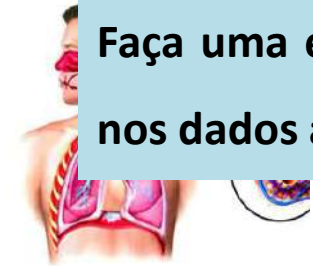
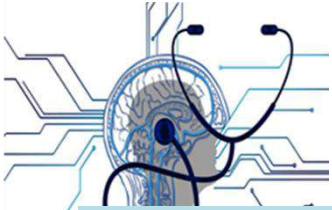
$$\text{Eixo X} = \frac{1}{[S]}$$

# INIBIÇÃO ENZIMÁTICA

**ESTIMATIVA DE  $V_{MAX}$  E  $K_M$  POR INSPEÇÃO.** Embora métodos gráficos estão disponíveis for determinação acurada do  $K_M$  e  $V_{MAX}$  de uma enzima, essa quantidades podem algumas vezes serem rapidamente estimadas apenas pelo exame rápido dos de  $V_0$  em função de  $[S]$ .

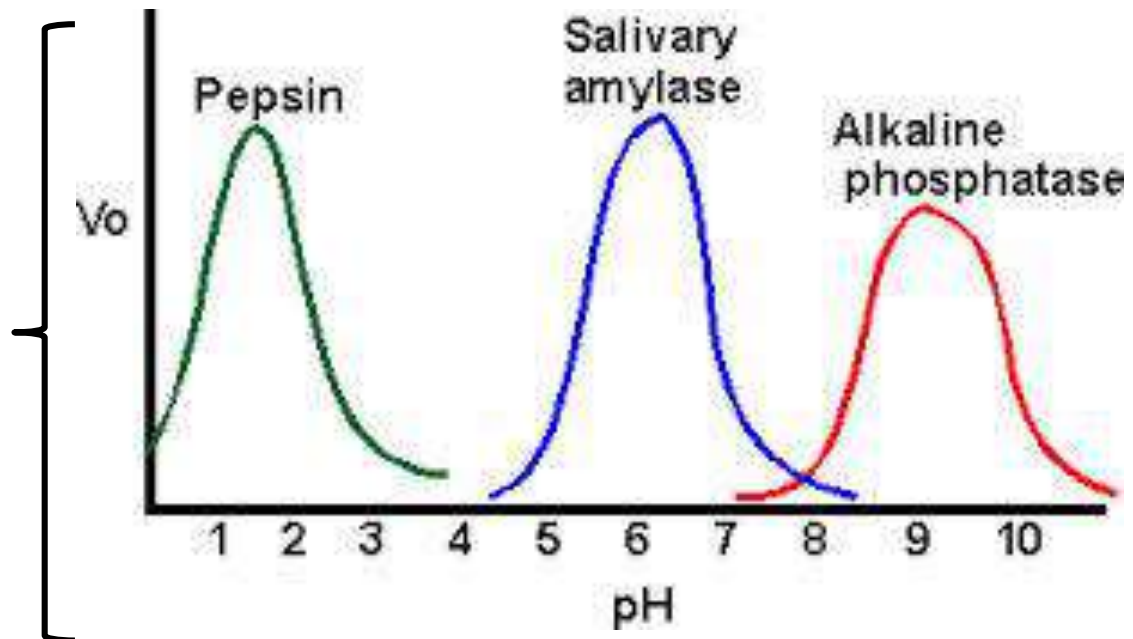
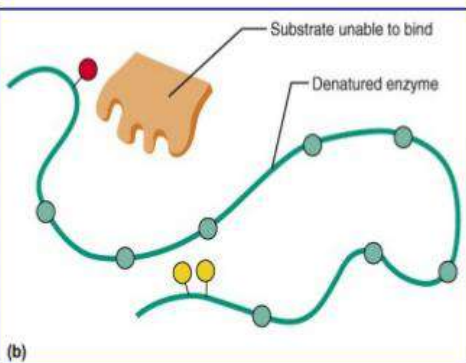
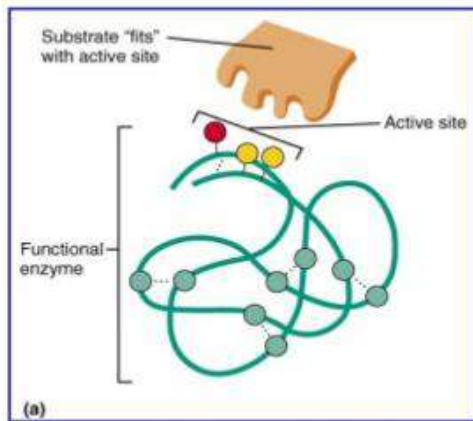
Faça uma estimativa dos valores de  $V_{MAX}$  e  $K_M$  para a enzima em questão com base nos dados abaixo.

$[S] (M)$	$V_0 (\mu M/min)$
$2,5 \times 10^{-6}$	28
$4,0 \times 10^{-6}$	40
$1 \times 10^{-5}$	70
$2 \times 10^{-5}$	95
$4 \times 10^{-5}$	112
$1 \times 10^{-4}$	128
$2 \times 10^{-3}$	139
$1 \times 10^{-2}$	140



## CINÉTICA ENZIMÁTICA: EFEITO DO pH

O efeito do pH sobre a enzima é devido a variações no estado de ionização dos resíduos de aminoácidos das proteínas, à medida que o pH muda. A mudança de pH resulta em mudança nas cargas das proteínas e, conseqüentemente, quebra ou alteração das interações fracas necessárias para manter a estrutura nativa das proteínas.



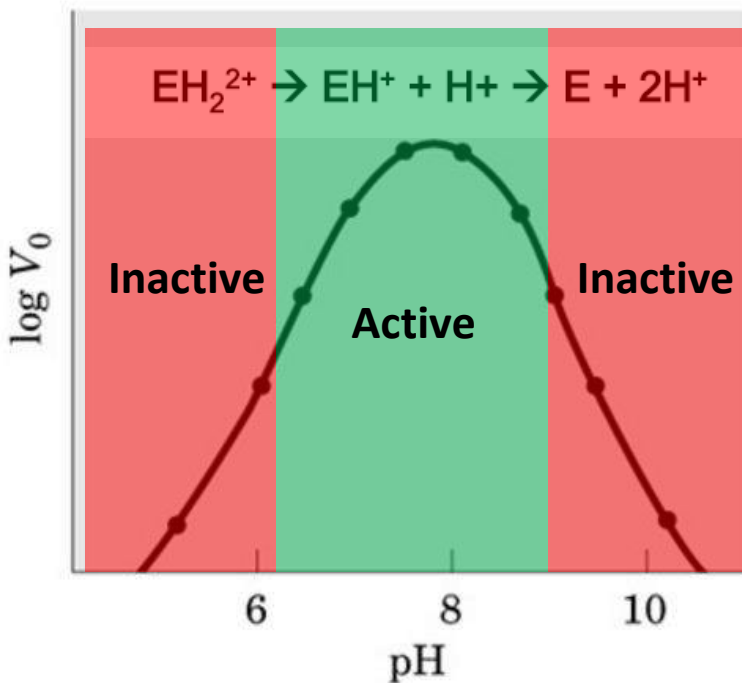


## CINÉTICA ENZIMÁTICA: EFEITO DO pH

### INFLUÊNCIA DO pH na atividade da Glucose 6-fosfatase

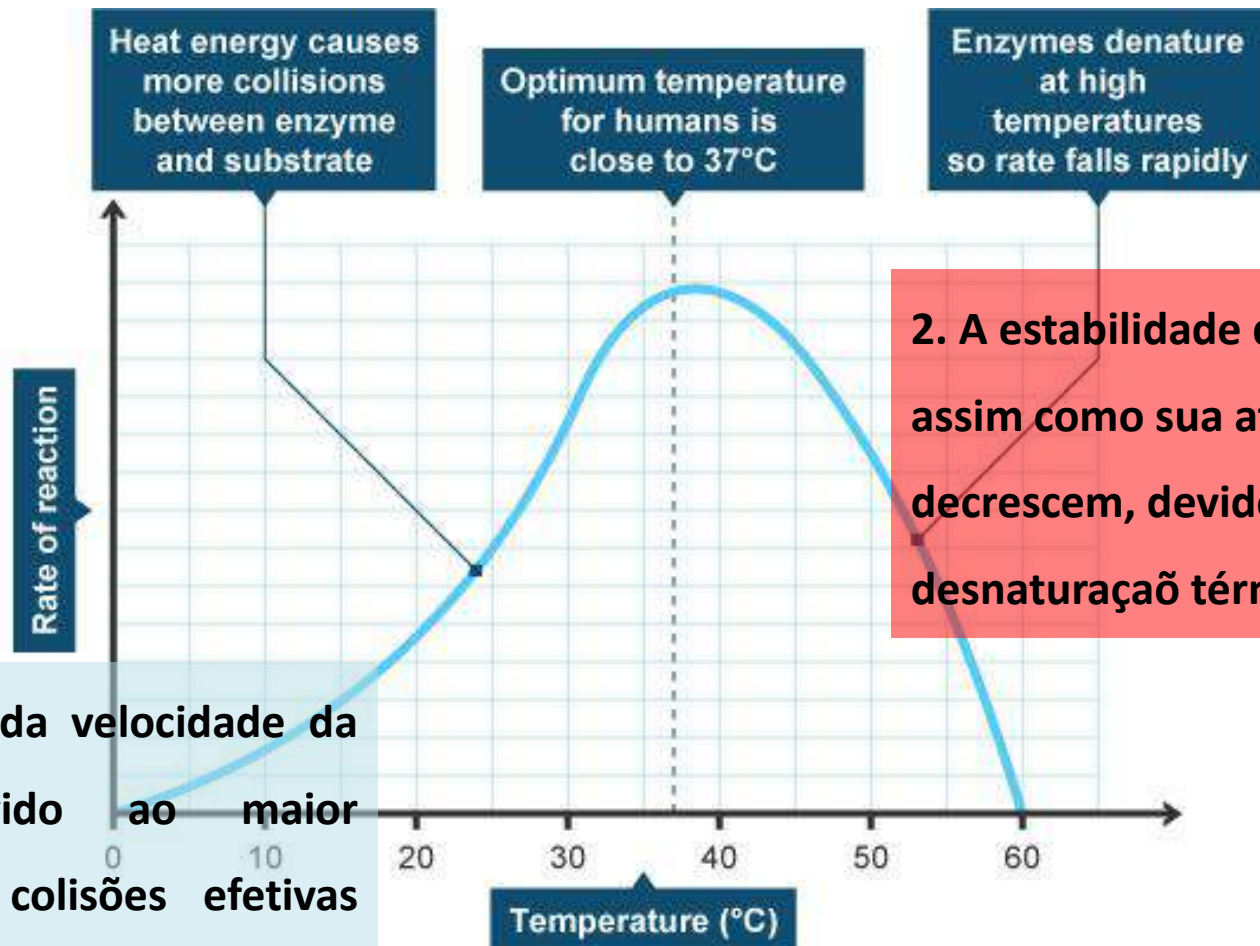
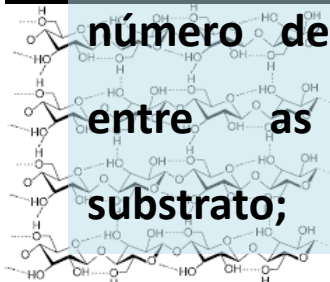
1. **BAIXOS VALORES DE pH:** desaparecimento de cargas negativas (grupos -COOH em Asp e Glu)
2. **ALTOS VALORES DE pH:** desaparecimento de cargas positivas dos grupamentos  $\text{NH}_3^+$  e acúmulo de cargas negativas nos grupos carboxila ( $\text{COO}^-$ ) e sobre Tirosinas e cisteínas

### Glucose 6-phosphatase



# CINÉTICA ENZIMÁTICA: EFEITO DA TEMPERATURA

## TEMPERATURA PROMOVE 2 DIFERENTES EFEITOS



2. A estabilidade da proteína, assim como sua atividade decrescem, devido à desnaturação térmica.

1. Aumento da velocidade da reação devido ao maior número de colisões efetivas entre as moléculas de substrato;

# INIBIÇÃO ENZIMÁTICA

O INIBIDOR é uma substância que retarda ou inibe o curso de uma reação enzimática

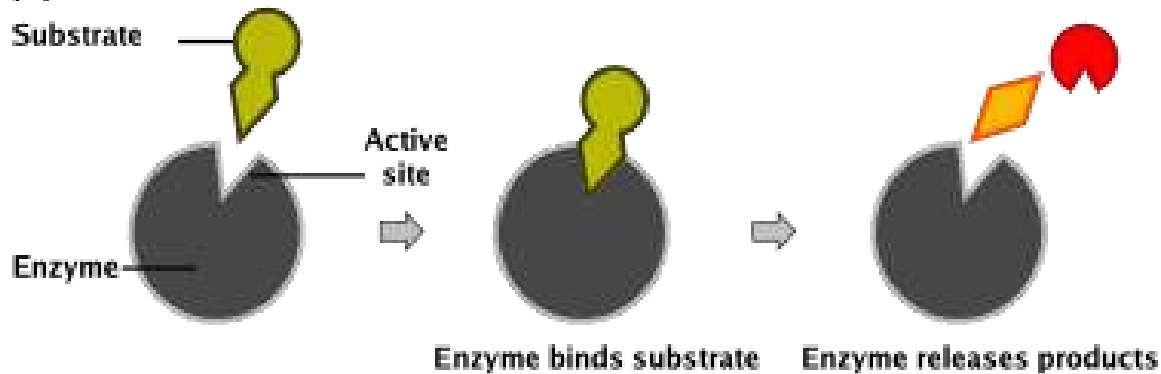


# INIBIÇÃO ENZIMÁTICA: INIBIÇÃO COMPETITIVA

**INIBIÇÃO COMPETITIVA:** O inibidor competitivo compete com o substrato pelo sítio ativo da enzima.

$K_M \uparrow$  and  $V_{MAX} = \text{CONSTANTE}$

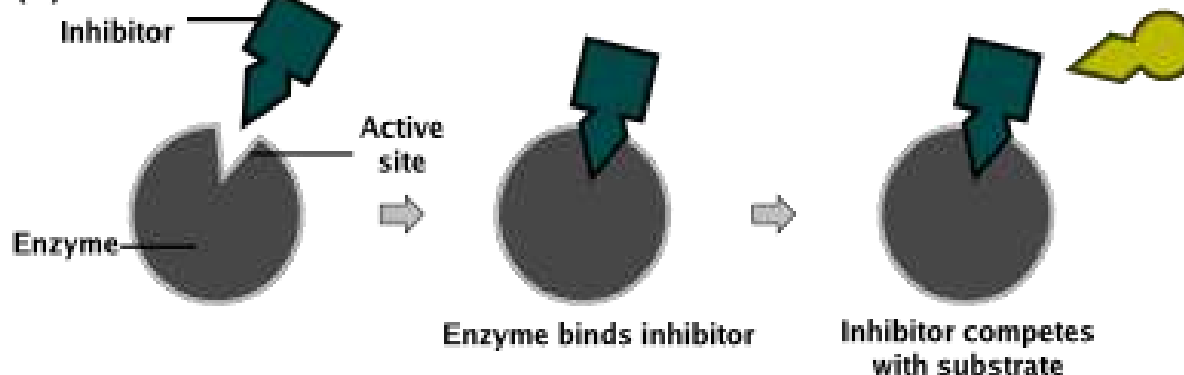
## (a) Reaction



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

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m}{V_{\max} [S]} + \frac{[S]}{V_{\max} [S]}$$

## (b) Inhibition



$$V_0 = \frac{V_{\max} [S]}{\alpha K_m + [S]}$$

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



# INIBIÇÃO ENZIMÁTICA: INIBIÇÃO COMPETITIVA

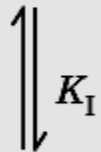
**INIBIÇÃO COMPETITIVA:** O inibidor competitivo compete com o substrato pelo sítio ativo da enzima.

$K_M \uparrow$  and  $V_{MAX} = \text{CONSTANTE}$

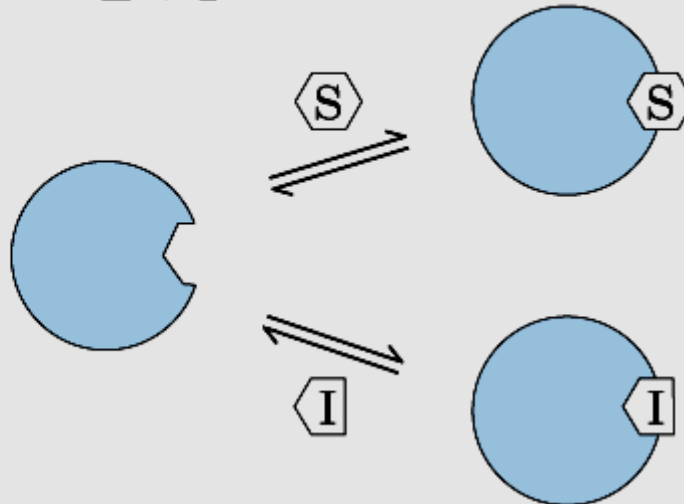


+

I



EI



$$V_0 = \frac{V_{\max} [S]}{\alpha K_m + [S]}$$

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

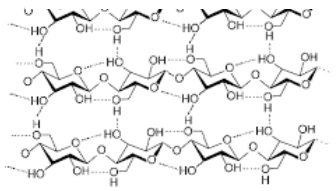
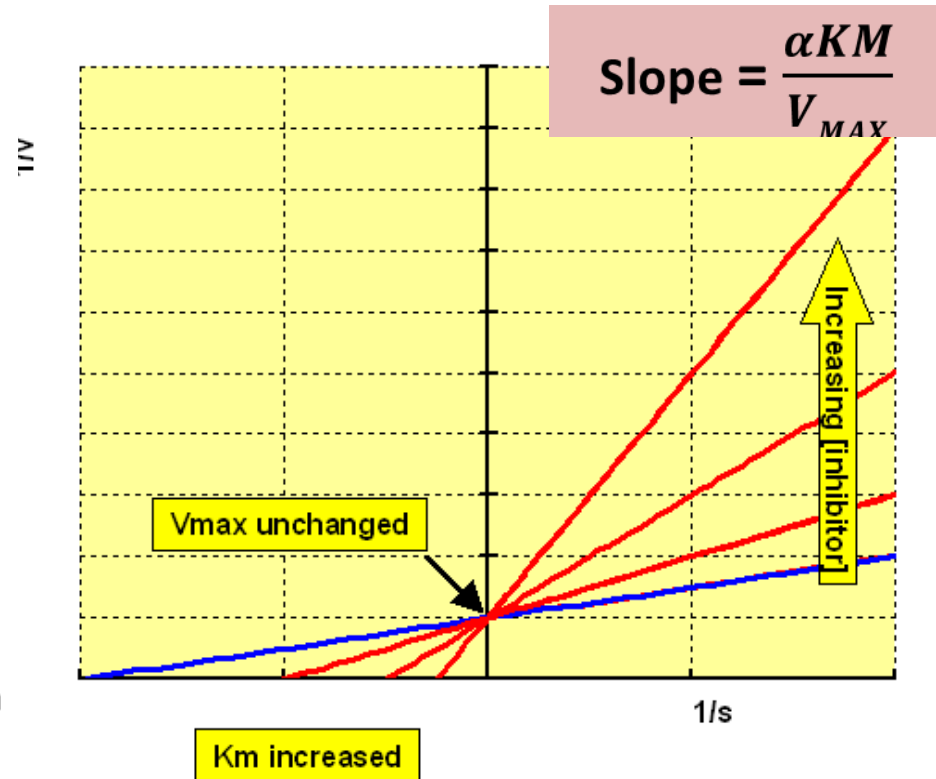
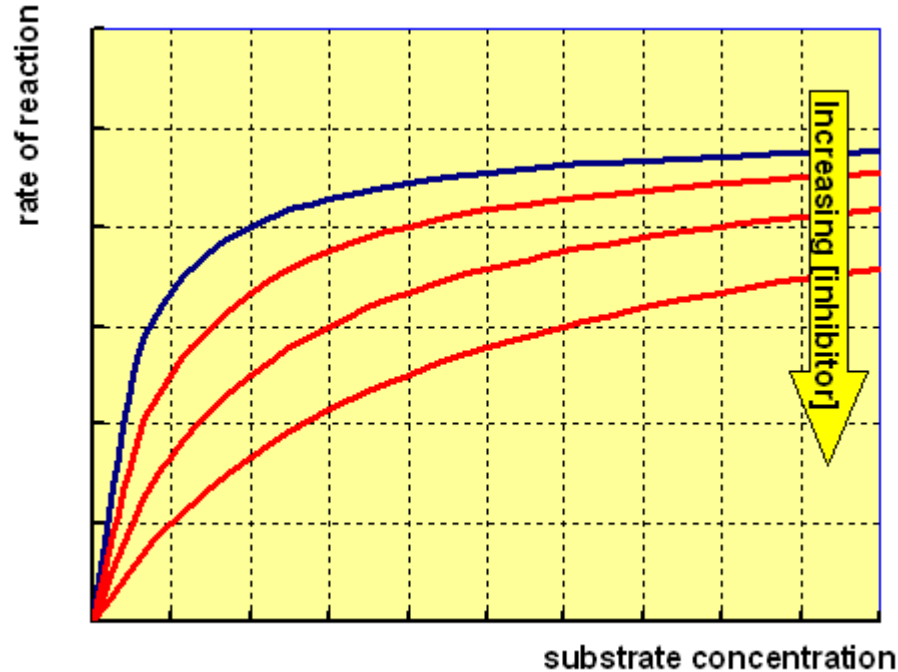
$$K_M (\text{inibidor}) = \alpha K_M$$

Aumento da  $[S]$  desloca o inibidor I do centro ativo e  $V_{MAX}$  se mantém constante

# INIBIÇÃO ENZIMÁTICA: INIBIÇÃO COMPETITIVA

**INIBIÇÃO COMPETITIVA:** O inibidor competitivo compete com o substrato pelo sítio ativo da enzima.

$K_M \uparrow$  and  $V_{MAX} = \text{CONSTANTE}$



# INIBIÇÃO ENZIMÁTICA: INIBIÇÃO COMPETITIVA

**INIBIÇÃO COMPETITIVA:** O inibidor competitivo compete com o substrato pelo sítio ativo da enzima.

$$K_M \uparrow \text{ and } V_{MAX} = \text{CONSTANTE}$$

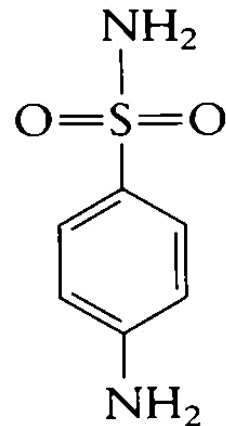
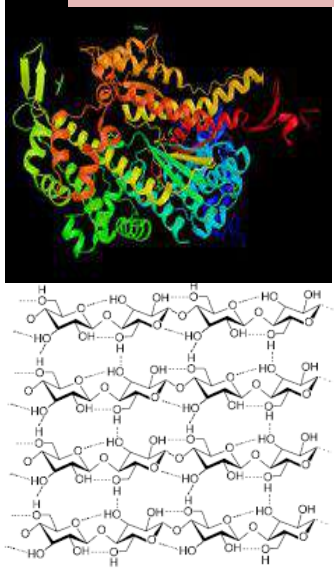
## EXEMPLOS:

**SULFA (inibidor)** para infecções bacterianas

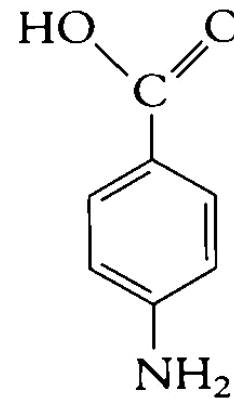
Inibidor competitivo da enzima **Diidropteroato sintase**

**PABA (Ácido 4-aminobenzóico)**

**DNA (BACTÉRIAS)**



Sulfanilamide

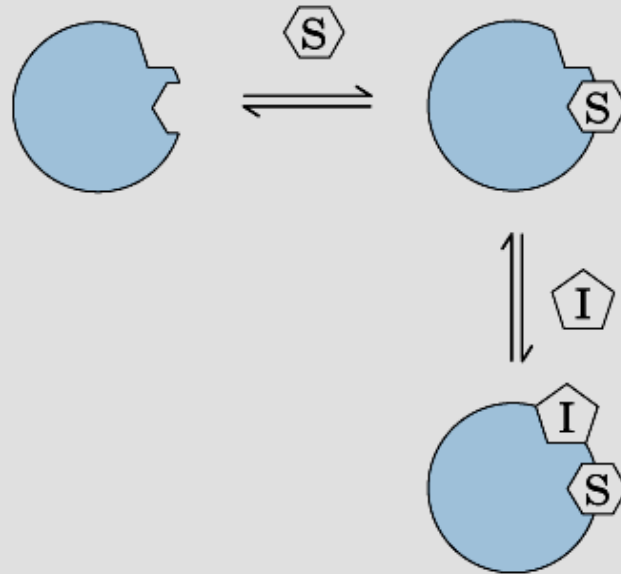
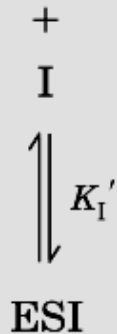


PABA

## INIBIÇÃO ENZIMÁTICA: INIBIÇÃO NÃO-COMPETITIVA

**INIBIÇÃO NÃO-COMPETITIVA:** Um inibidor não-competitivo liga-se a um sítio distinto do sítio ativo da enzima. No entanto, essa associação resulta em mudanças conformacionais no sítio ativo da enzima, tornando-a inviável para a catálise enzimática.

$$K_M = \text{Constante e } V_{\text{MAX}} = \downarrow$$



Inibidor liga-se ao complexo  
ENZIMA-SUBSTRATO . Redução  
de  $V_{\text{MAX}}$  ( $K_M = \text{CTE}$ )

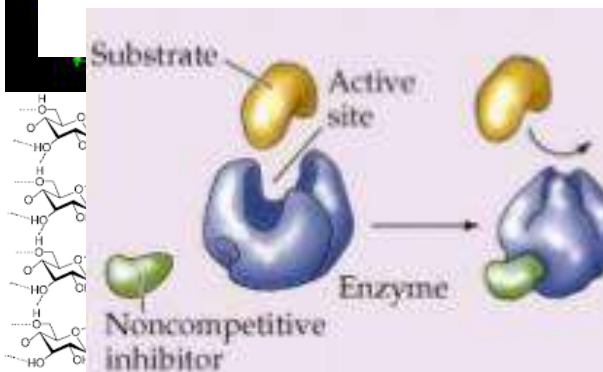
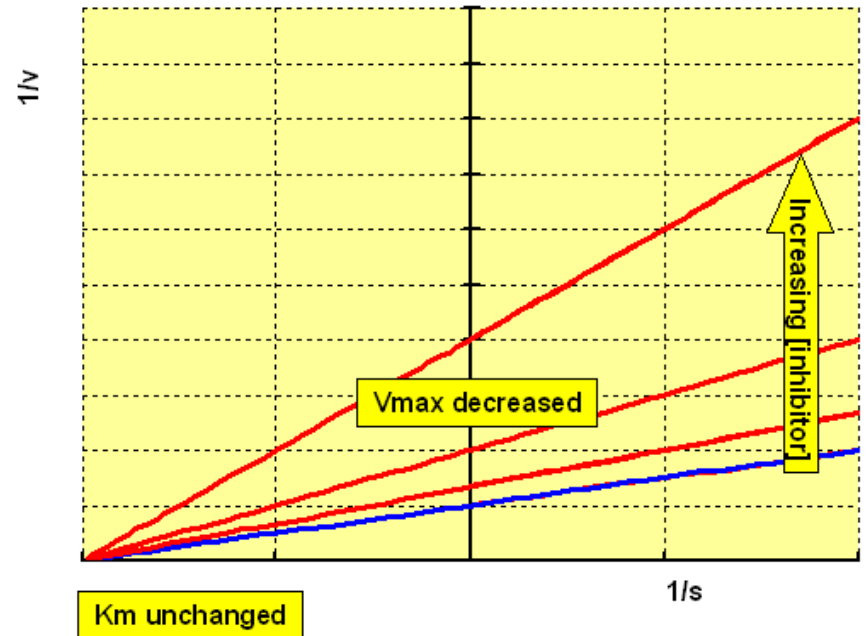
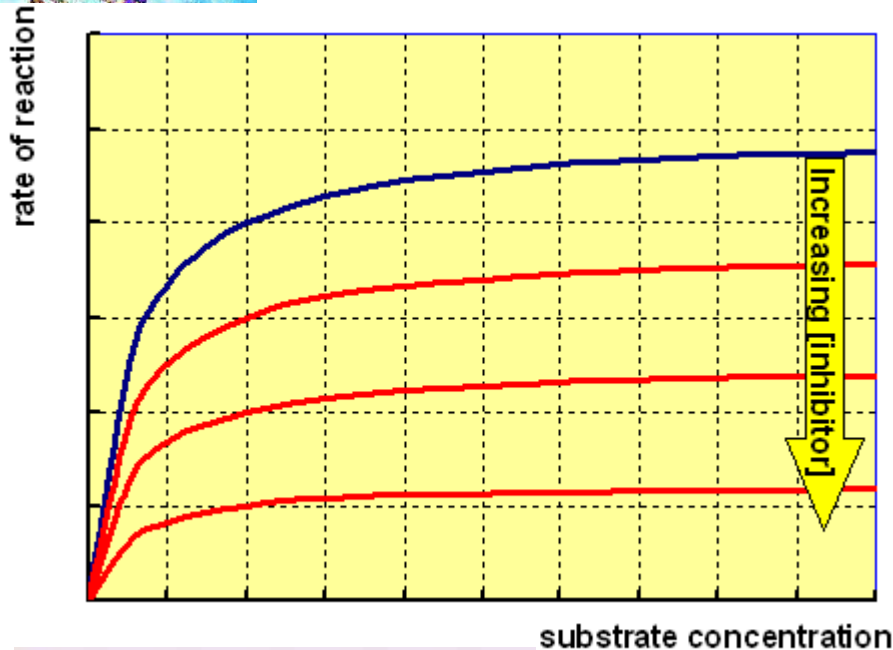
$$\frac{1}{V_o} = \left( \frac{K_m}{V_{\text{max}}} \right) [S] + \frac{\alpha'}{V_{\text{max}}}$$



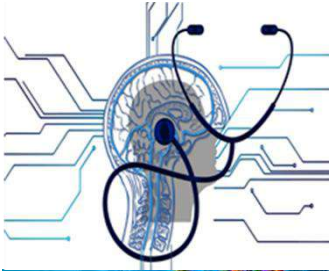
# INIBIÇÃO ENZIMÁTICA: INIBIÇÃO NÃO-COMPETITIVA

**INIBIÇÃO NÃO-COMPETITIVA:** Um inibidor não-competitivo liga-se a um sítio distinto do sítio catalítico da enzima.

$$K_M = \text{Constante e } V_{\text{MAX}} = \downarrow$$



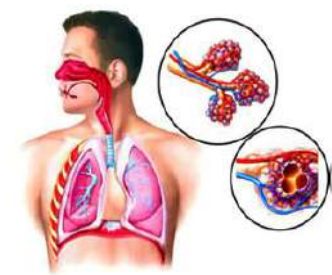
$$\frac{1}{V_0} = \left( \frac{K_m}{V_{\text{max}}} \right) \frac{1}{[S]} + \frac{\alpha'}{V_{\text{max}}}$$



# ***ENZIMAS COMO MARCADORES DIAGNÓSTICOS E ALVOS PARA O TRATAMENTO DE DOENÇAS***

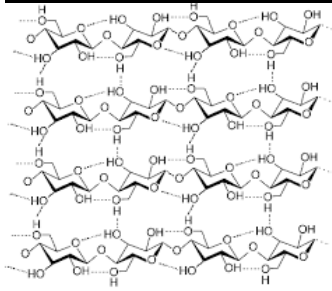
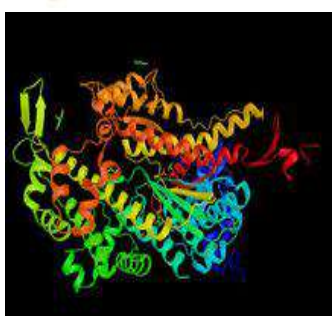


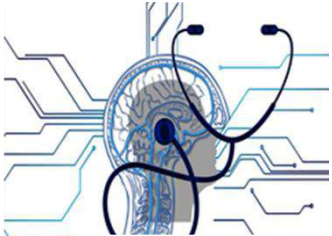
**ENZIMAS COMO ALVOS  
MOLECULARES PARA FÁRMACOS  
(INIBIDORES)**



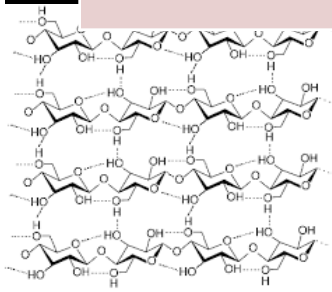
**ENZIMAS  
COMO FÁRMACOS**

**ENZIMAS COMO  
MARCADORES PARA  
DIAGNÓSTICO**





## ***INIBIDORES COMPETITIVOS: APLICAÇÃO COMO FÁRMACOS***

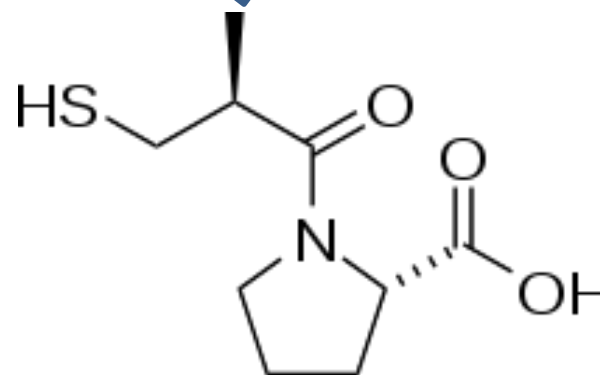


<b>FÁRMACO</b>	<b>ENZIMAS-ALVO</b>	<b>USO TERAPÊUTICO</b>
<b>ESTATINAS – Atorvastatin, Simvastatin</b>	<b>HMG CoA redutase</b>	<b>Decréscimo dos níveis de colesterol no plasma – Agente anti- hiperlipidêmico</b>
<b>Alopurinol</b>	<b>Xantina oxidase</b>	<b>GOTA</b>
<b>Metotrexato</b>	<b>Diidrofolato redutase</b>	<b>Câncer</b>
<b>Captopril</b>	<b>Enzima conversora de angiotensina</b>	<b>Pressão alta</b>
<b>Dicoumarol</b>	<b>Epóxido-redutase</b>	<b>Anticoagulante</b>

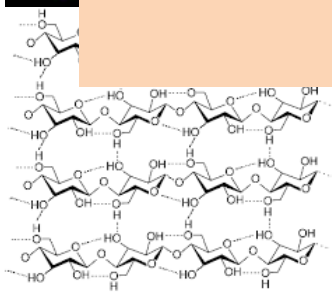
## CAPTOPRIL

**CAPTOPRIL é um inibidor da ENZIMA CONVERSORA DE ANGIOTENSINA:**

**EFEITO FINAL: Redução da pressão arterial**

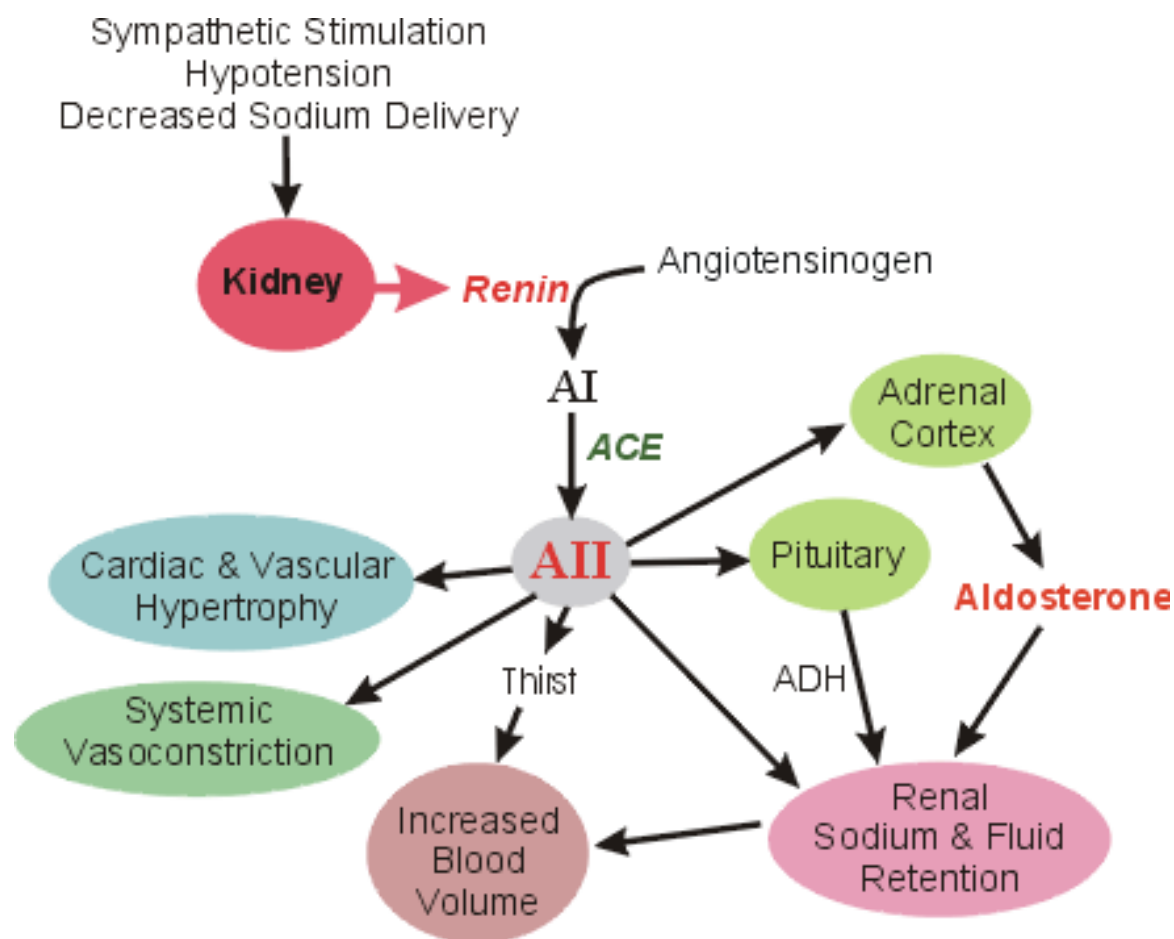
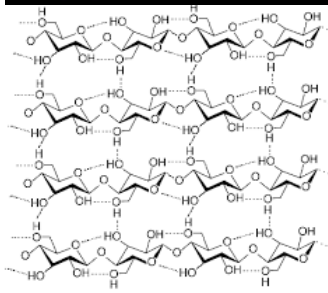
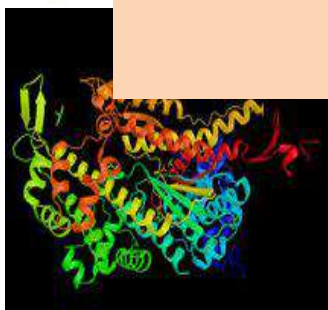
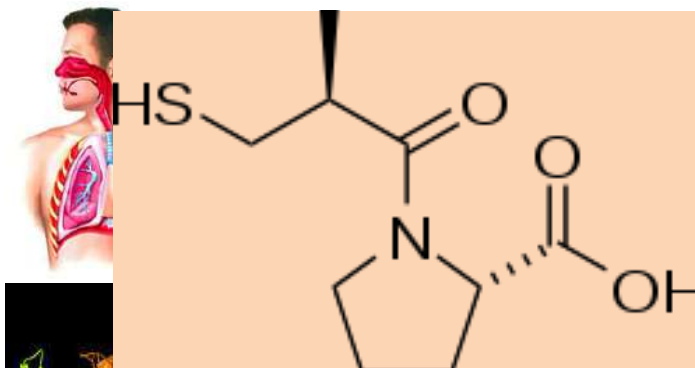


**CAPTOPRIL compete com a ANGIOTENSINA pelo sítio ativo da ENZIMA CONVERSORA DE ANGIOTENSINA**

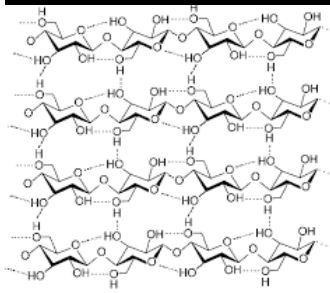
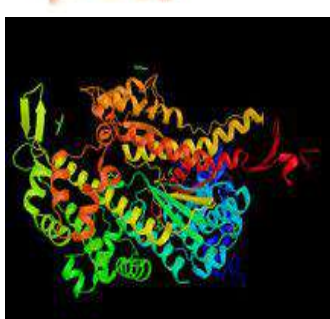
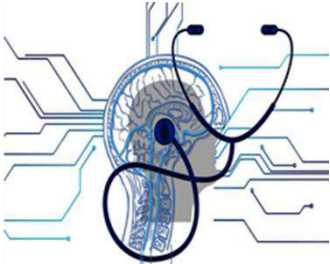


## CAPTOPRIL

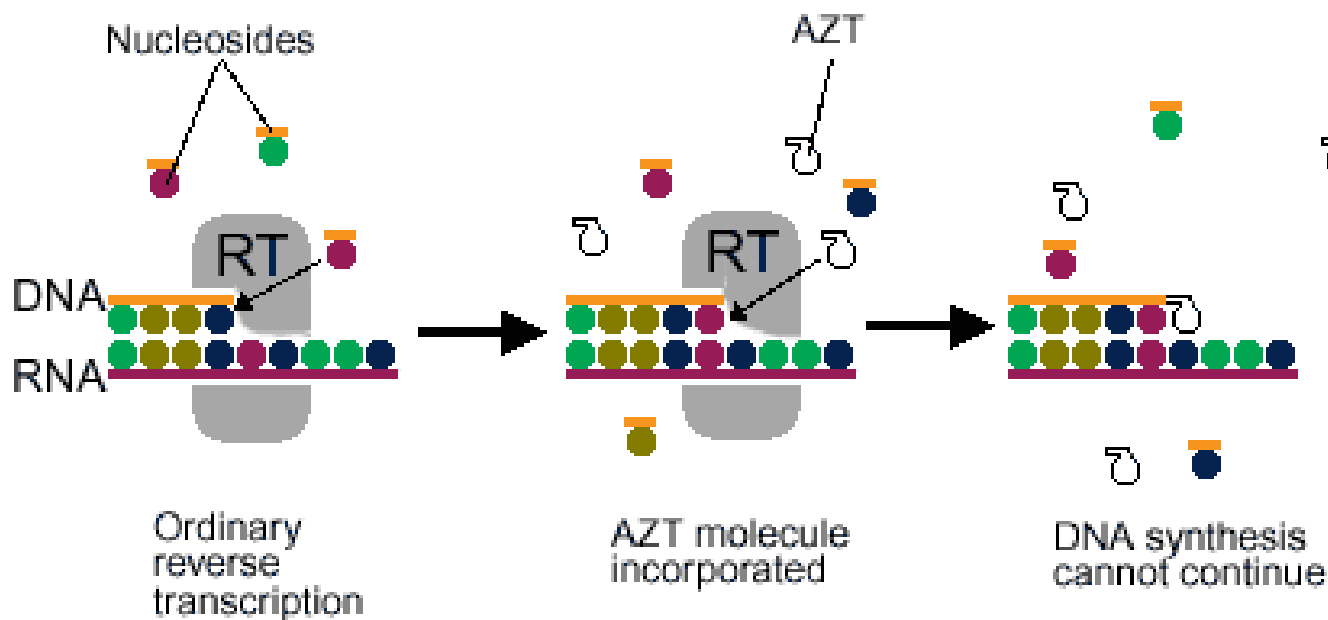
- ✓ CAPTOPRIL inibe a ENZIMA CONVERSORA DE ANGIOTENSINA - ACE
- ✓ (Captopril COMPETE com a Angiotensina) – INIBIÇÃO COMPETITIVA
- ✓ EFEITO FINAL: Redução da pressão arterial







# ANÁLOGOS DE NUCLEOTÍDEOS COMO INIBIDORES DA TRANSCRIPTASE REVERSA



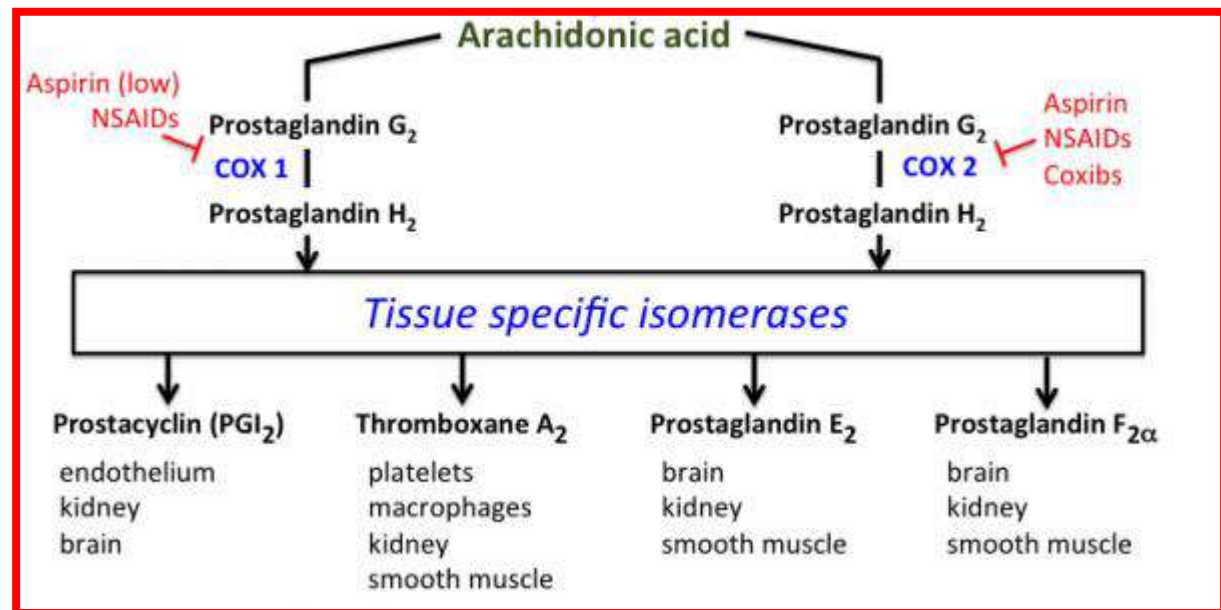
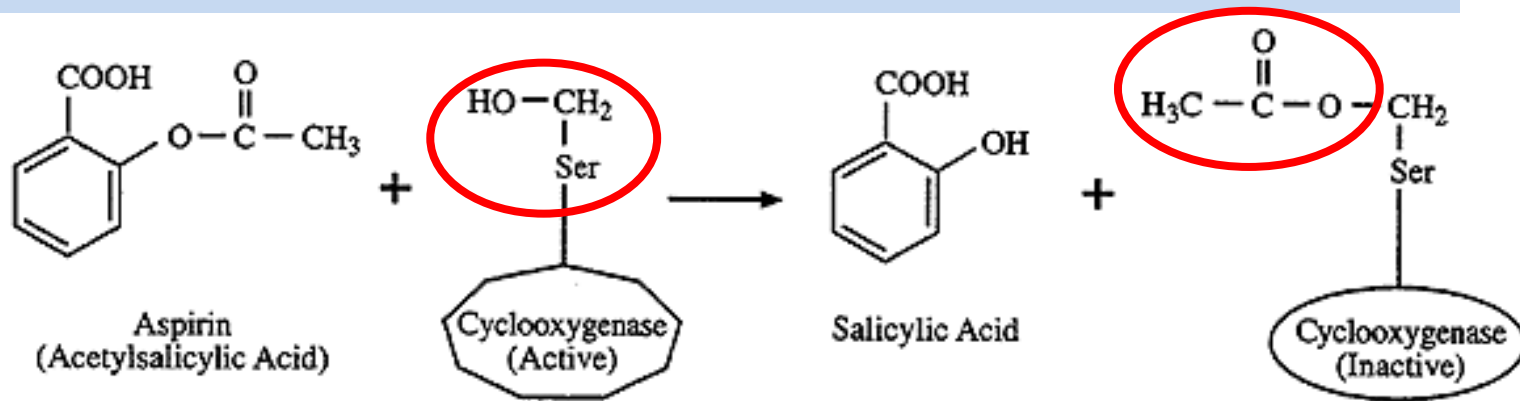
**AZT: Zidovudine**  
**ddl: Didanosine**  
**3TC: Lamivudine**  
**AT + 3TC: Combivir**  
**ABC: Abacavir**



# Lovastatina

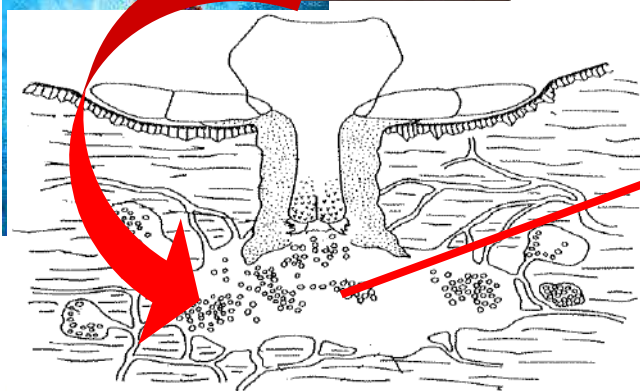
# ÁCIDO ACETIL SALICÍLICO: ASPIRINA

**ASPIRINA:** O ácido acetilsalicílico é um inibidor não competitivo da ciclooxygenase, primeira enzima da via da prostaglandina que desencadeia o efeito da dor (bloqueando o efeito da dor)

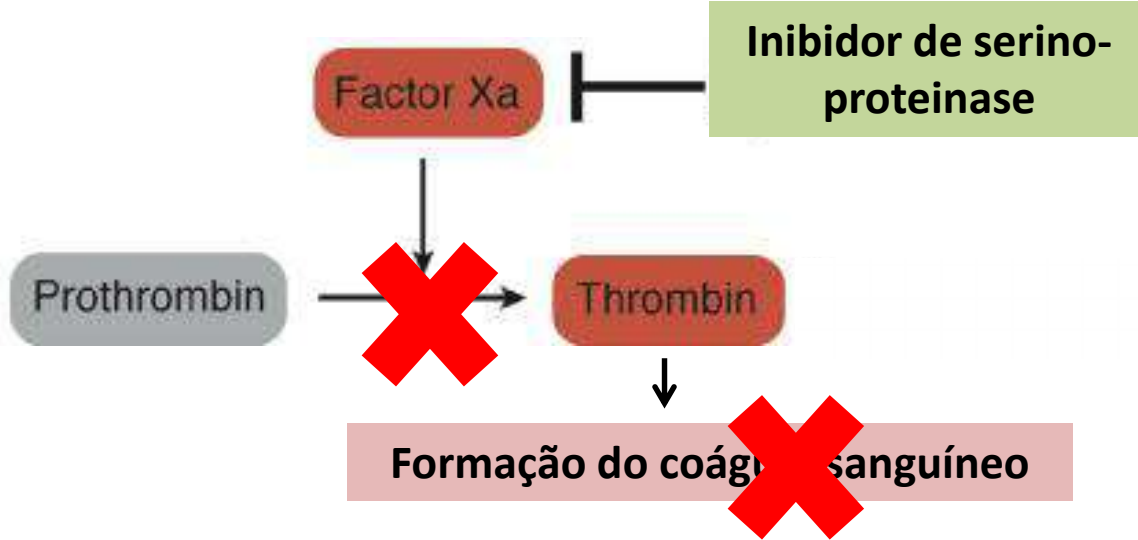
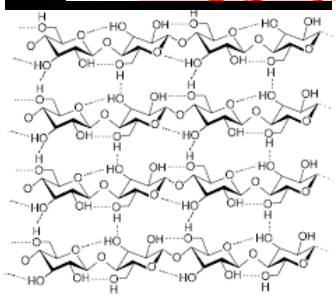
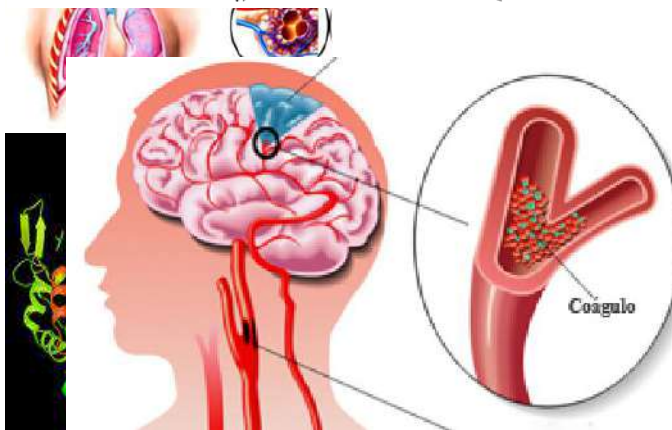




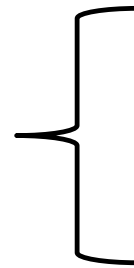
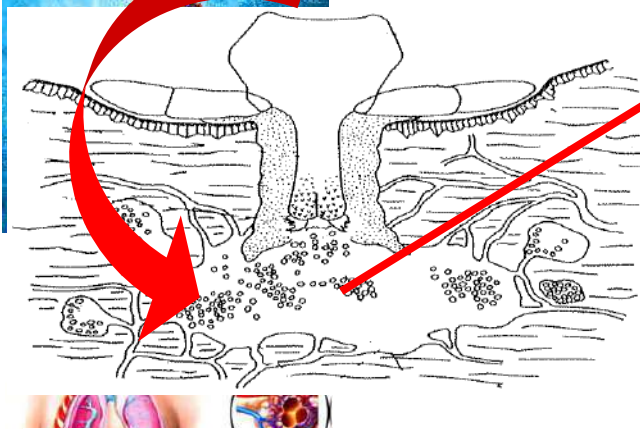
# INIBIDORES DE SERINO-PROTEINASES (Inibição do Fator Xa)



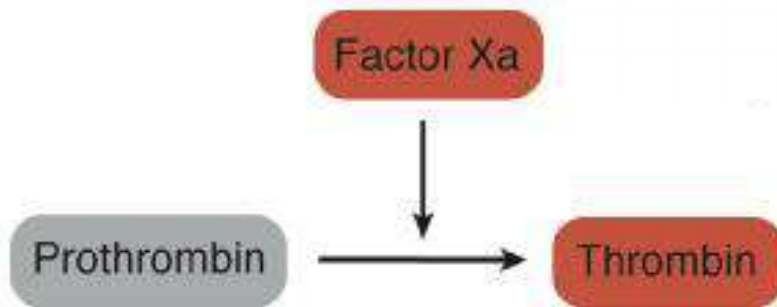
Inibidores de Serino-proteinases  
inibição do Fator Xa (serina-  
proteinase)



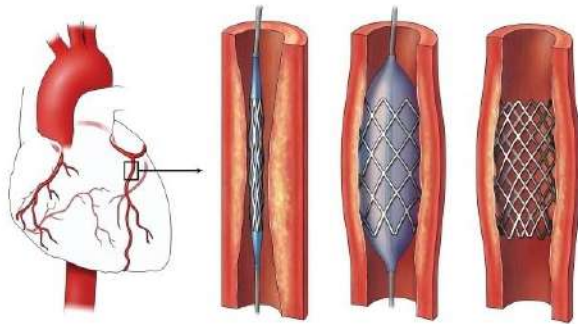




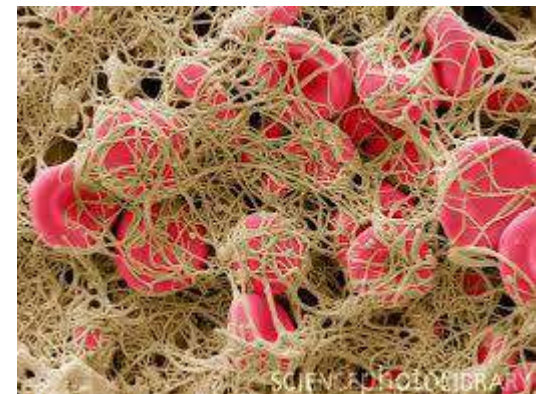
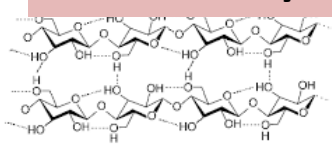
**Metaloproteases: hidrolisa  
filamentos de fibrina  
(coágulo sanguíneo)**



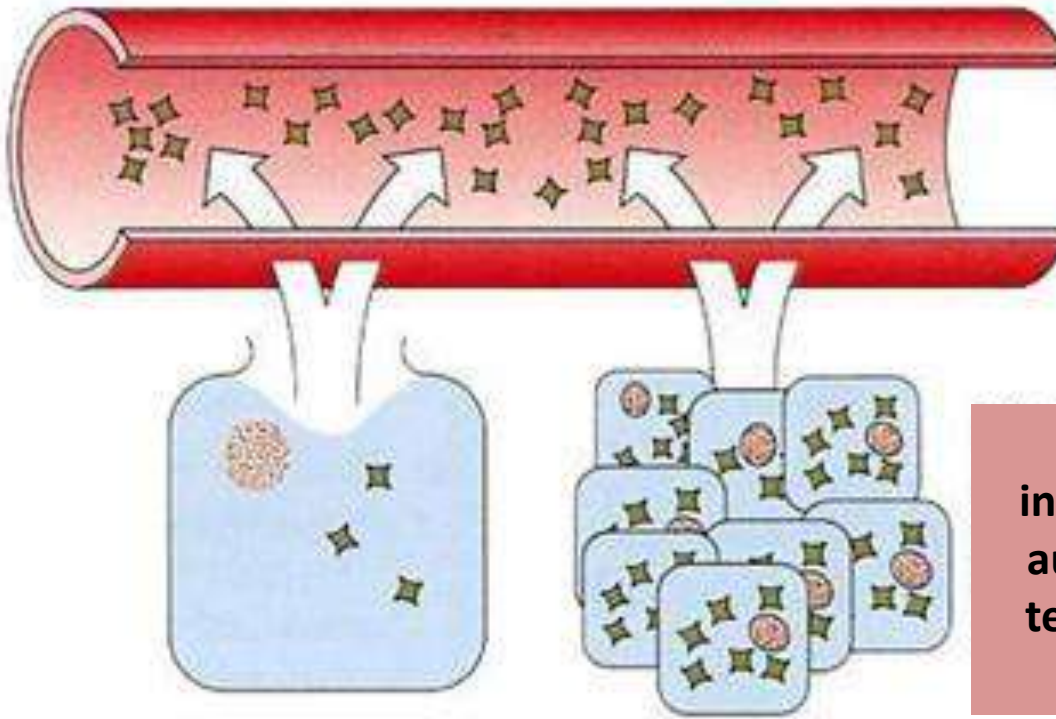
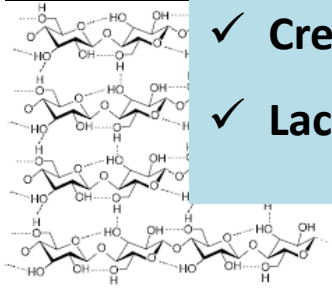
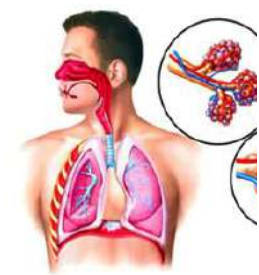
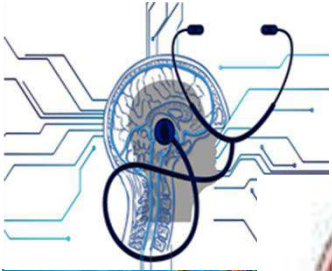
**Formação do coágulo sanguíneo**



**Aplicação de metaloproteases *in situ* : hydrolise da fibrina**



# ENZIMA COMO MARCADORES PARA DIAGNÓSTICO DE LESÕES

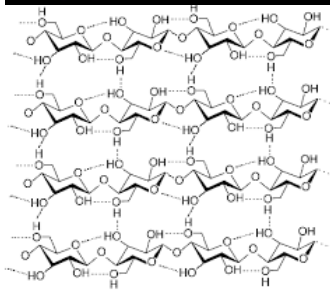
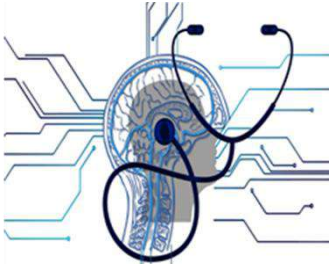
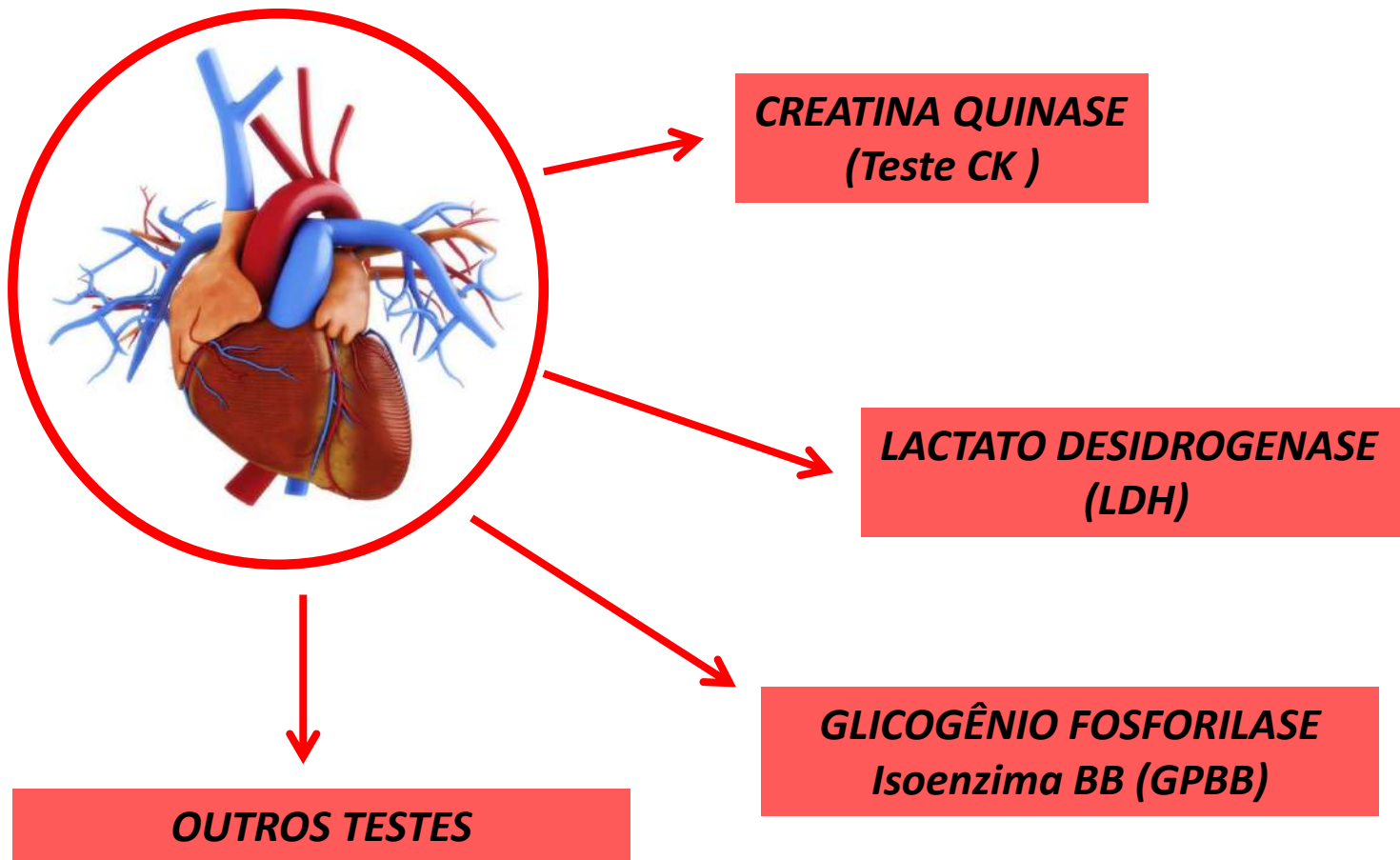


Níveis de enzimas intracelulares no plasma aumenta devido a dano tecidual ou crescimento celular anormal

## DANO TECIDUAL: LIBERAÇÃO DE ENZIMAS INTRACELULARES NO PLASMA:

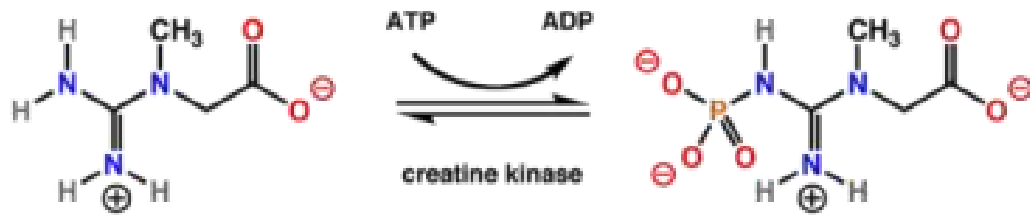
- ✓ Alanina aminotransferase (ALT): Lesão hepática
- ✓ Creatine cinase (Teste CK) – Infarto do miocárdio
- ✓ Lactato Desidrogenase (Teste LDH) – Infarto miocárdio

# ENZIMAS PARA TESTE DE LESÃO NA MUSCULATURA CARDÍACA



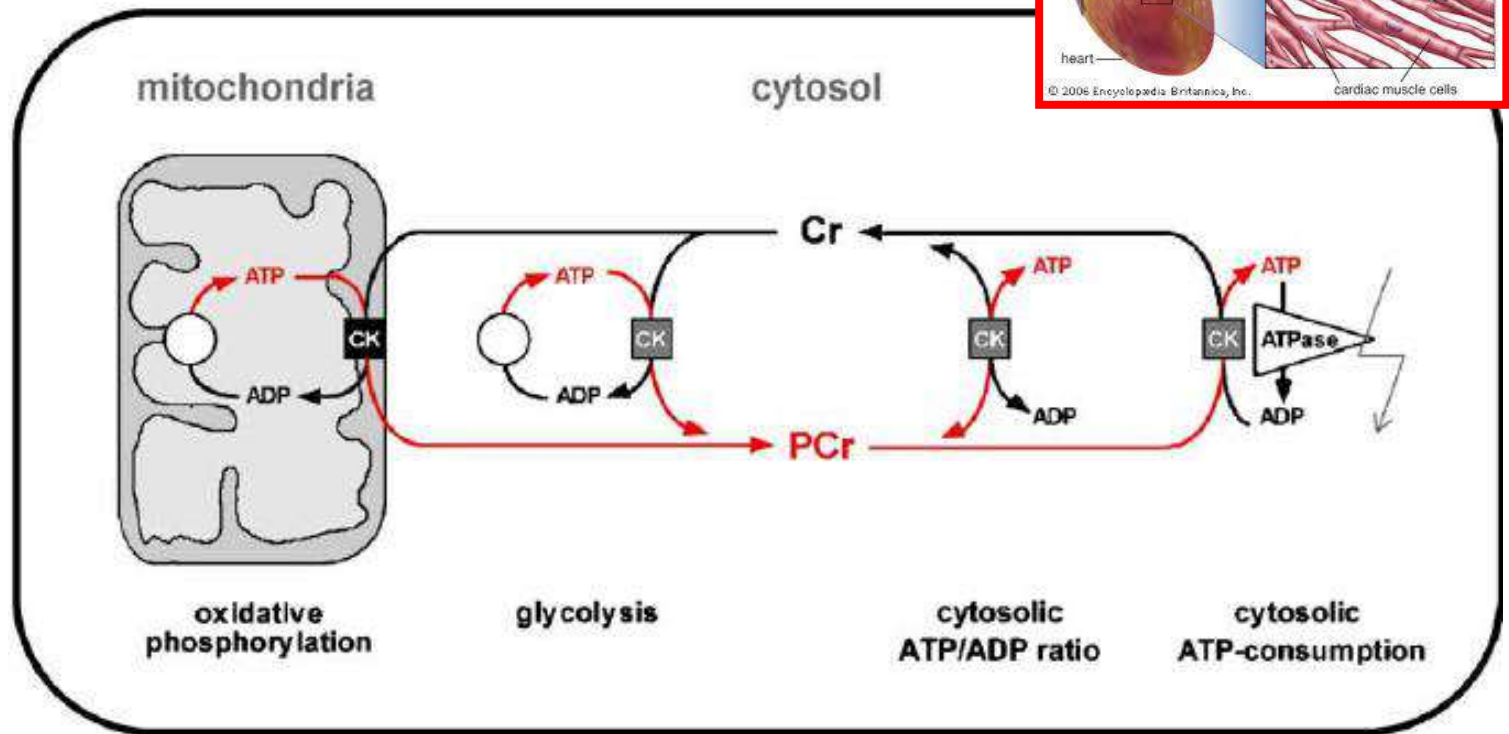
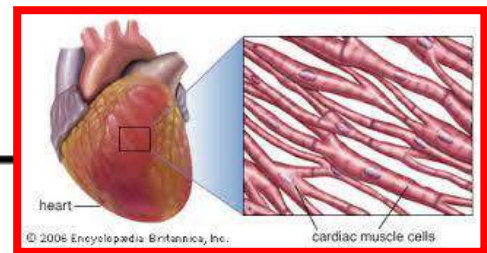


# ENZIMAS PARA TESTES DE LESÃO NO MIOCÁRDIO: CREATINA QUINASE ISOENZIMA BB

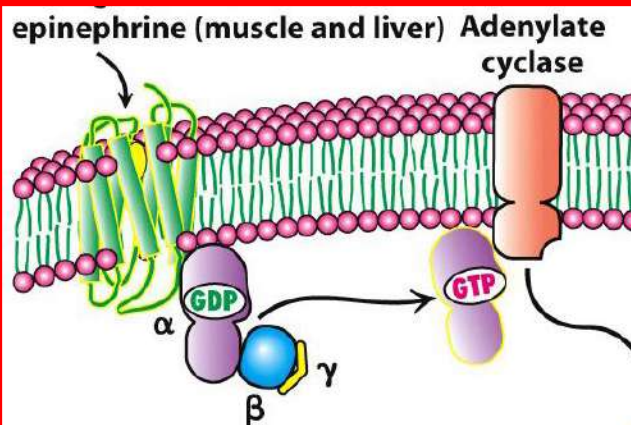
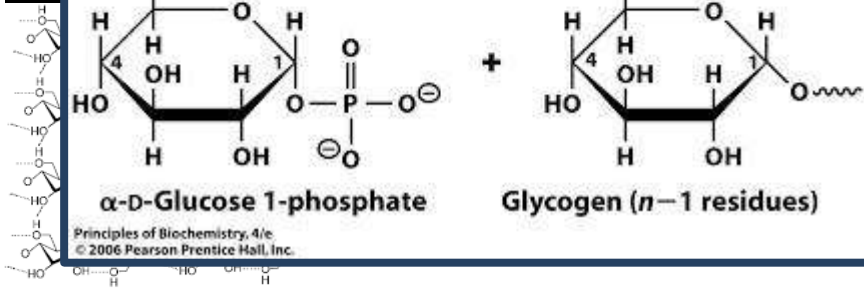
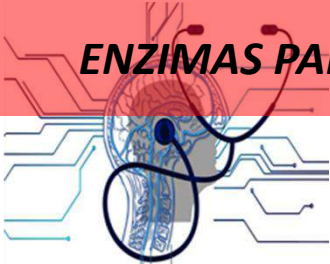


CREATINE

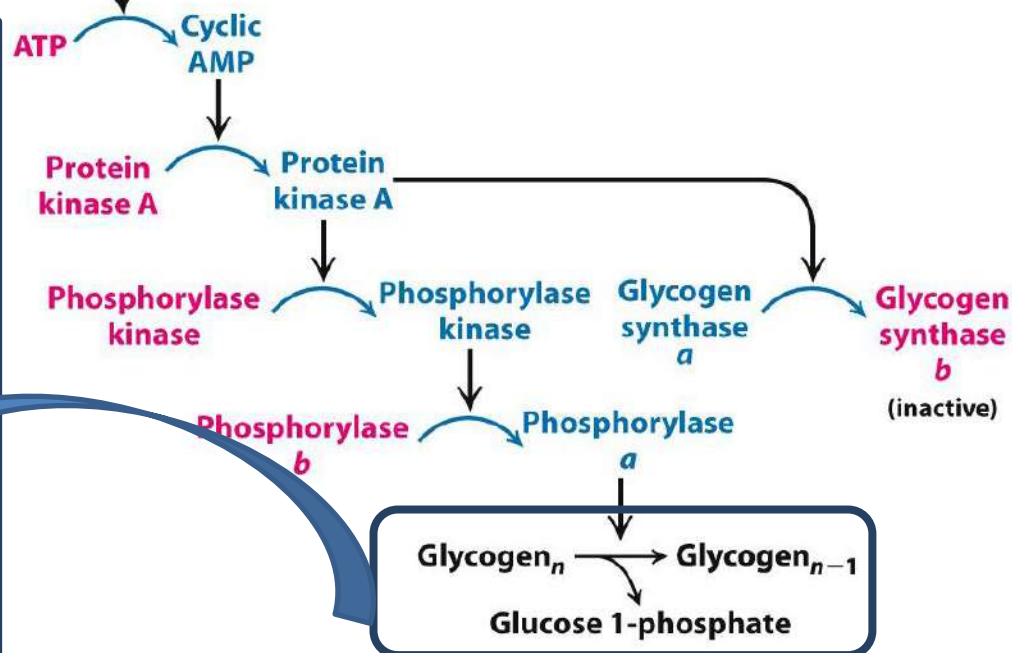
FOSFOCREATINE



# ENZIMAS PARA TESTES DE LESÃO NO MIOCÁRDIO : Glicogênio fosforilase (Isoenzima GP-BB)



Durante o processo de isquemia, GP-BB é convertida na sua forma solúvel e depois liberada na corrente sanguínea (Pico: 72 horas)



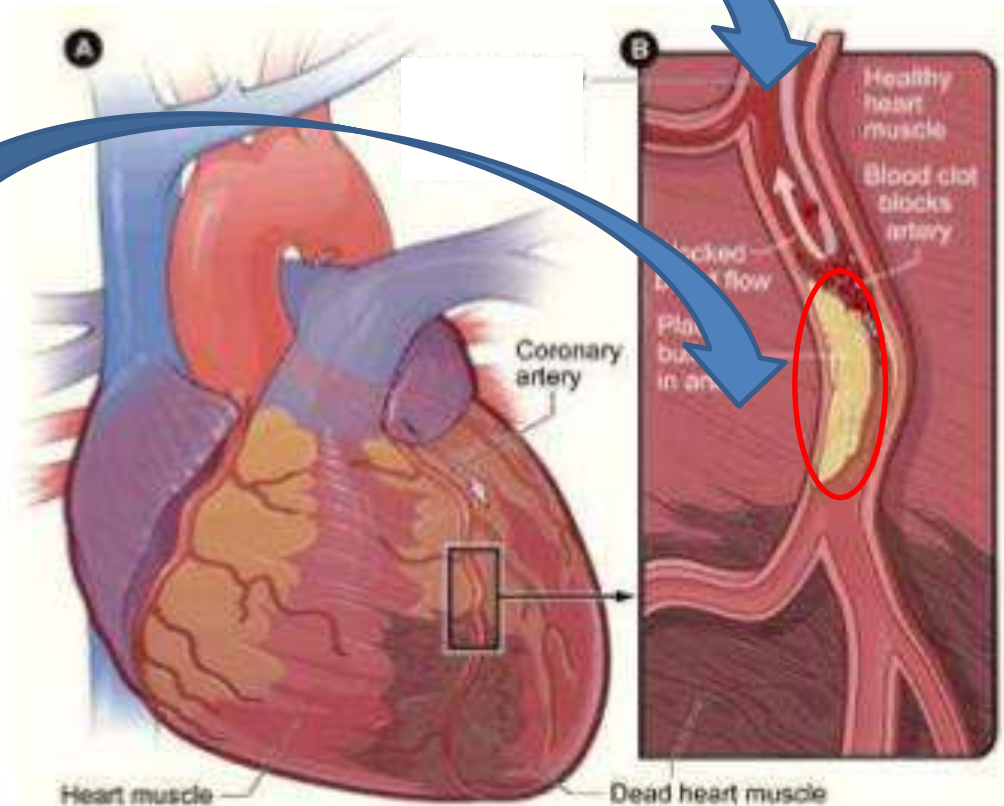


# ENZIMAS PARA TESTES DE LESÃO NO MIOCÁRDIO : Lactato Desidrogenase (LDH-1 e LDH-2)

**ARTERIA CORONÁRIA:** fornece sangue e oxigênio para musculatura cardíaca

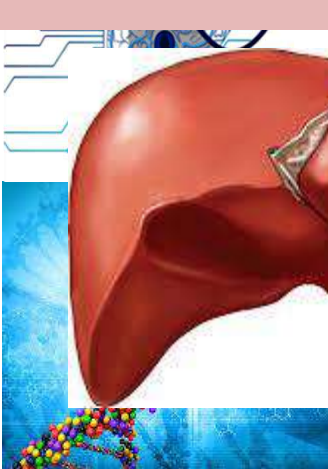
**Coágulos bloqueiam a artéria coronária:** Hipoxia e insuficiência cardíaca

**Metabolismo anaeróbico devido à hipoxia:** produção de lactato desidrogenases (LDH-1 e LDH-2)

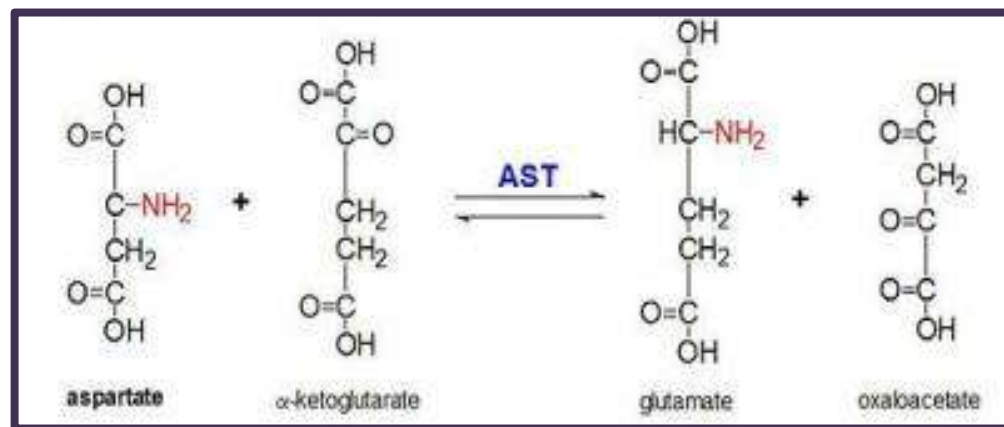
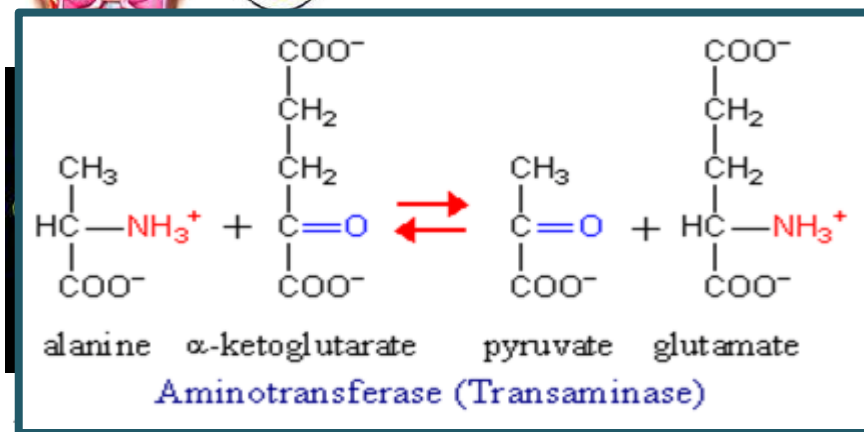
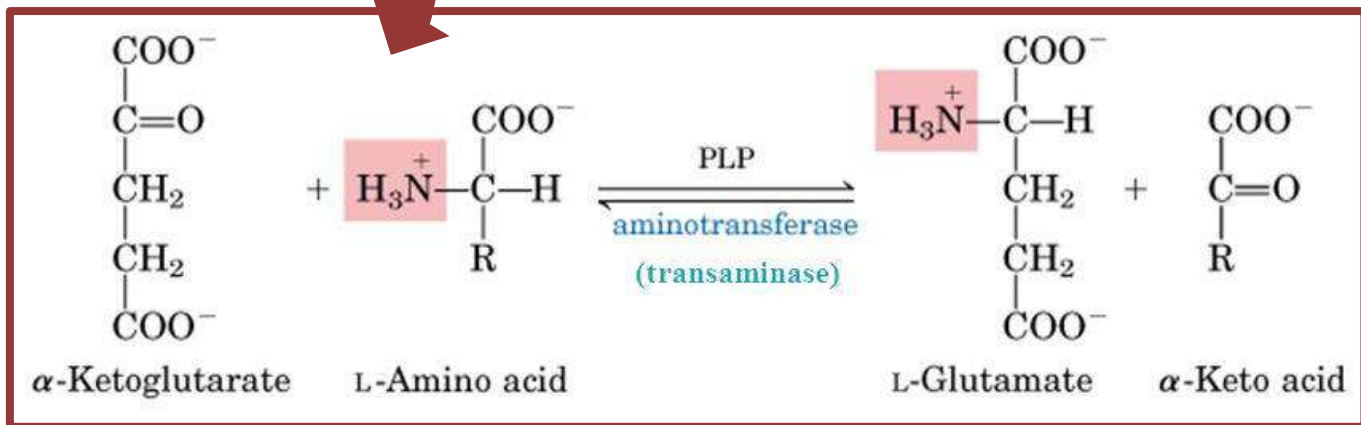


- ➔ Heart muscle cells die
- ➔ Release LDH into the bloodstream

# ENZIMAS PARA DETECÇÃO DE LESÕES HEPÁTICAS



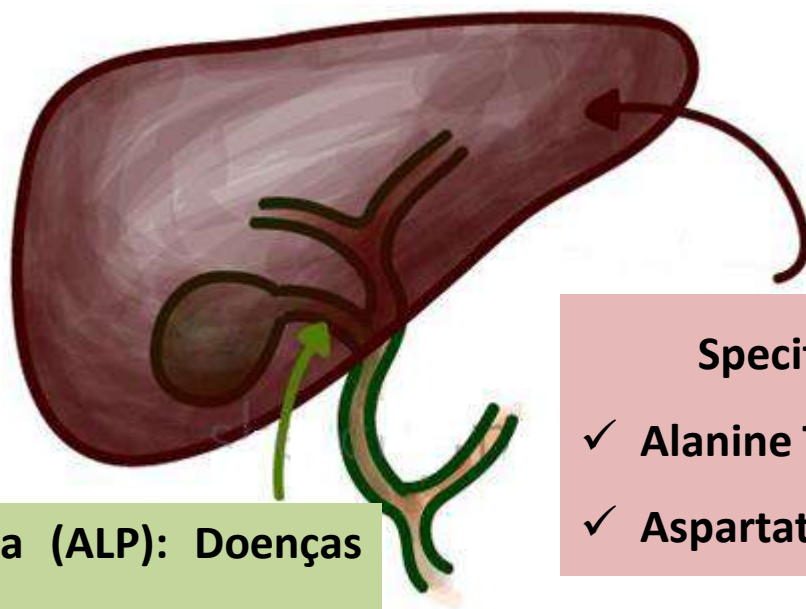
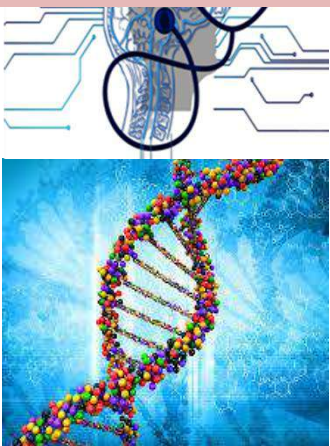
## Reação de transaminação



Alanina transaminase (ALT)

Aspartato transaminase (AST)  
Glutamato-Oxaloacetato Transaminase (GOT)

# ENZIMS PARA DETECÇÃO DE LESÕES HEPÁTICAS



**Specific to Liver Damage**

- ✓ Alanine Transaminase (ALT)
- ✓ Aspartate Transaminase (AST)\*

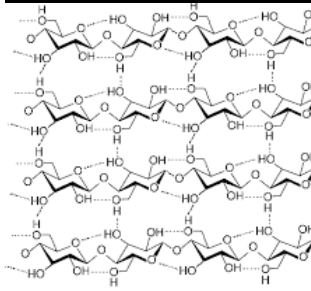
**Fosfatase alcalina (ALP): Doenças do trato biliar**

Obstrução ou inflamação do trato biliar resulta em uma maior concentração de ALP na circulação.

- ✓  $AST > ALT$  2 ou 3 vezes (cirrose alcoólica)
- ✓  $ALT > AST$  gordura no fígado
- ✓  $ALT > AST$  1000X (Hepatite viral aguda; toxinas)

**Altos valores de AST são encontrados quando:**

- ✓ Disfunção hepática induzida por drogas
- ✓ Tumor metastático do fígado



## ENZIMAS DE IMPORTÂNCIA DIAGNÓSTICA



ENZIMA	PRINCIPAIS FONTES	APLICAÇÕES CLÍNICAS
ALANINA TRANSAMINASE (ALT)	Fígado, músculo esquelético, coração	Doença do fígado parenquimatoso
ALDOLASE	Músculo esquelético, coração	Doenças musculares
AMILASE	Glândulas salivares, pâncreas, ovários	Doenças pancreáticas
FOSFATASE ALCALINA	Próstata, glóbulos vermelhos,	Carcinoma da próstata
ASPARTATO TRANSAMINASE (AST)	Fígado, músculo esquelético, coração, rim, glóbulos vermelhos	Infarto do miocárdio, doença do fígado parenquimatoso, doença muscular
COLINESTERASE	Fígado	Envenenamento por inseticida organofosfato, doenças hepáticas parenquimatosas
CREATINA QUINASE (CK)	Músculo esquelético, cérebro, coração, músculo liso	Infarto do miocárdio, doenças musculares
ALCALINE FOSFATASE	Fígado, osso, mucosa intestinal, placenta, rim	Doenças ósseas, doenças hepatobiliares
LACTATO DESIDROGENASE (LDH)	Coração, Fígado, Músculo esquelético, glóbulos vermelhos e plaquetas	Infarto do miocárdio, hemólise, doença hepática parenquimatoso