

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE RORAIMA
CURSO DE MEDICINA
Disciplina: Bioquímica
MÓDULO 1: Biomoléculas

AULA 2
ENZIMAS, CINÉTICA ENZIMÁTICA E SUAS APLICAÇÕES NO
DIAGNÓSTICO CLÍNICO

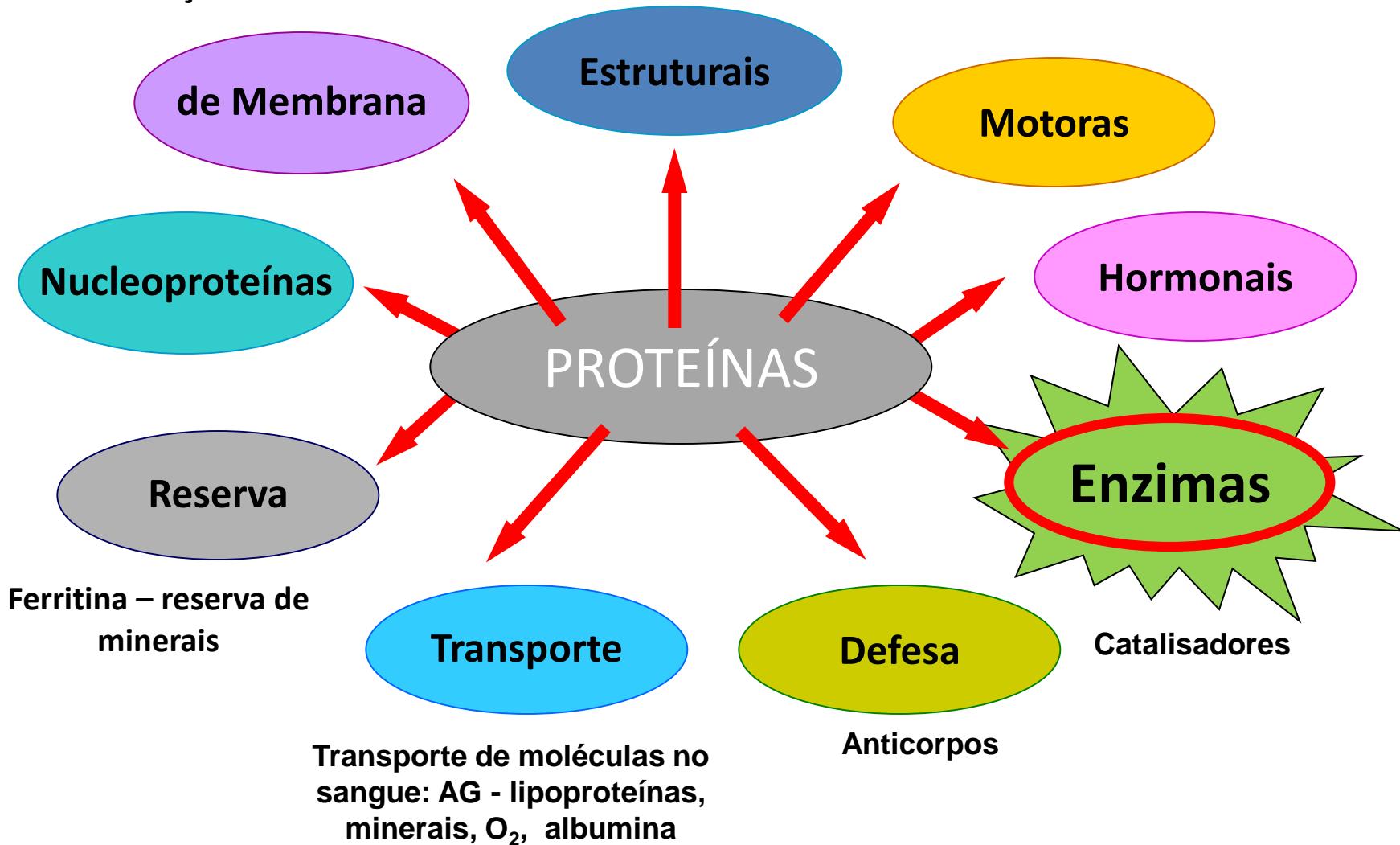
Prof. Higo Nasser S. Moreira
Doctor Scientiae em Bioquímica Aplicada
Universidade Federal de Viçosa – Brasil
Docente do Curso de Medicina da Universidade Estadual de Roraima

Boa Vista – Roraima

FUNÇÕES DAS PROTEÍNAS

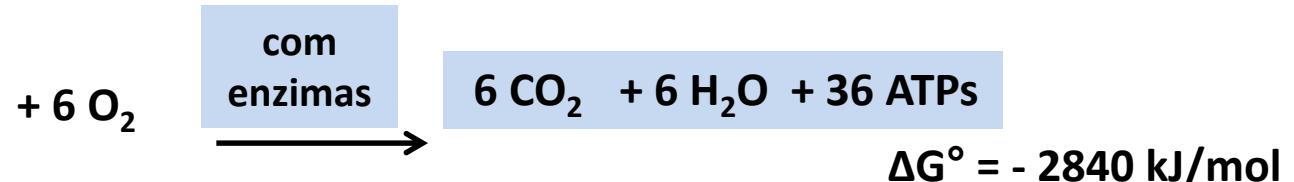
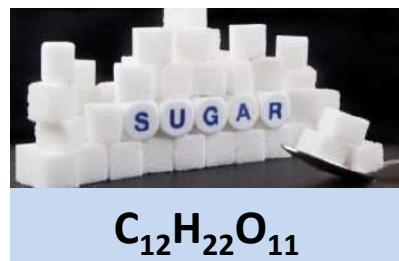
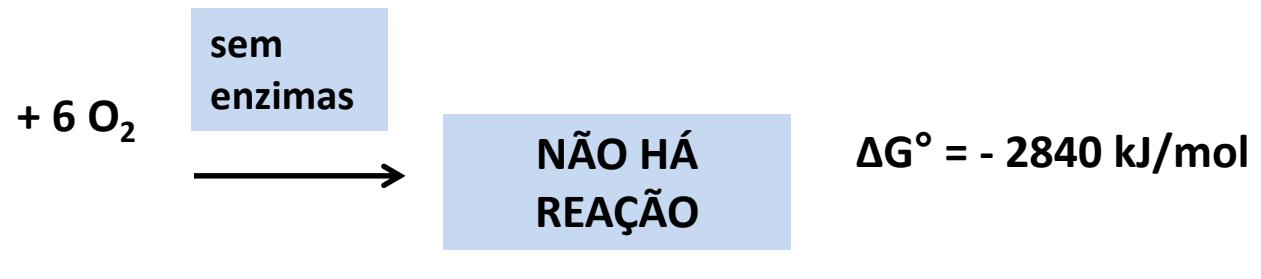
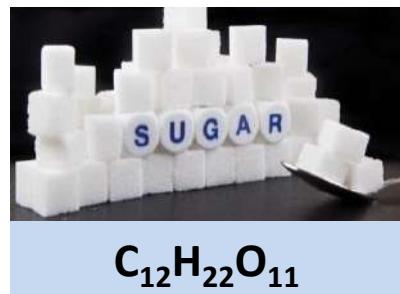
Transportadores transmembranas:
canais iônicos, transp. de elétrons,
transdução de sinais

Centríolos – actina, miosina, troponina.
Túbulos - ancorina

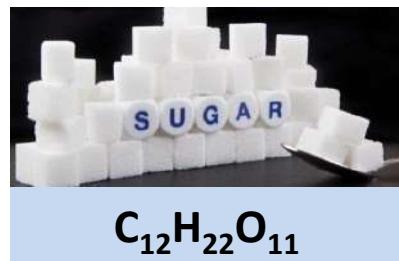


1. ENZIMAS: FUNDAMENTOS

- ✓ 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)

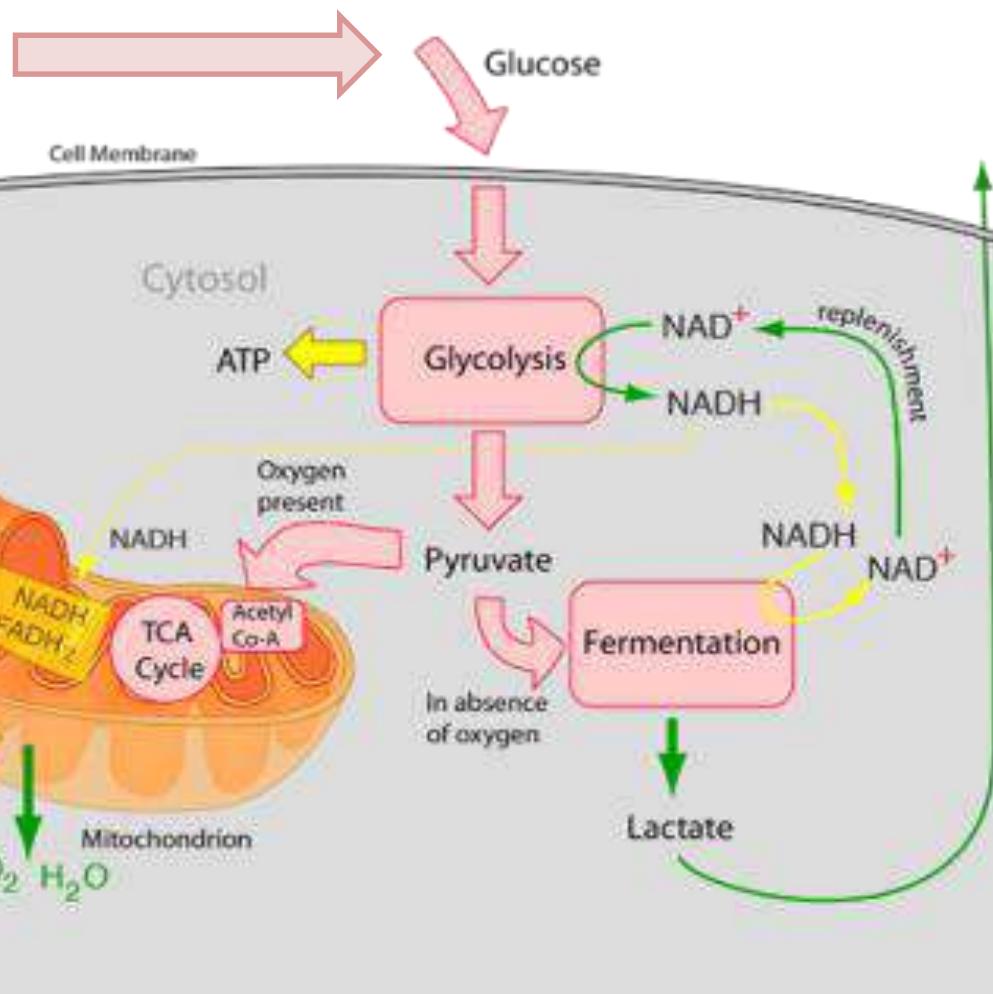


1. ENZIMAS: FUNDAMENTOS



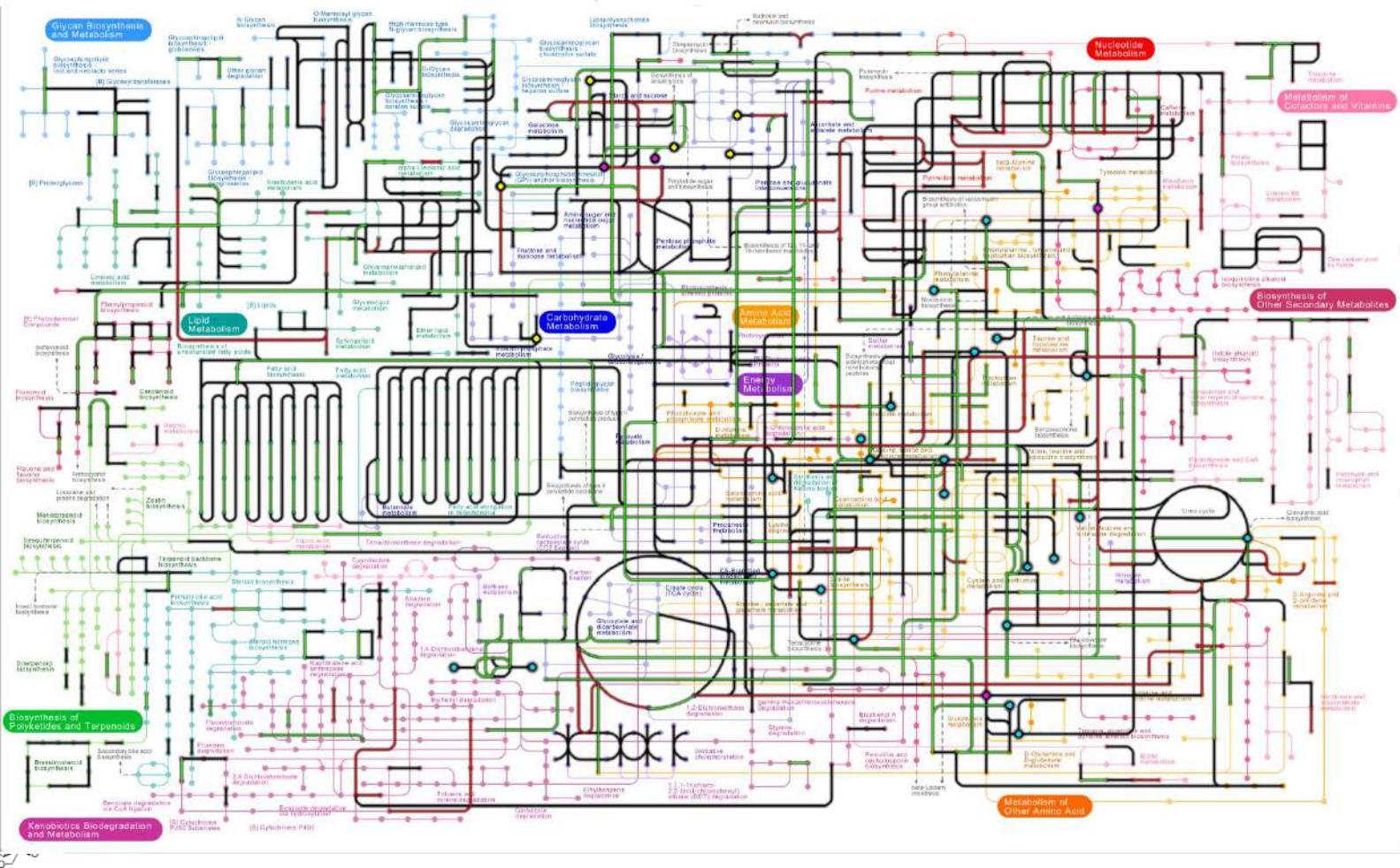
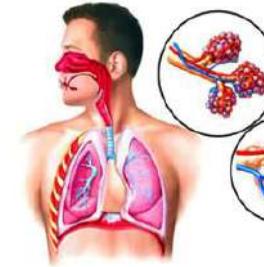
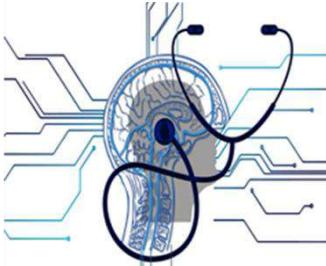
$$\Delta G^\circ = -2840 \text{ kJ/mol}$$

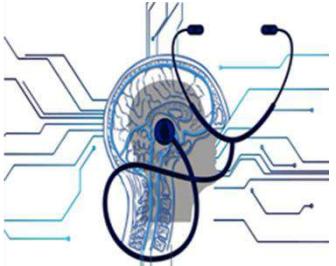
Sacarose



1. ENZIMAS: FUNDAMENTOS

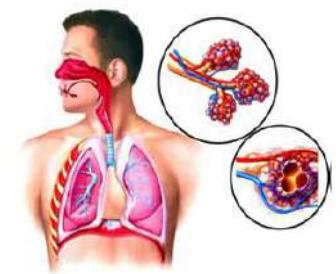
- ✓ ENZIMAS (e seus respectivos controles de taxas de expressão e controle alostérico) são responsáveis por organizar uma sequencia coordenada de reações metabólicas.





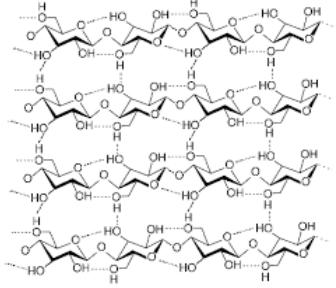
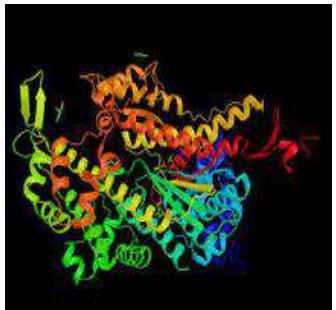
ATIVIDADE ENZIMÁTICA

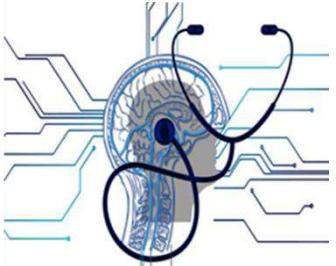
- 
- ✓ Enzimas podem aumentar a velocidade de uma reação biológica em uma ordem de 10^{17} vezes.



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}



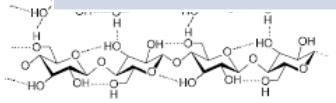


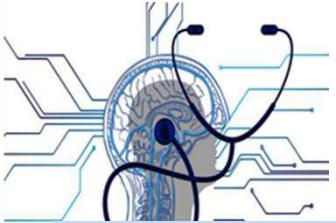
COFATORES

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

Alguns íons inorgânicos que servem como cofatores enzimáticos

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

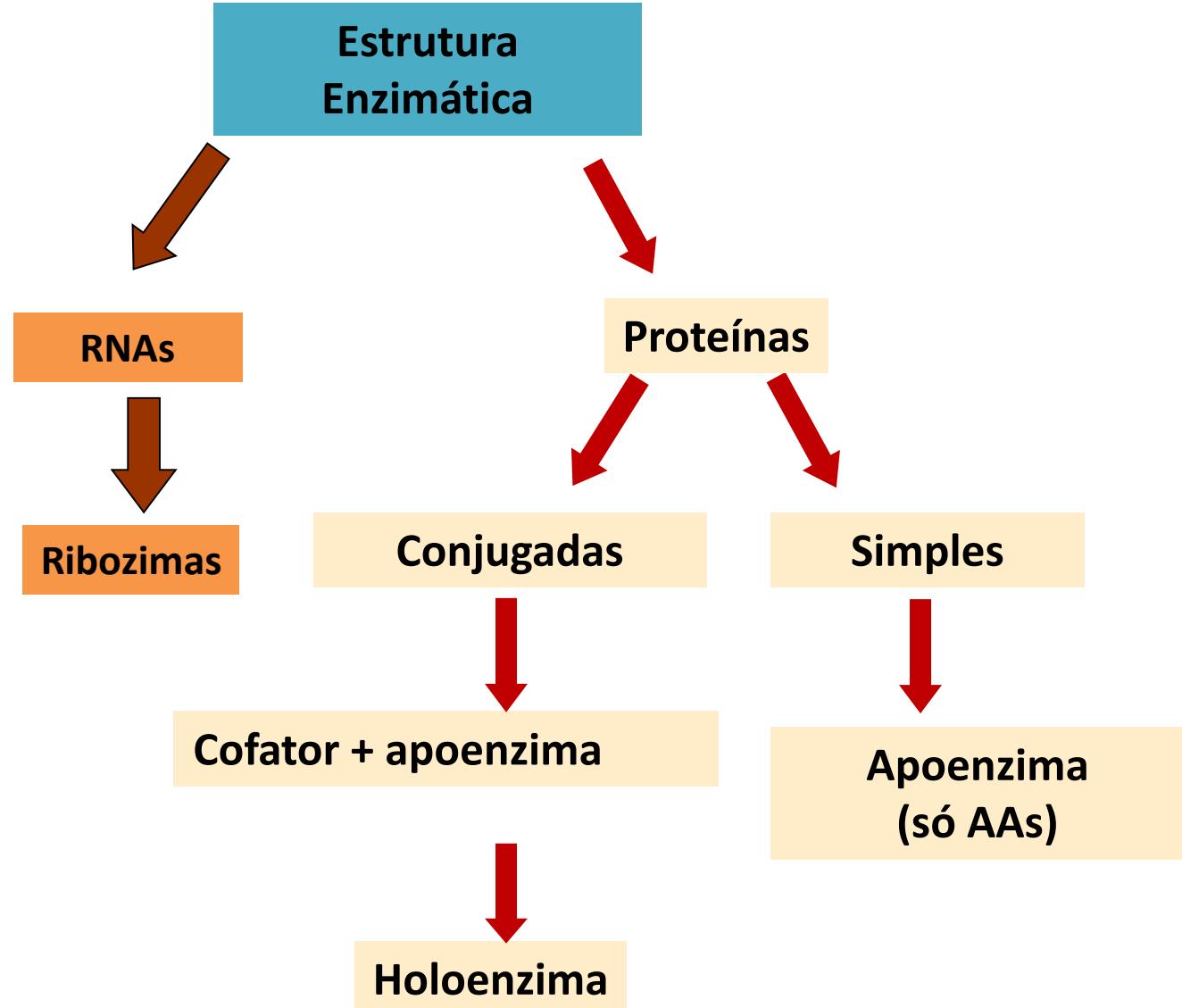
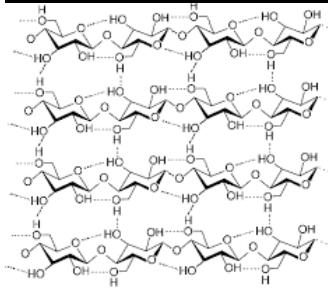
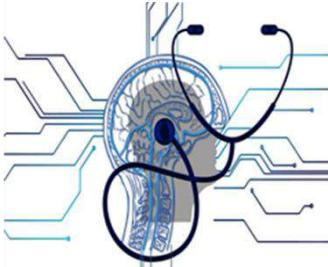


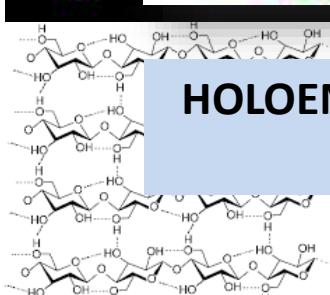
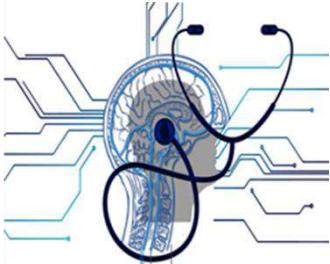


COENZIMAS

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

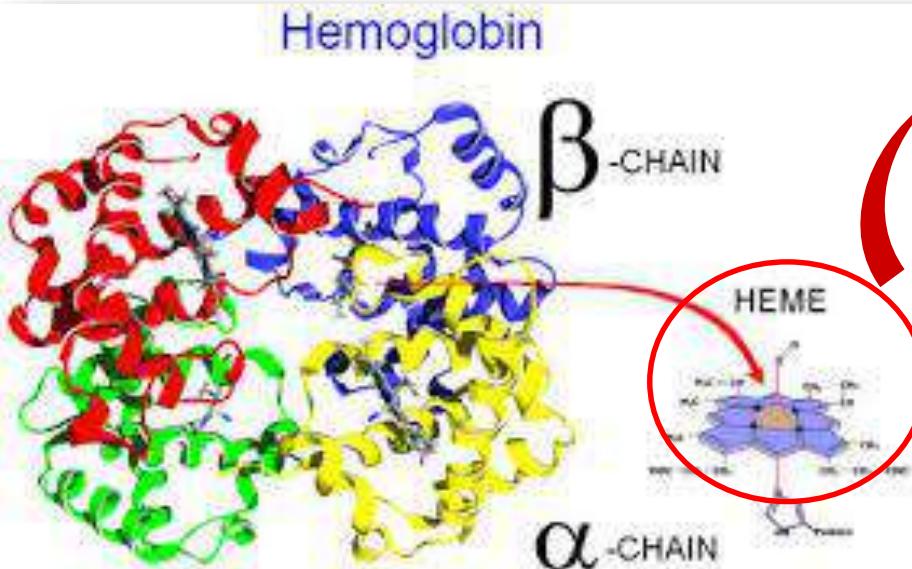
Coenzima	Grupo químico transferido	Precursor em mamíferos (dieta)
Biocitina	CO ₂	Biotina
Coenzima A	Grupos Acil	Ácido pantotênico
Coenzima B ₁₂	Átomos de H e grupos Acil	Vitamina B ₁₂
Flavina adenina dinucleotídeo	Elétrons	Riboflavina (Vitamina B ₂)
Lipoato	Elétrons e grupos acil	Não requerido na dieta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



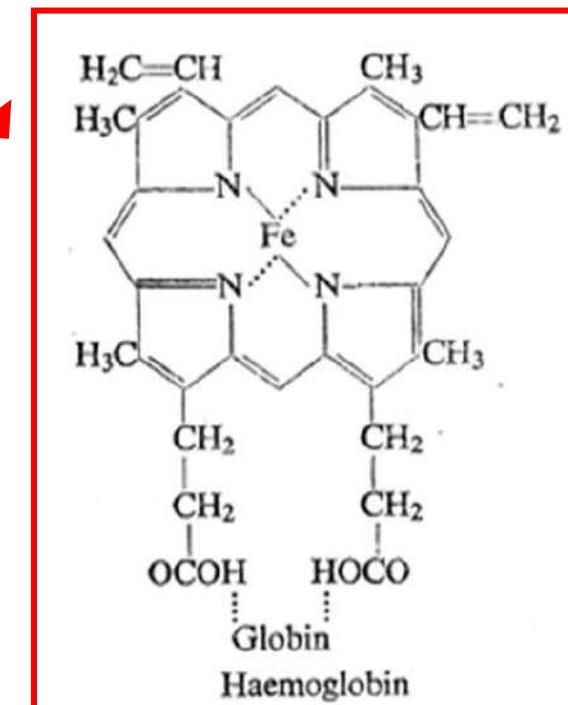


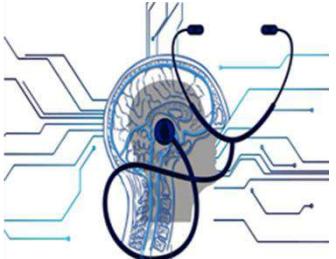
GRUPOS PROSTÉTICOS

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

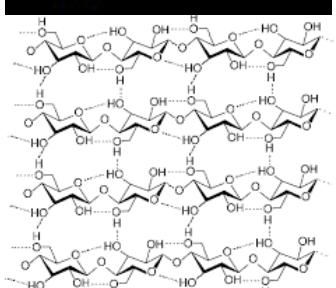
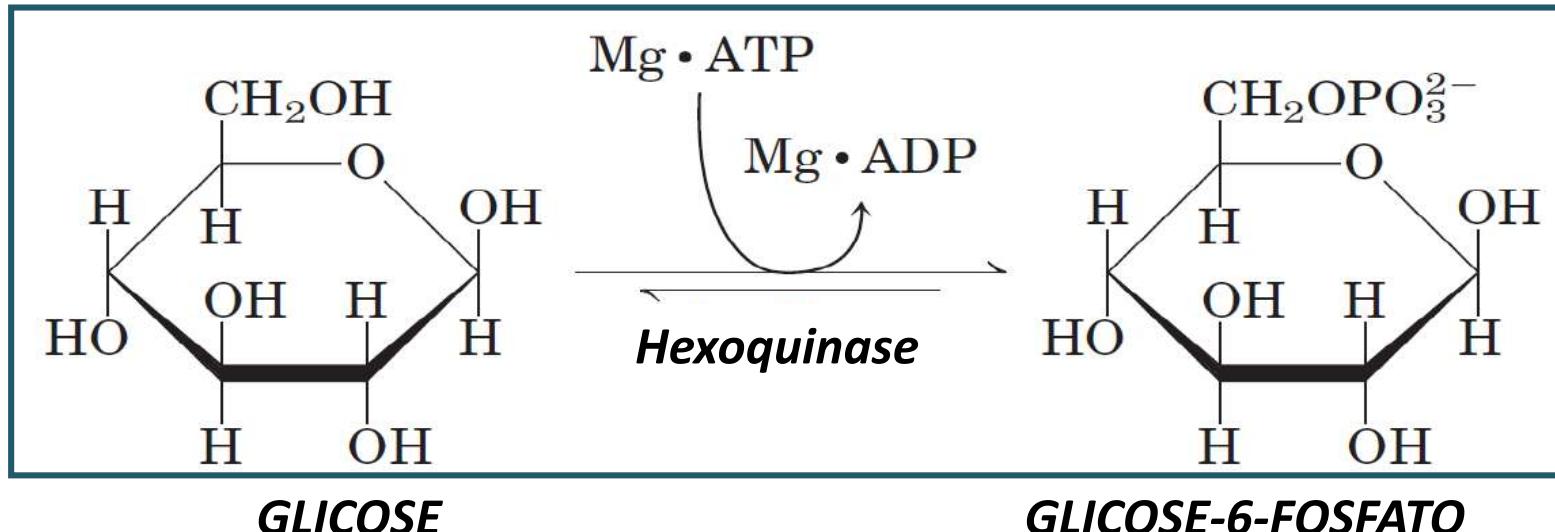
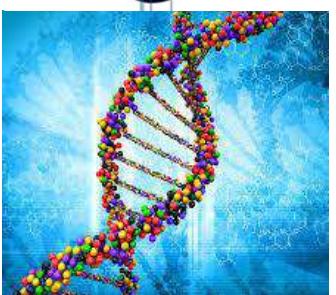


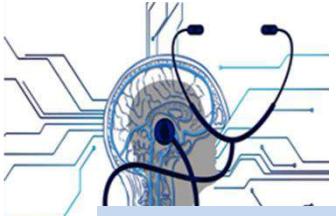
HOLOENZIMA: Enzima ativa + componente não proteico





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 entre moléculas. Quase sempre requerem coenzimas.



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



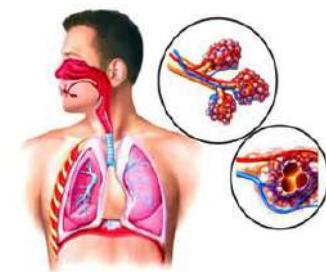
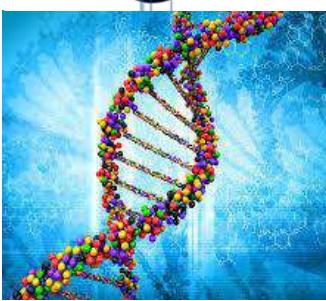
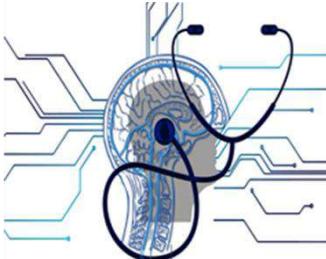
CLASSE 4 – LIASE ou SINTASE: Enzimas que catalisam reações de quebra ou formação de novas ligações químicas.



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)

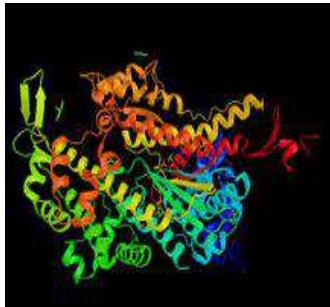
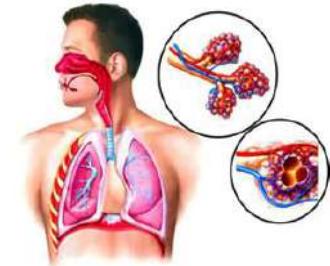
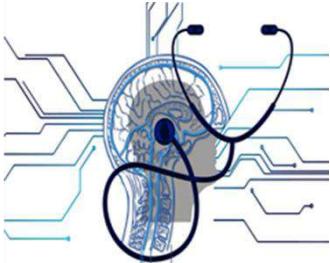
EC = **1.1.1.27**

CLASSE: 1 óxido-redutase

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

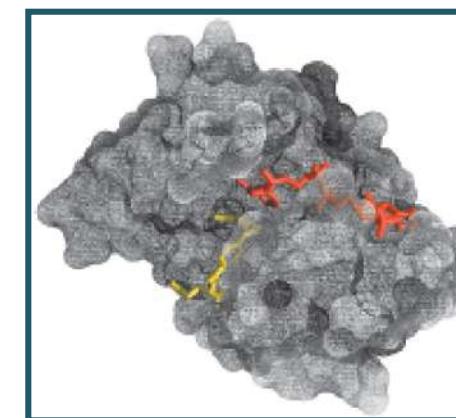
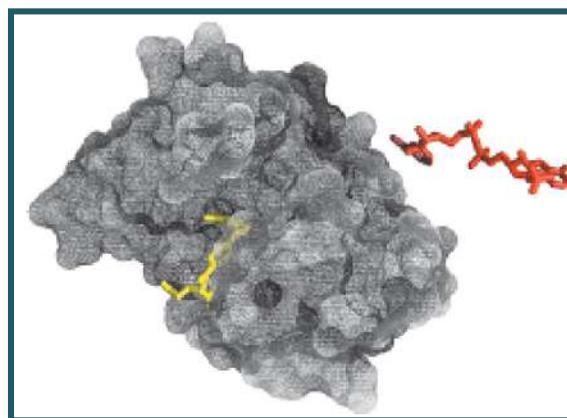
SUB-SUBCLASSE: 1.1.1. NAD(P)+ como acceptor de elétrons;

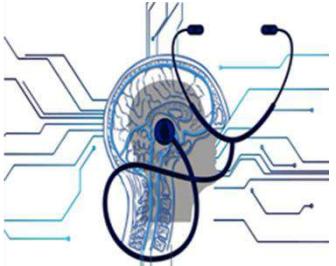
NÚMERO DA ENZIMA DENTRO DA SUBCLASSE: 27



CATÁLISE ENZIMÁTICA

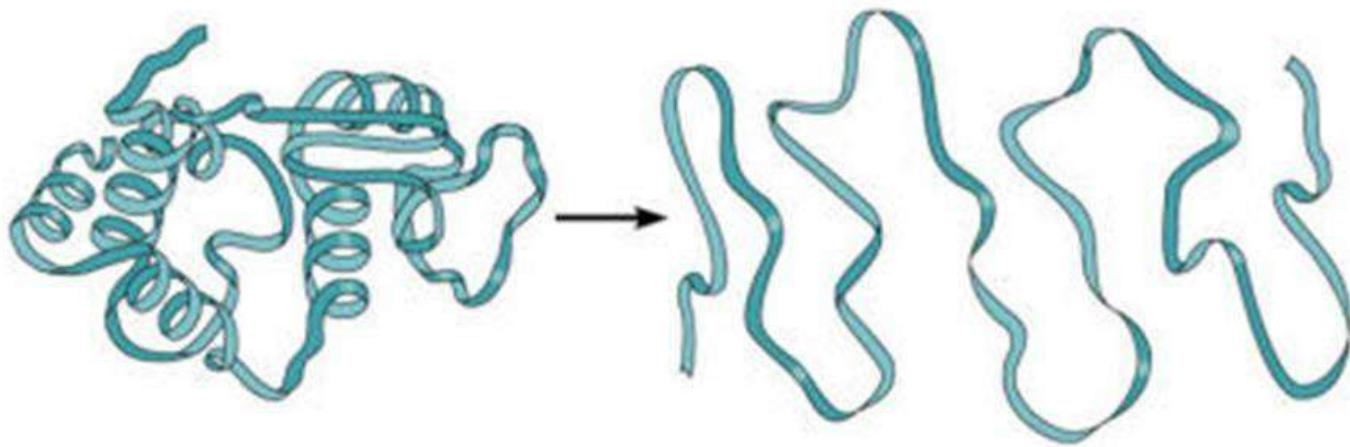
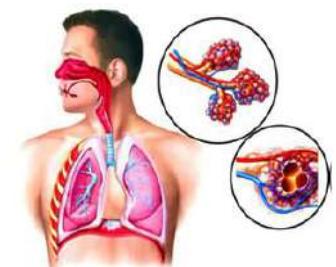
- ✓ A reação ocorre em uma fenda ou cavidade denominada SÍTIO ATIVO ou SÍTIO CATALÍTICO
 - ✓ O substrato se liga ao sítio catalítico da enzima formando o complexo enzima-substrato (ES);
 - ✓ Ocorre a reação formado o complexo enzima-produto (EP) que se dissocia em enzima livre (E) e mais produto (P).





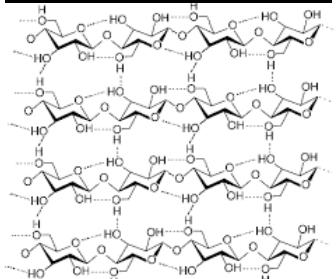
CATÁLISE ENZIMÁTICA

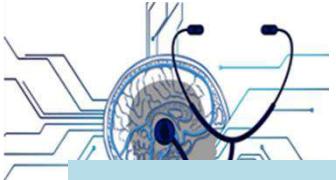
- 
- ✓ A atividade catalítica depende da conformação nativa, que pode ser perdida com a desnaturação ou com a hidrólise da cadeia polipeptídica.



INTERAÇÕES FRACAS:

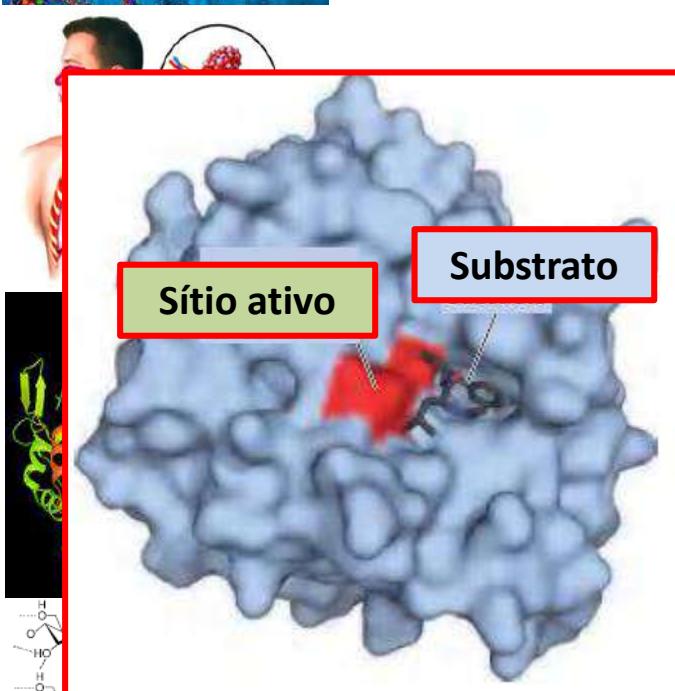
- ✓ Ligação de Hidrogênio
- ✓ Dipolo-dipolo permanente
- ✓ Interações de Van de Waals
- ✓ Forças eletrostáticas
- ✓ Pontes dissulfeto



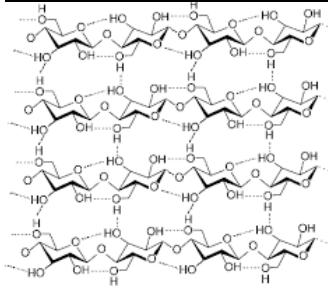
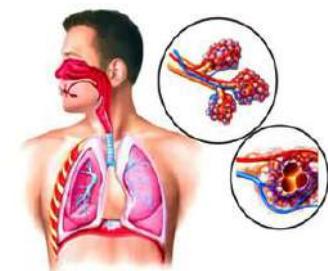
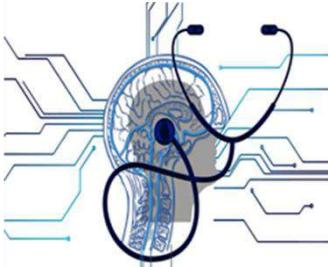


CATÁLISE ENZIMÁTICA: COMO AS ENZIMAS TRABALHAM?

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

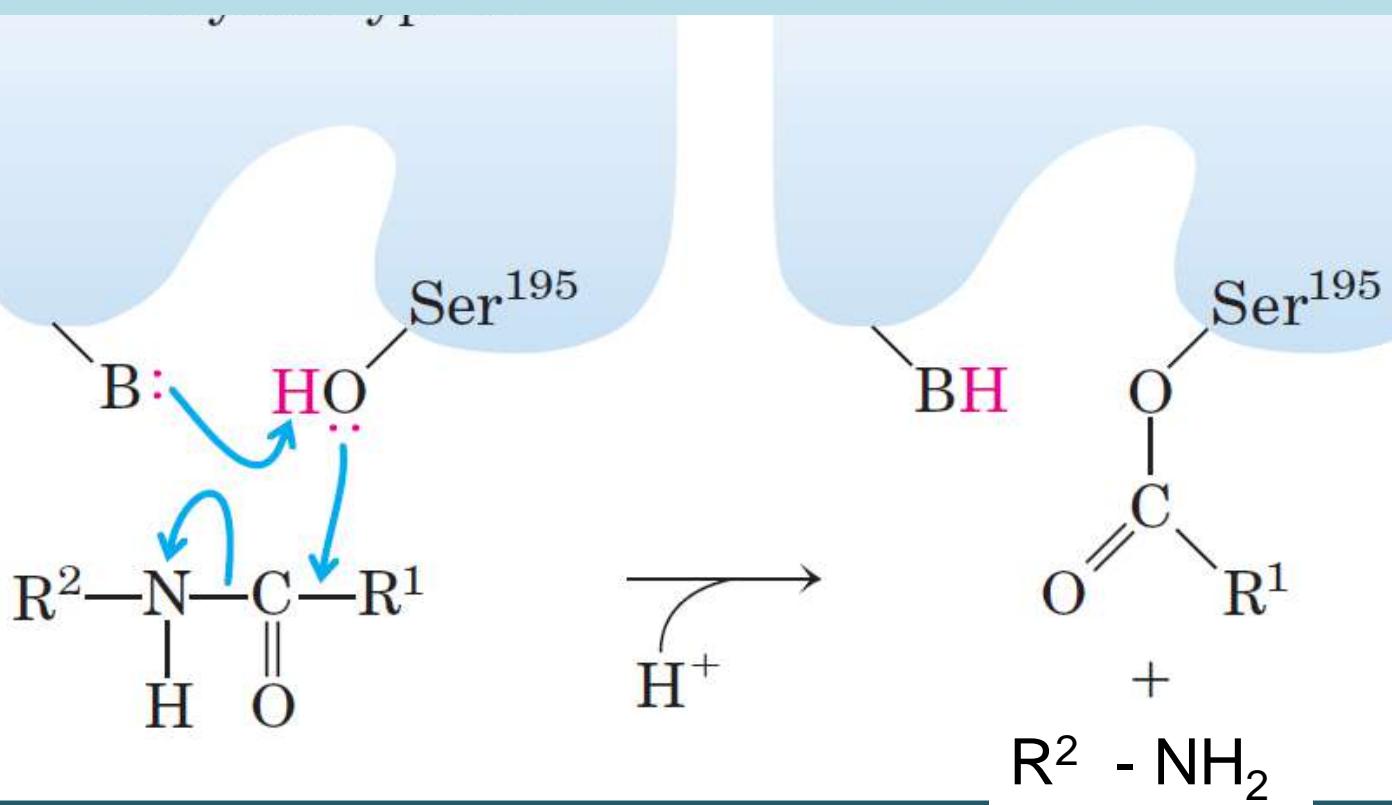


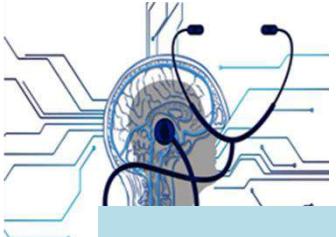
SÍTIO ATIVO é a região específica dentro da estrutura tridimensional da enzima na qual a catálise irá ocorrer. O processo de catálise ocorre através de interações fracas e ligações covalentes reversíveis entre o sítio ativo e a molécula de substrato.



CATÁLISE ENZIMÁTICA: GRUPOS CATALÍTICOS NAS ENZIMAS

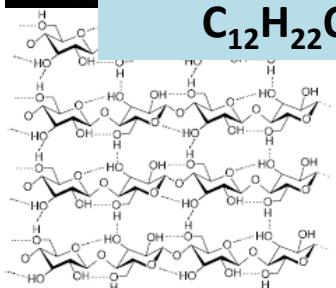
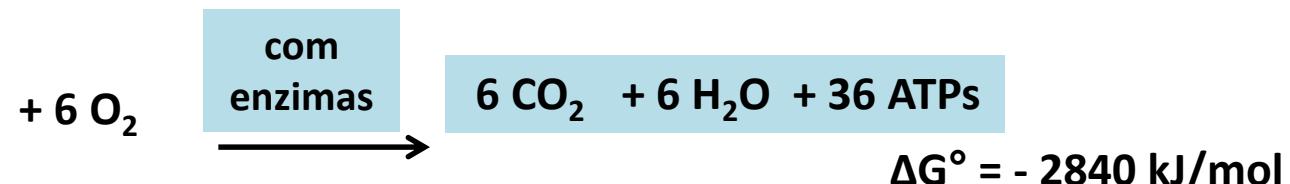
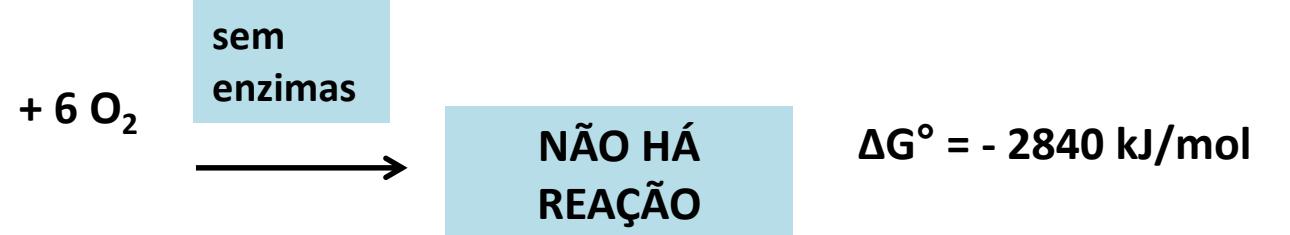
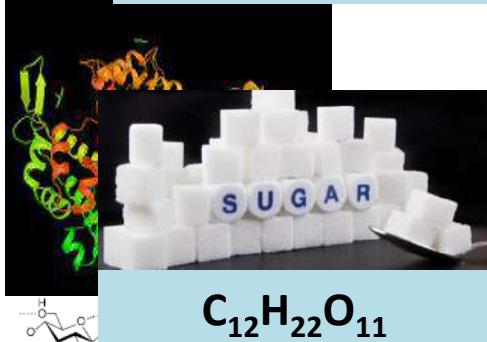
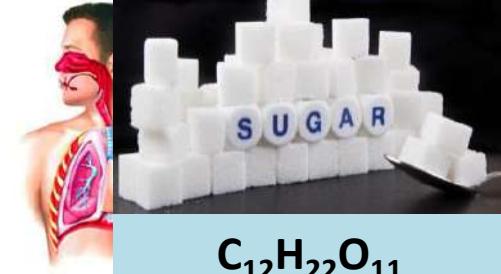
QUIMIOTRIPSINA: Quebra de ligações peptídicas via ataque nucleofílico no carbono da carbonila





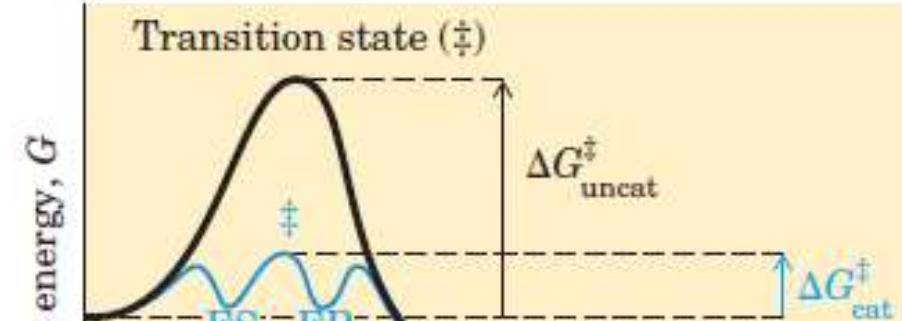
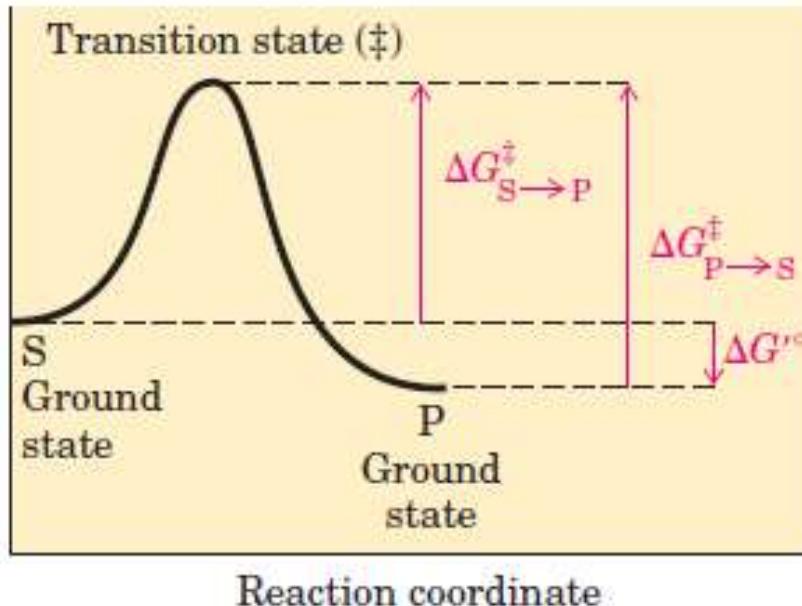
ΔG° VERSUS ΔG^{++}

- ✓ A velocidade de um reação enzimática dependerá do ENERGIA DE ATIVAÇÃO (ΔG^{++}), e não da VARIAÇÃO DA ENERGIA LIVRE (ΔG°) entre produtos e reagentes.



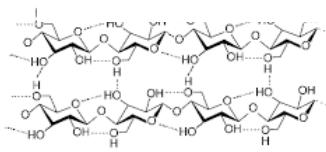
2. ATIVIDADE ENZIMÁTICA

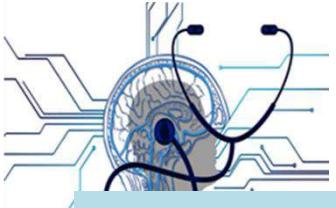
- ✓ Enzimas aumentam a velocidade das reações bioquímicas através da diminuição da ENERGIA DE ATIVAÇÃO (ΔG^\ddagger) necessária para a ocorrência destas reações.
- ✓ A diminuição da ENERGIA DE ATIVAÇÃO é dirigida pela ESTABILIZAÇÃO DO ESTADO DE TRANSIÇÃO.



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;





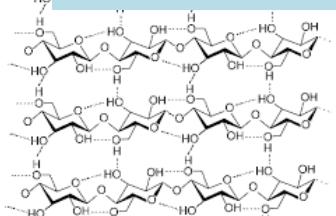
CATÁLISE ENZIMÁTICA: Energia de Ligação (ΔG_B)

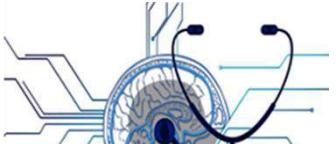
Princípios da catálise enzimática

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 - ΔG_B*)



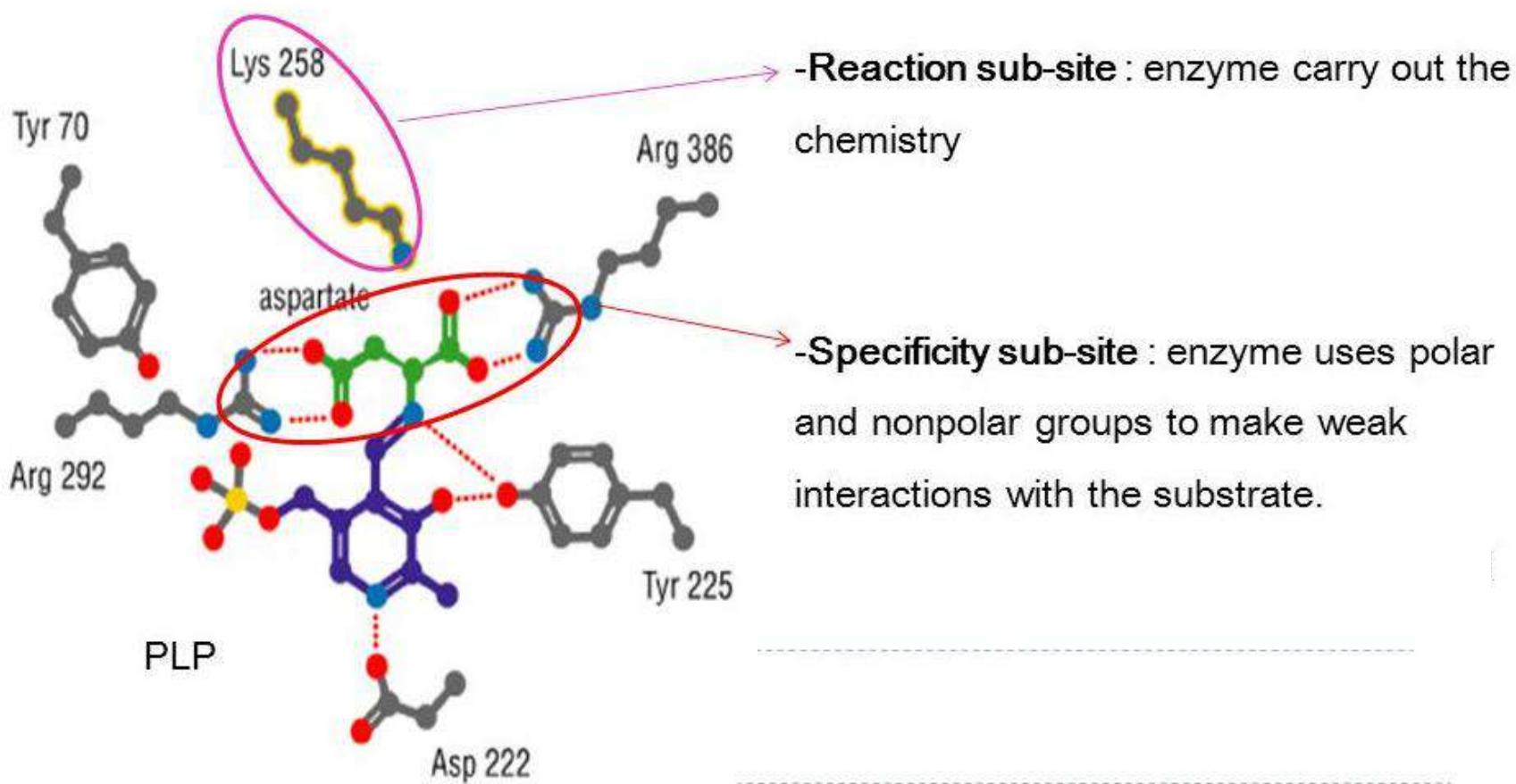
- ✓ A energia de ligação (ΔG_B) é a energia derivada de interações fracas entre o sítio ativo da enzima e o substrato.
- ✓ A energia de ligação (ΔG_B) liberada através da formação de interações fracas entre sítio ativo e substrato é a principal fonte de energia usada pelas enzimas para abaixar a ENERGIA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

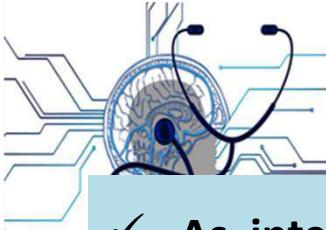




CATÁLISE ENZIMÁTICA: Energia de ligação (ΔG_B)

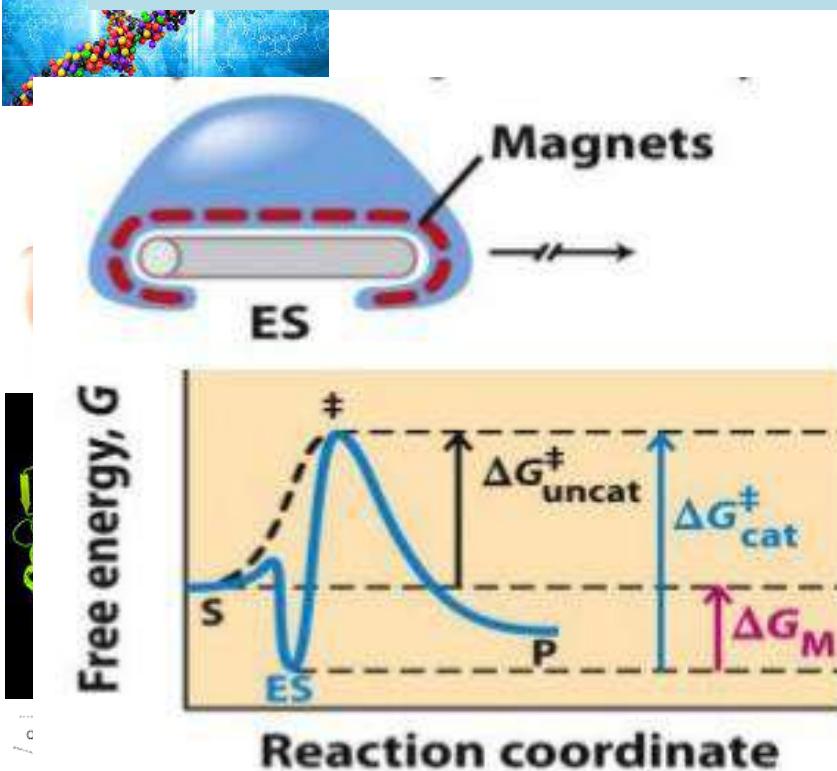
- ✓ Muito do poder catalítico das enzimas está intimamente relacionado à energia livre liberada durante a formação de milhares de interações fracas entre o substrato e o sitio ativo. Essa energia de ligação ΔG_B contribui tanto para a catálise como para a especificidade enzimática



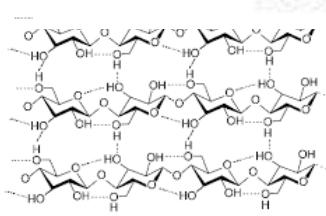


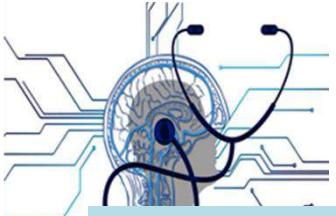
CATÁLISE ENZIMÁTICA: MODELO CHAVE-FECHADURA (ERRADO!!)

- ✓ 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.



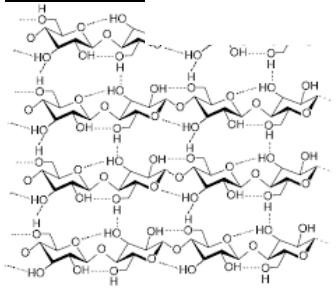
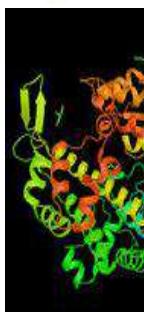
- ✓ A interação da enzima com o substrato seria tão forte, de modo que o complexo enzima-substrato se tornaria estável e o substrato não se transformaria em produto.
- ✓ Aumentando a ENERGIA DE ATIVAÇÃO



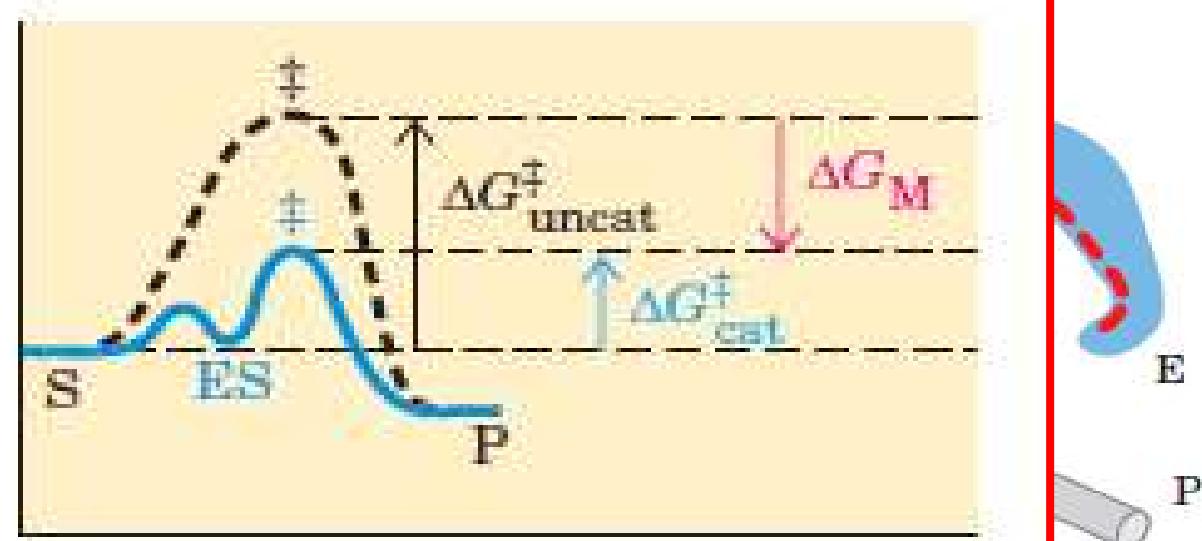


CATÁLISE ENZIMÁTICA: Energia de ligação (ΔG_B)

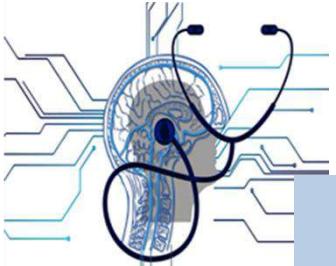
- ✓ As interações fracas são otimizadas no Estado de Transição. O Sítio Catalítico da enzima é complementar NÃO AO SUBSTRATO, mas AO ESTADO DE TRANSIÇÃO através do qual substratos são convertidos em moléculas dos produtos.



Free energy, G



Reaction coordinate

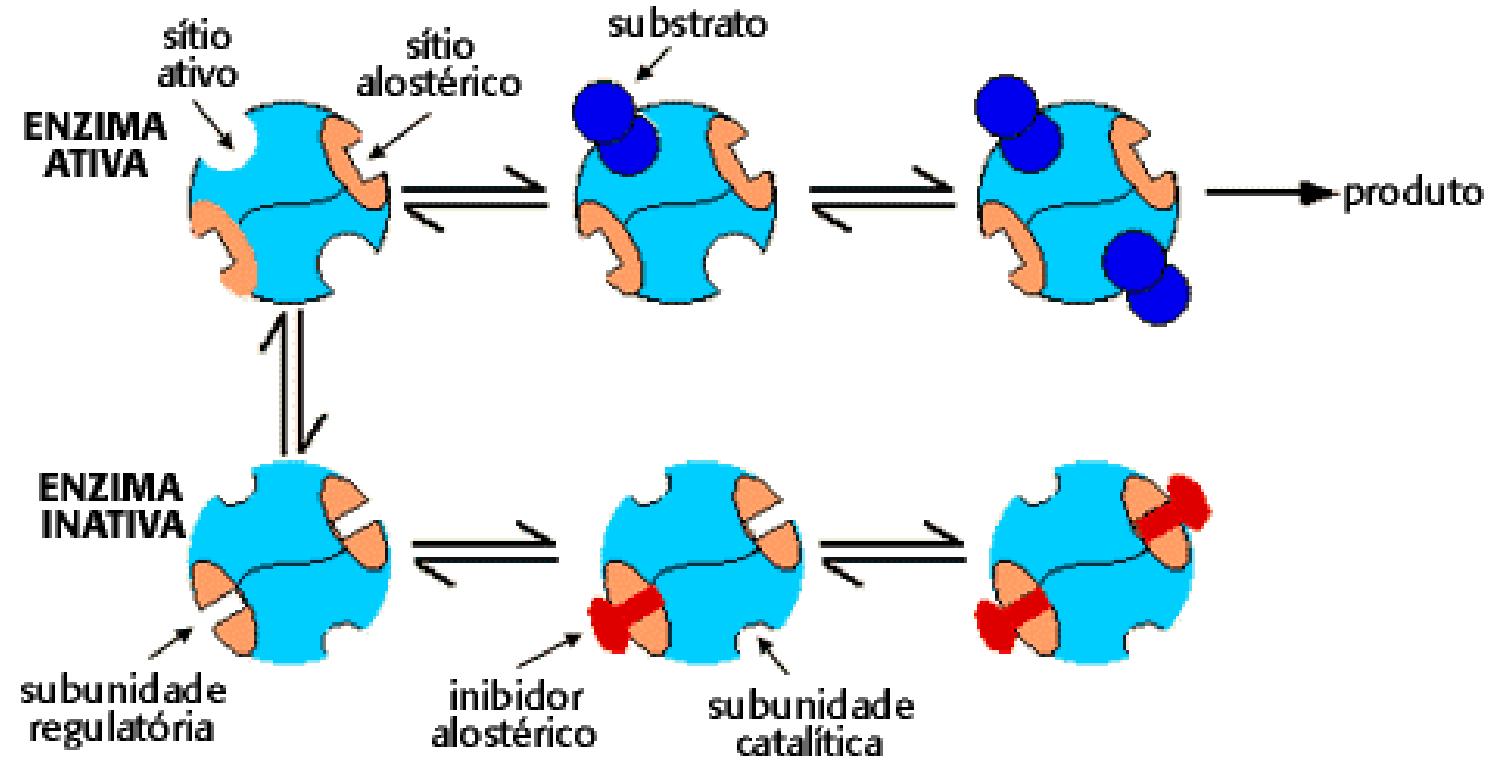
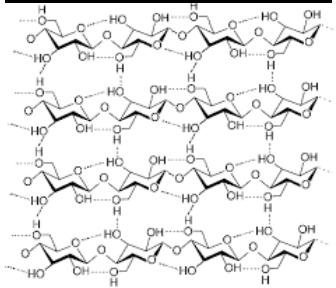
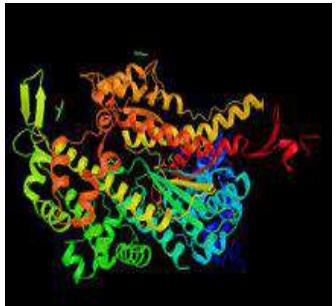


ENZIMAS ALOSTÉRICAS

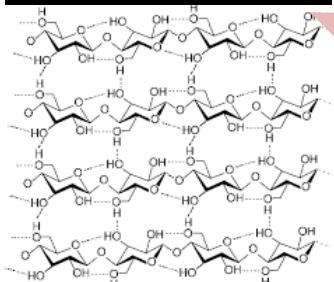
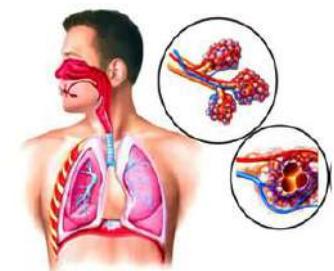
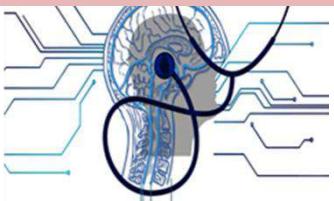


ENZIMAS ALOSTÉRICAS

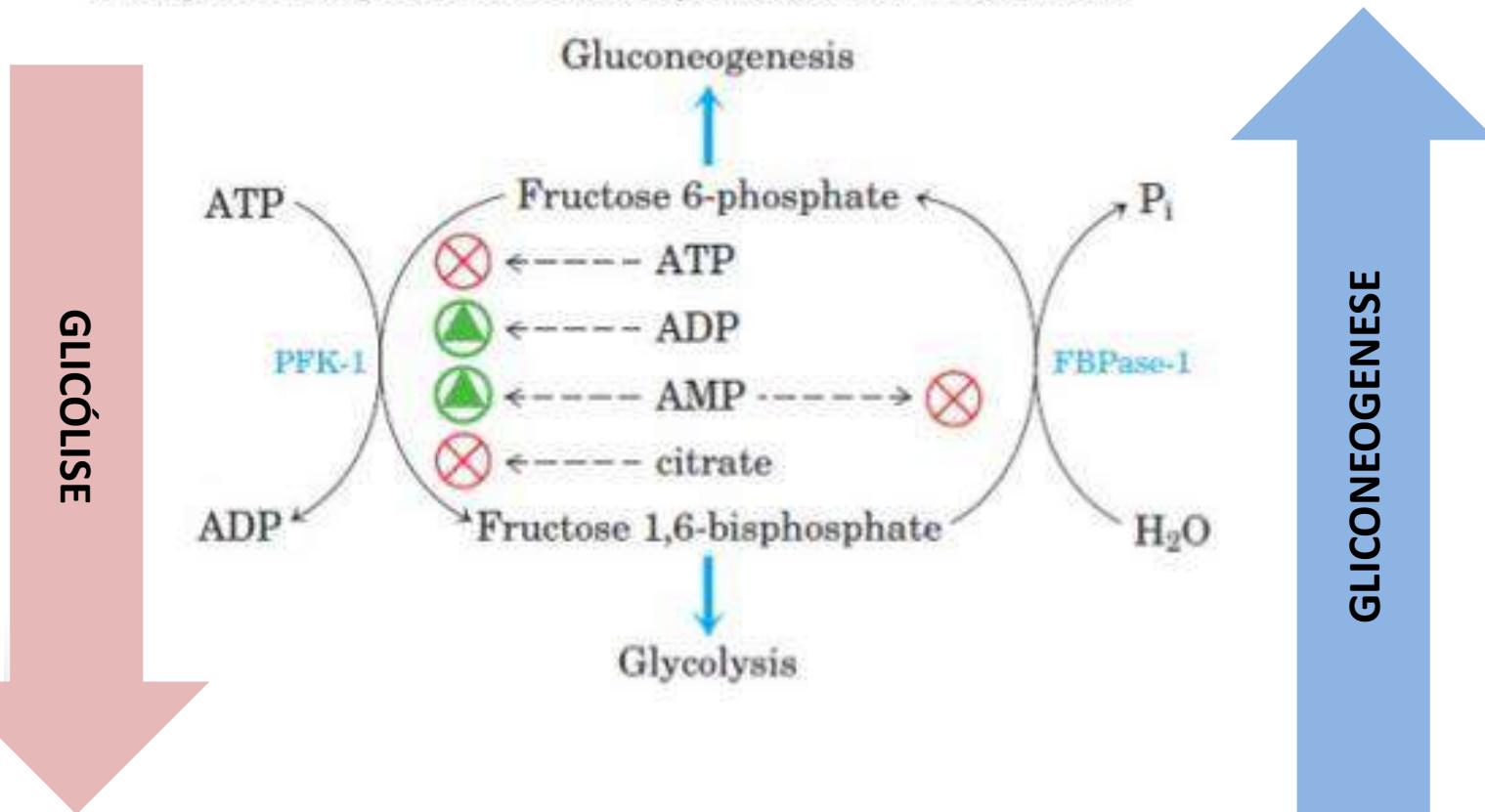
- ✓ Sítio ativo
- ✓ Sítio de regulação (alostérico)
- ✓ Enzimas regulatórias do metabolismo



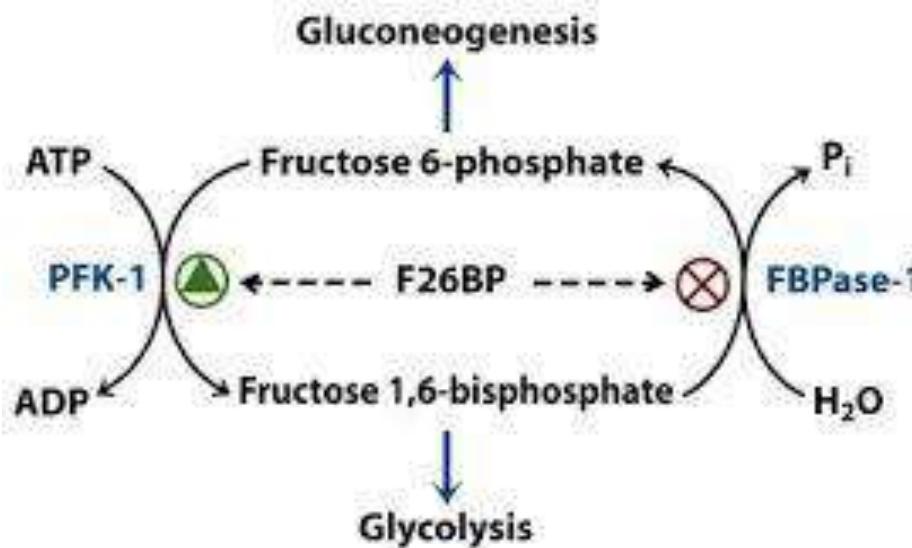
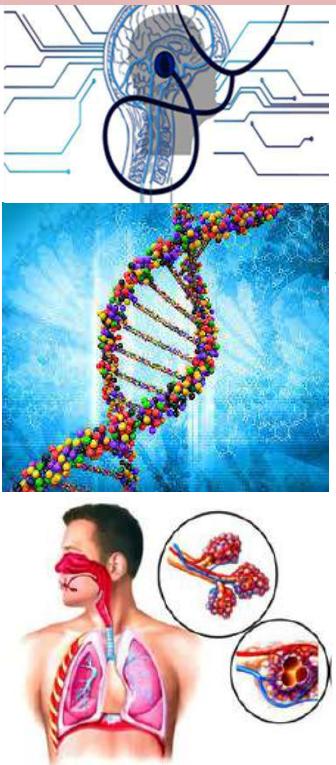
REGULAÇÃO ALOSTÉRICA: FOSFOFRUTOQUINASE-1 (PFK-1)



- Inhibited by AMP, when energy currency ATP is less
- Thus there 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



REGULAÇÃO ALOSTÉRICA: FRUTOSE 1,6-BIFOSFATASE



GLICÓLISE

- Allosteric regulation(metabolites):

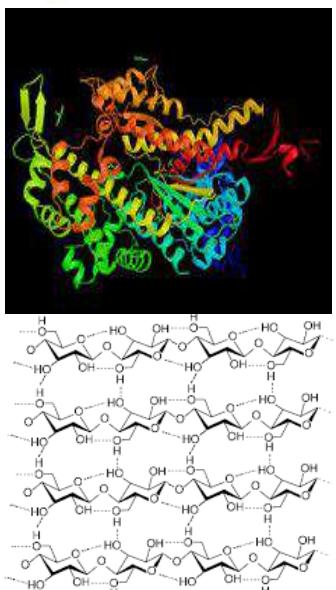
ATP, acetyl coA(citrate) (+)

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

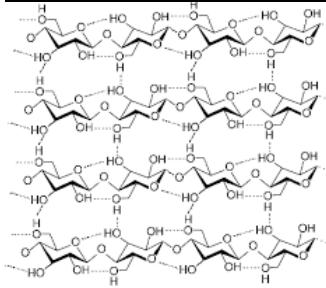
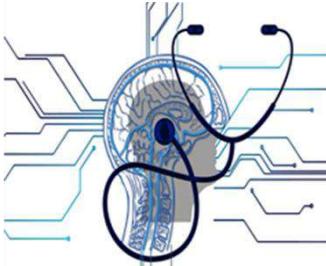
- Covalent modification(Hormones):

insulin (-)

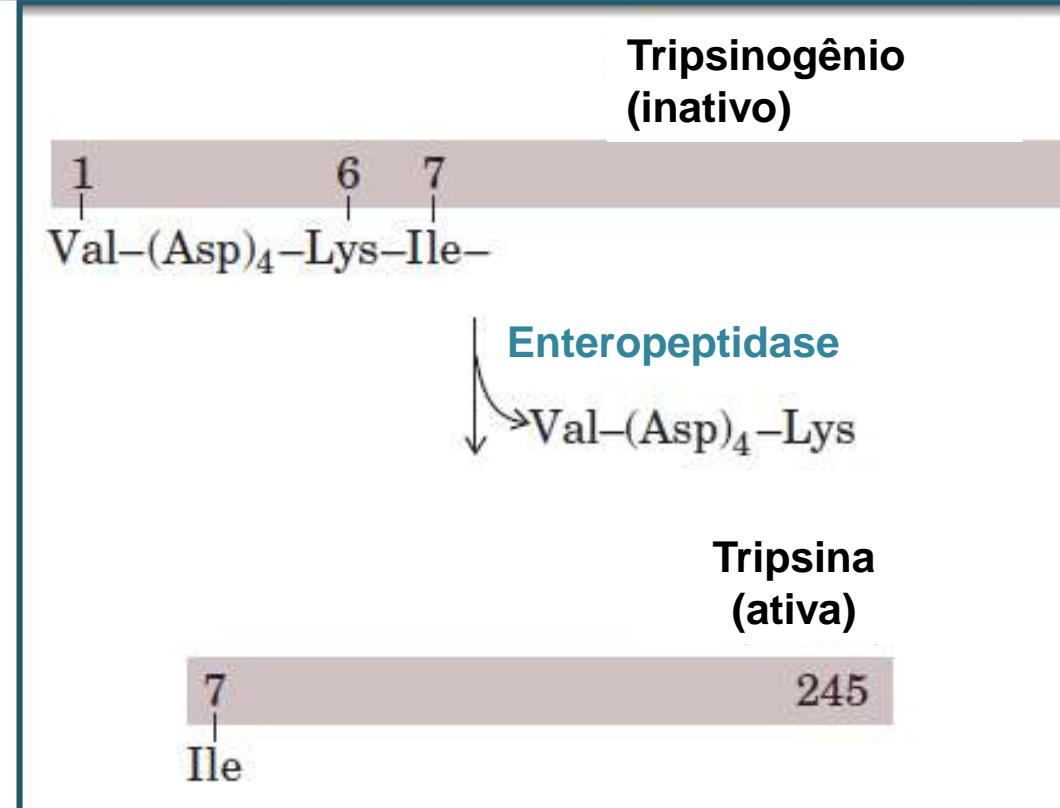
glucagon (+)

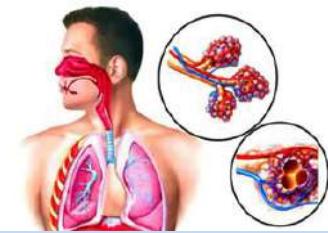
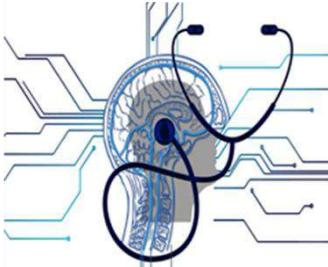


ZIMOGÊNIOS

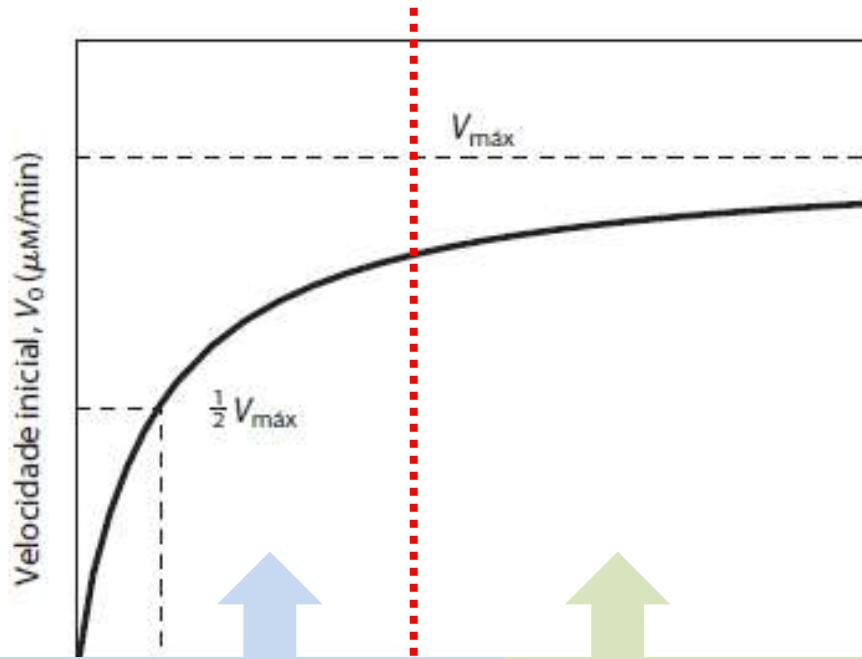


Zimogênio	Agente ativador	Enzima ativa	Peptídeo inativo
Pepsinogênio	H ⁺ pepsina	Pepsina	Fragmentos
Tripsinogênio		Tripsina	Fragmentos
Quimotripsinogênio	Tripsina	Quimotripsina	Fragmentos





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



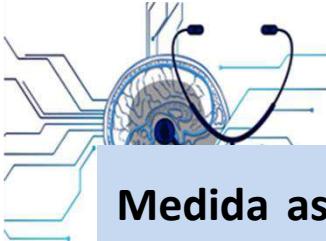
Estado pré-estacionário

- ✓ Rápido crescimento da concentração de [ES].
- ✓ Muito rápida = apenas milisegundos
- ✓ 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

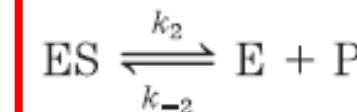
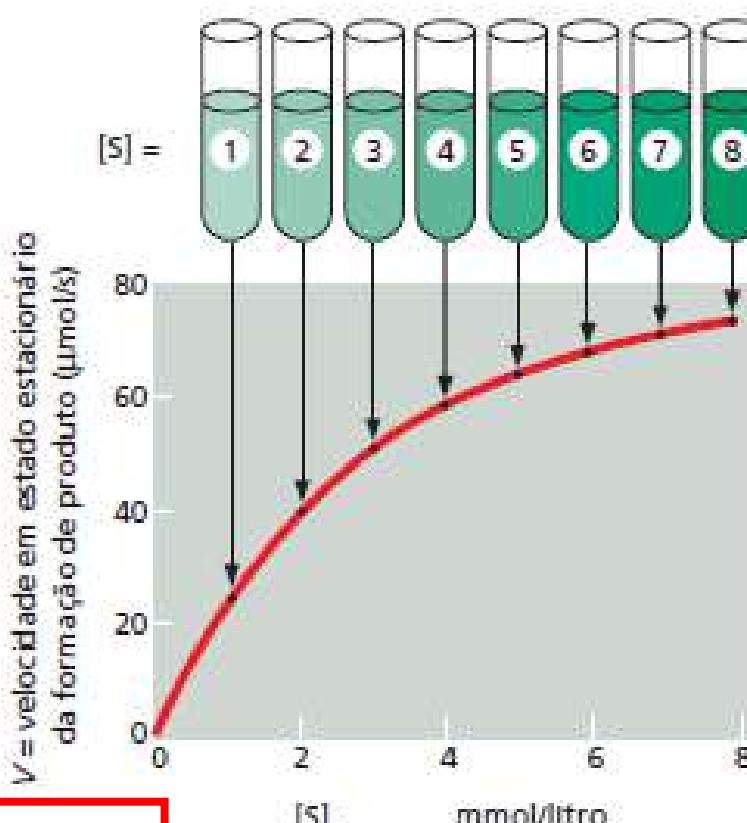
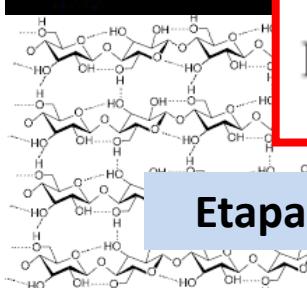
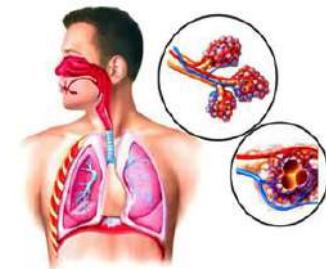
- ✓ Concentração [ES] permanece constante
- ✓ V_0 não mais aumenta com aumento de [S]
- ✓ V_0 tende à atingir V_{\max} (CONSTANTE)
- ✓ Determinação de $V \rightarrow$ Estado estacionário



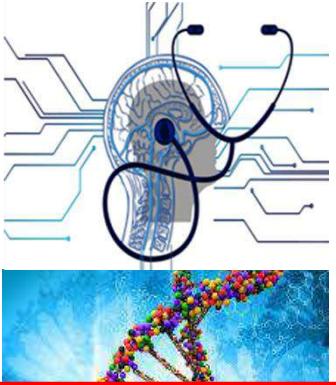


CINÉTICA ENZIMÁTICA – TEORIA DE MICHELIS - MENTEN

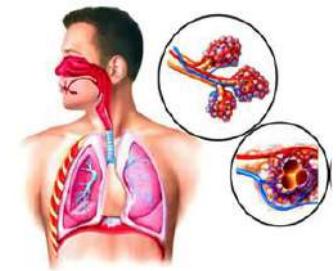
Medida as velocidades iniciais (V_0) quando a concentração de substrato [S] é muito maior que a concentração da enzima [E].



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

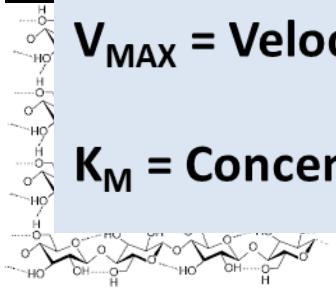
V_0 = velocidade inicial (mols/min)

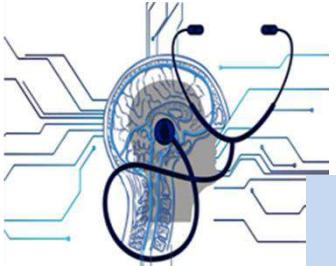
[S] = Concentração molar (mol/L) do substrato

V_{MAX} = Velocidade máxima

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

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



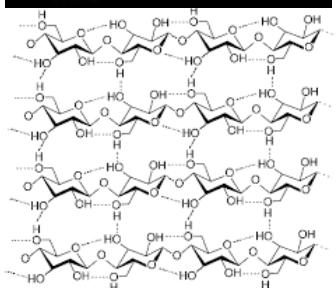
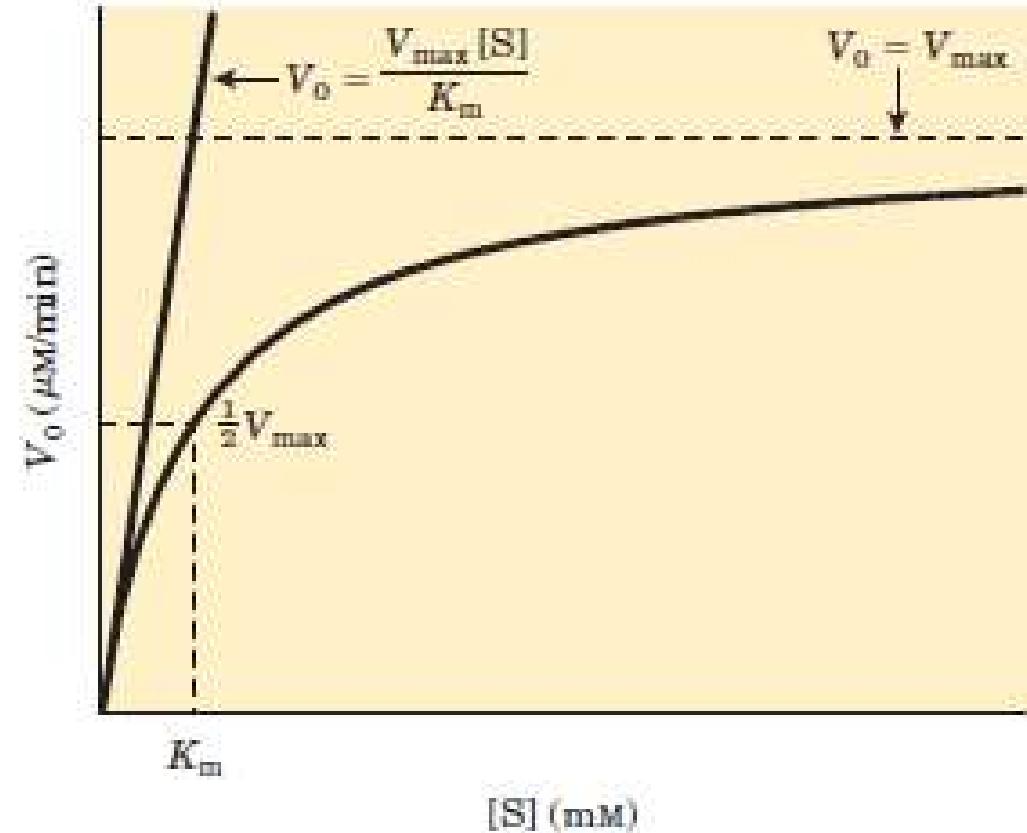


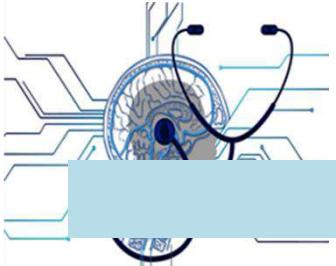
CINÉTICA ENZIMÁTICA – MICHELIS - MENTEN



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)


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



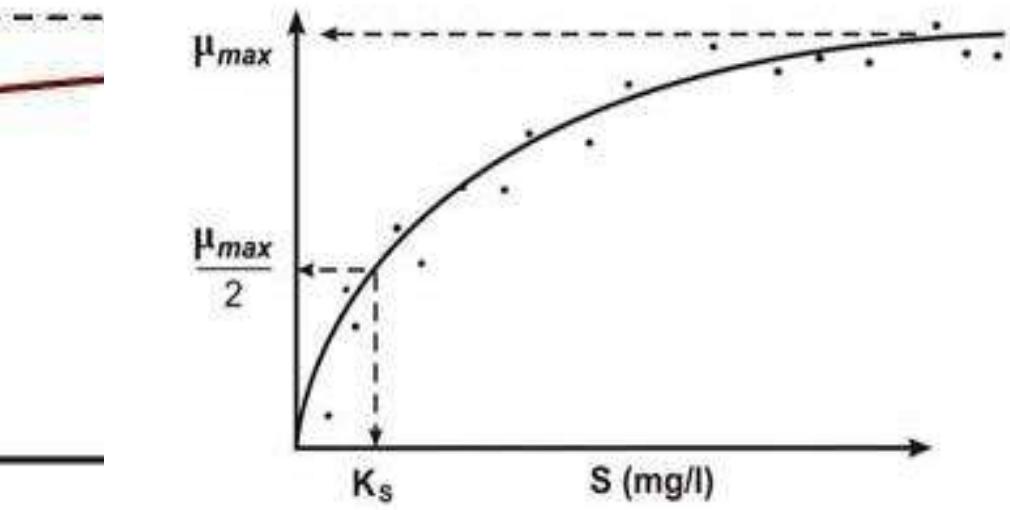
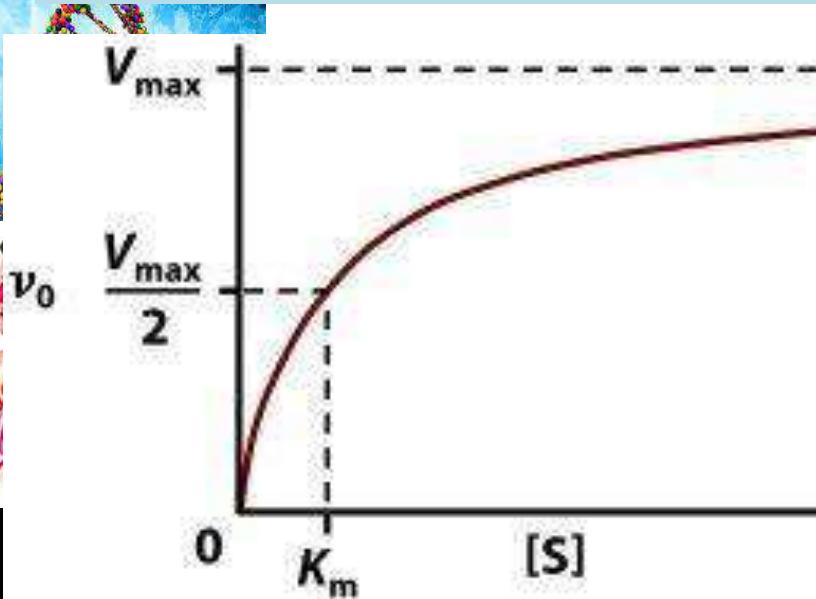


CINÉTICA ENZIMÁTICA: VALORES DE K_M

Valore de K_M de algumas enzimas

Enzyme	Substrate	K_M (μM)
Chymotrypsin	Acetyl-L-tryptophanamide	5000
Lysozyme	Hexa-N-acetylglucosamine	6
β -Galactosidase	Lactose	4000
Threonine deaminase	Threonine	5000
Carbonic anhydrase	CO_2	8000
Penicillinase	Benzylpenicillin	50
Pyruvate carboxylase	Pyruvate	400
	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)

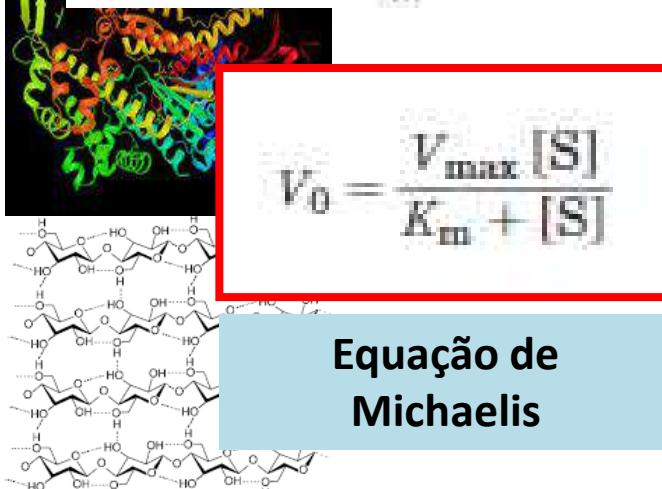


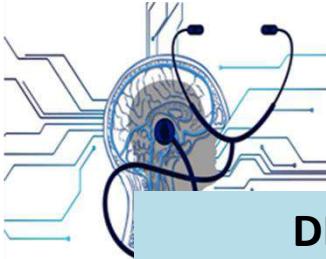
$$V_0 = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

Equação de Michaelis

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

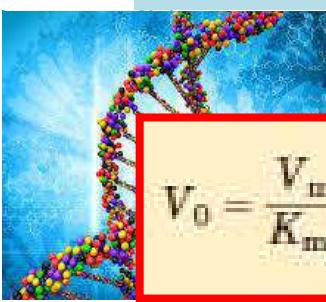
Equação de Monod





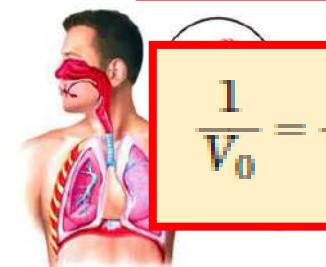
CINÉTICA ENZIMÁTICA – LINEWEAVER-BURK (DUPLO-RECÍPROCO)

DETERMINAÇÃO DE K_m E V_{max} USANDO A CURVA DE LINEWEAVER BURK

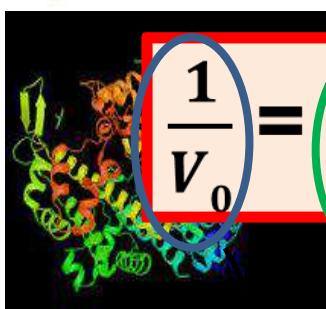


$$V_0 = \frac{V_{max} [S]}{K_m + [S]}$$

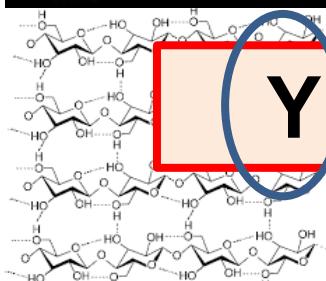
$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m + [S]}{V_{max} [S]}$$



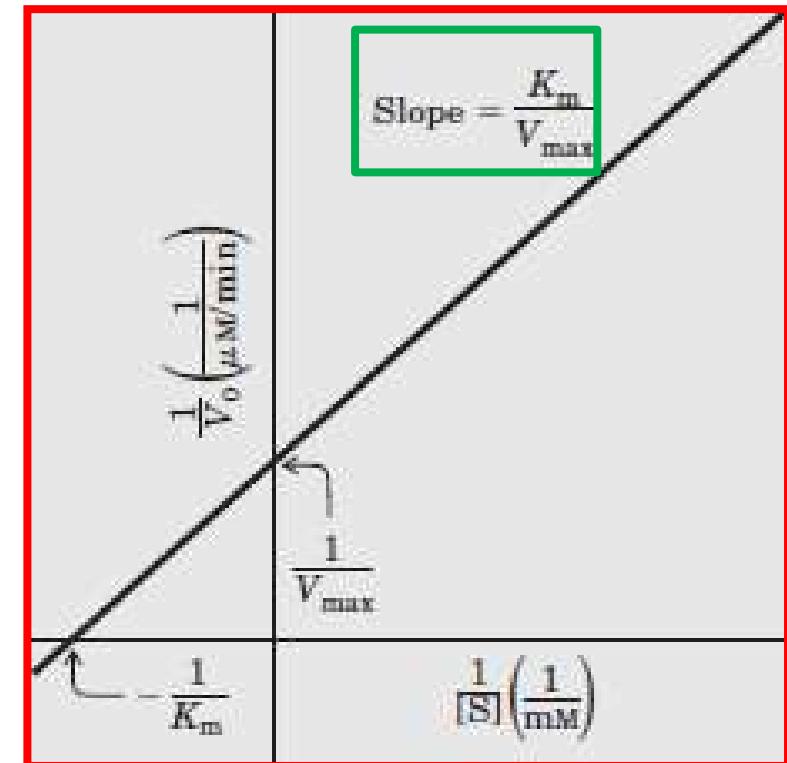
$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m}{V_{max} [S]} + \frac{[S]}{V_{max} [S]}$$



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



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



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

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

INIBIÇÃO ENZIMÁTICA

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

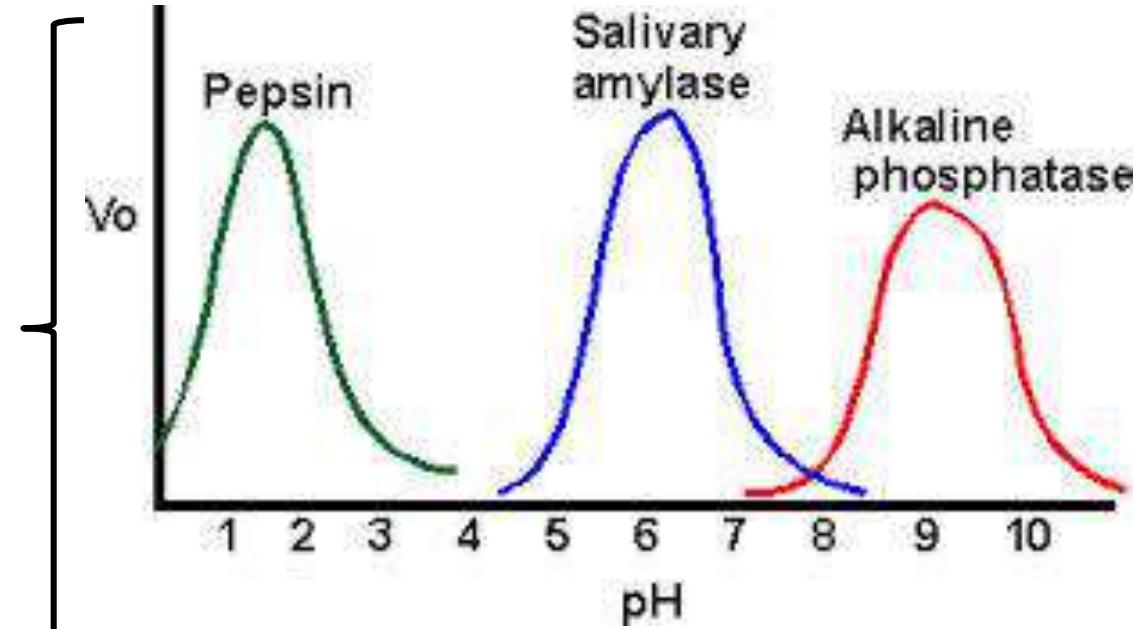
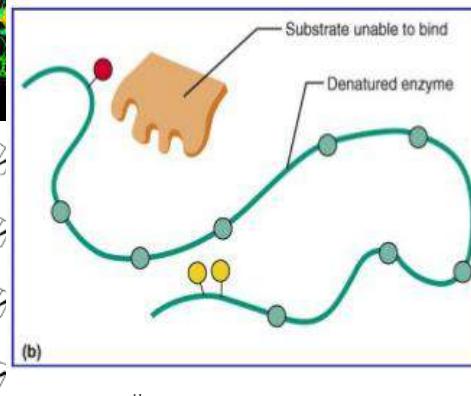
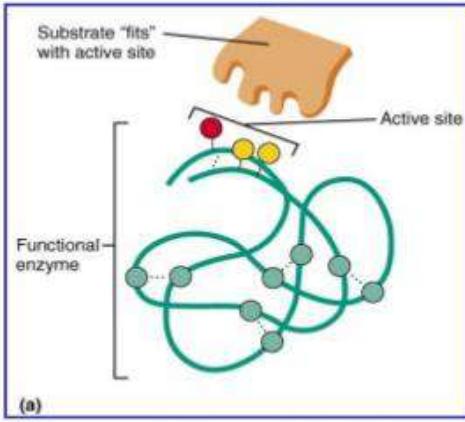
Faça uma estimativa dos valores de V_{MAX} e K_M para a enzima em questão com base nos dados abaixo.

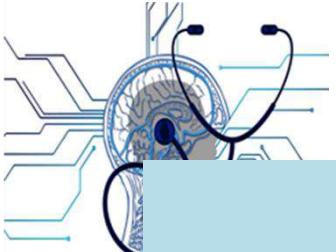
$[S] (M)$	$V_0 (\mu M/min)$
$2,5 \times 10^{-6}$	28
$4,0 \times 10^{-6}$	40
1×10^{-5}	70
2×10^{-5}	95
4×10^{-5}	112
1×10^{-4}	128
2×10^{-3}	139
1×10^{-2}	140



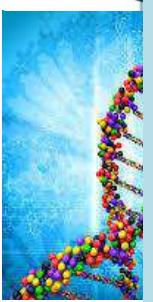
CINÉTICA ENZIMÁTICA: EFEITO DO pH

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 ed pH resulta em mudança nas cargas das proteínas e, consequentemente, quebra ou alteração das interações fracas necessárias para manter a estrutura nativa das proteínas.



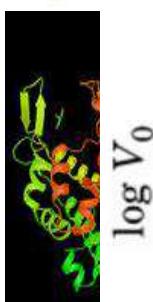


CINÉTICA ENZIMÁTICA: EFEITO DO pH

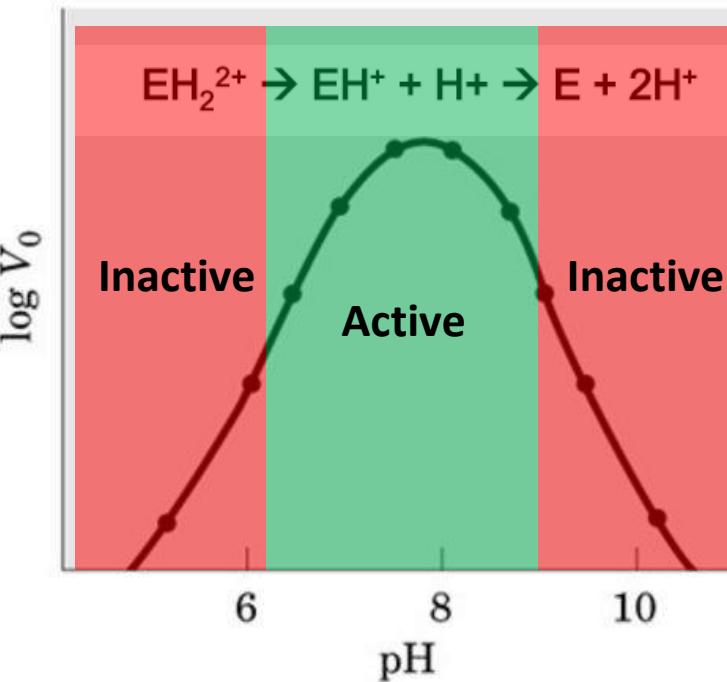


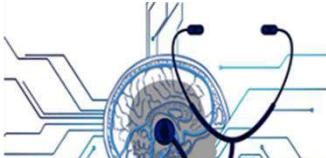
INFLUÊNCIA DO pH na atividade da Glucose 6-fosfatase

- 
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 NH_3^+ e acúmulo de cargas negativas nos grupos carboxila (COO^-) e sobre Tirosinas e cisteínas



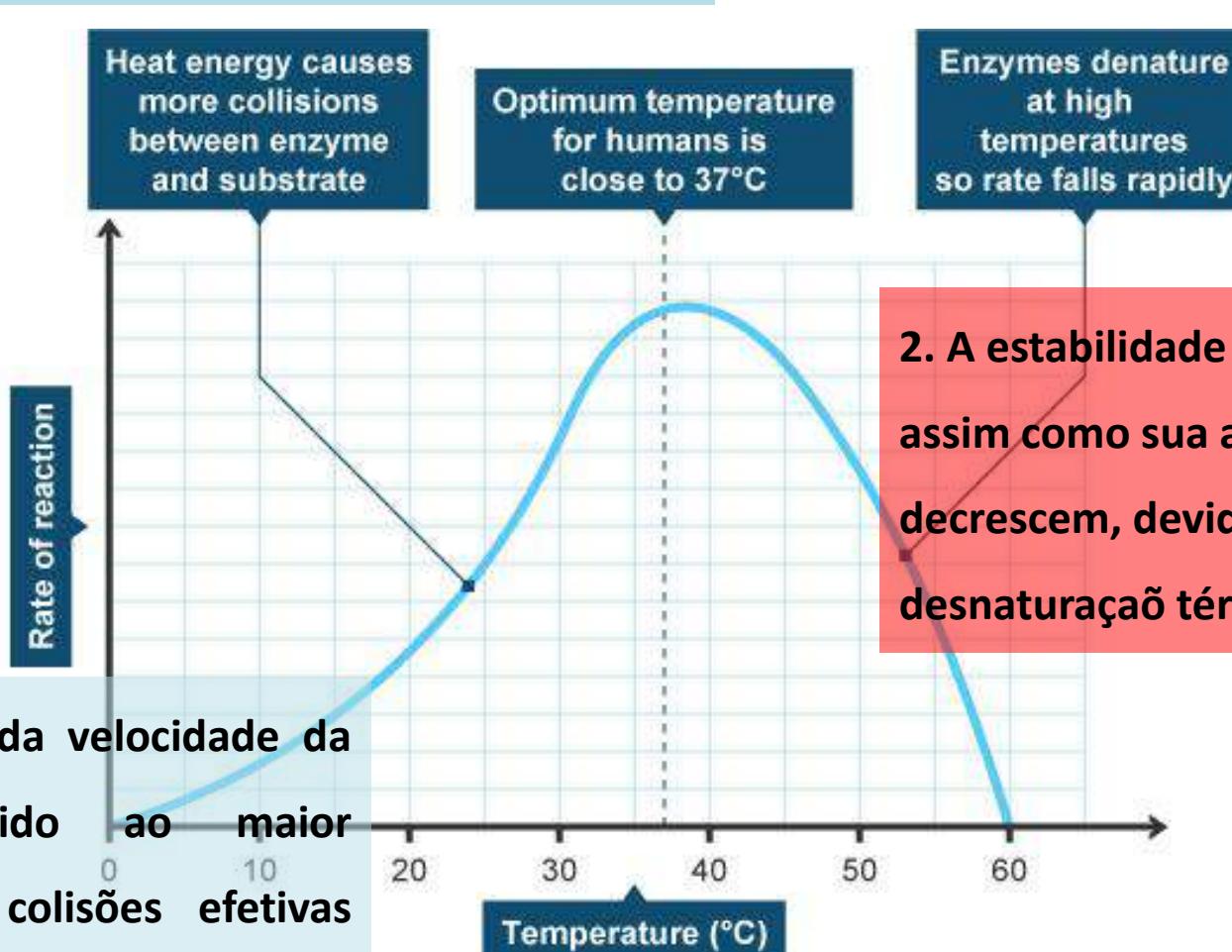
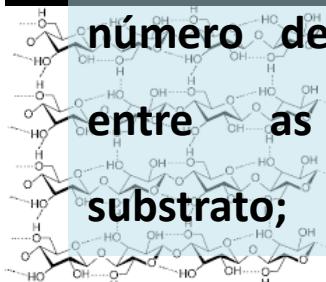
Glucose 6-phosphatase





CINÉTICA ENZIMÁTICA: EFEITO DA TEMPERATURA

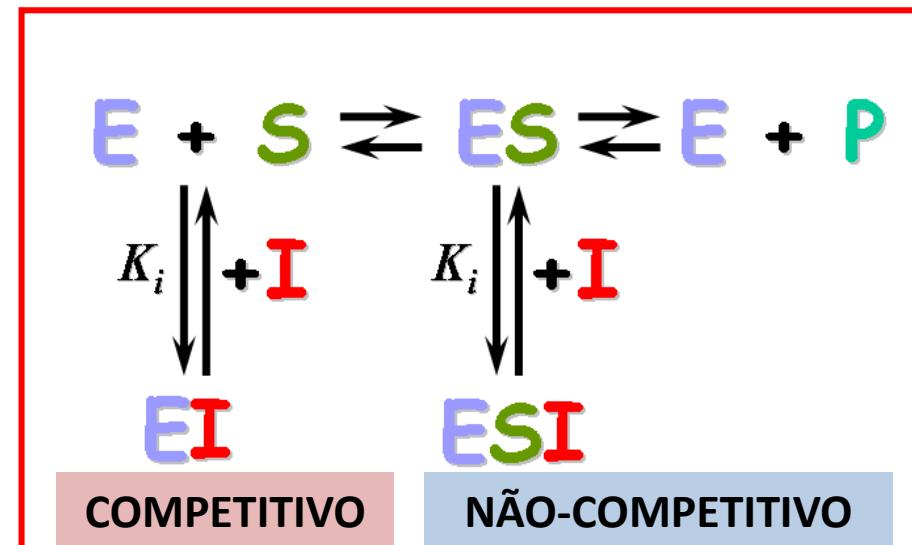
TEMPERATURA PROMOVE 2 DIFERENTES EFEITOS

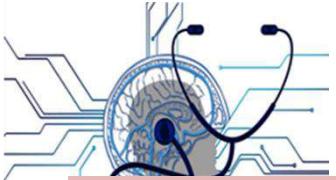


1. Aumento da velocidade da reação devido ao maior número de colisões efetivas entre as moléculas de substrato;

INIBIÇÃO ENZIMÁTICA

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



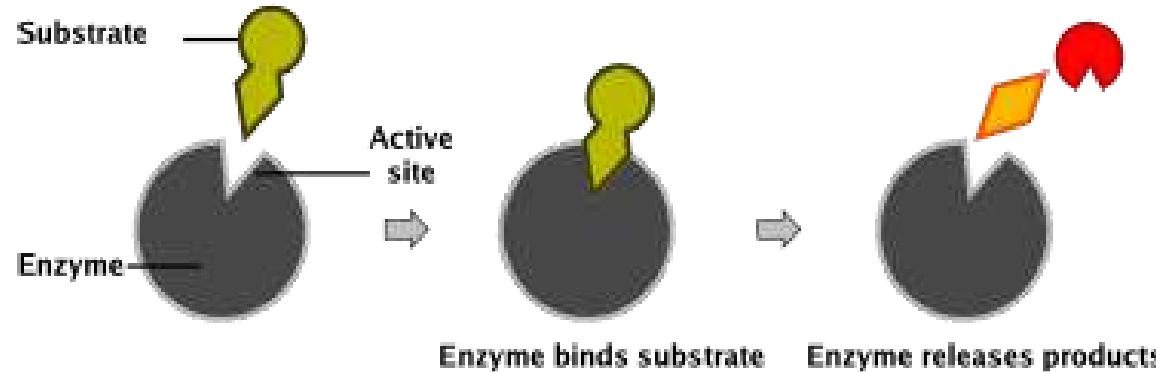


INIBIÇÃO ENZIMÁTICA: INIBIÇÃO COMPETITIVA

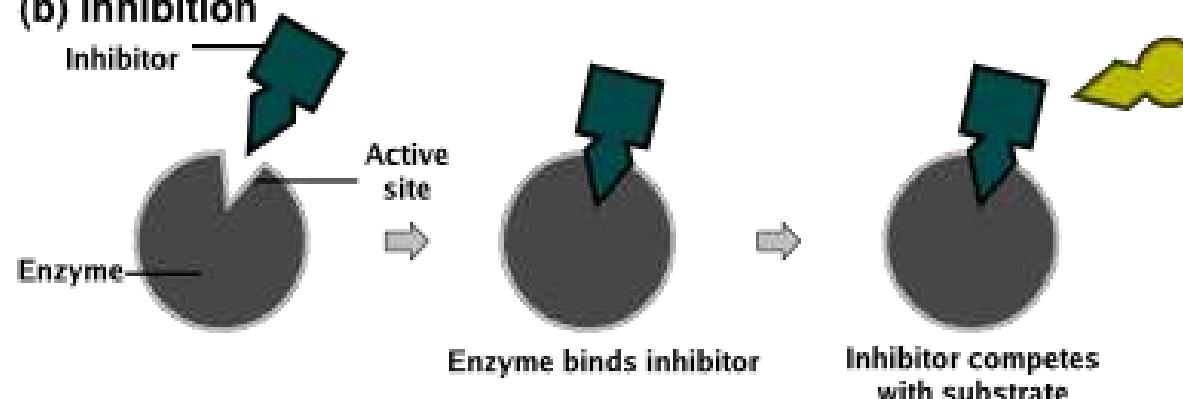
INIBIÇÃO COMPETITIVA: O inibidor competitivo compete com o substrato pelo sítio ativo da enzima.

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

(a) Reaction



(b) Inhibition

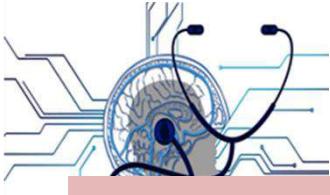


$$V_0 = \frac{V_{max} [S]}{K_m + [S]}$$

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

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

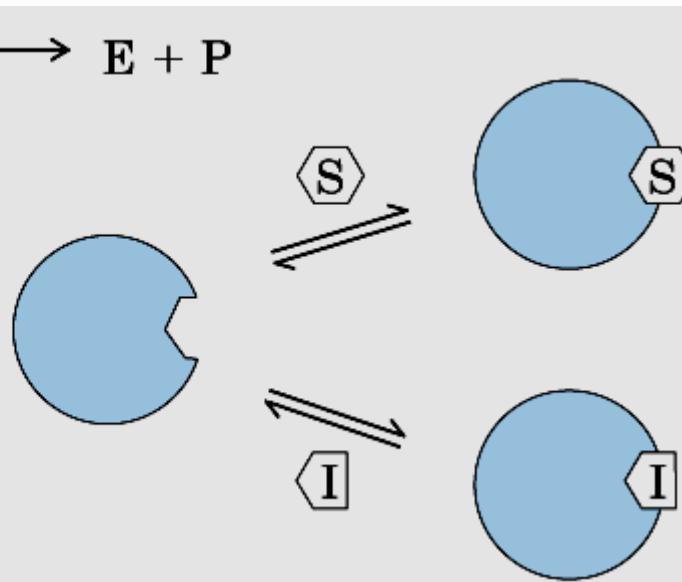
$$\frac{1}{V_0} = \left(\frac{\alpha K_m}{V_{max}} \right) \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$



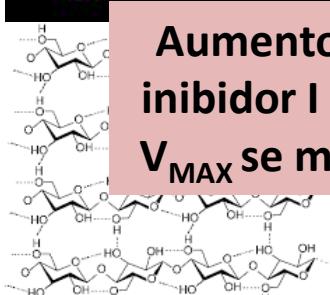
INIBIÇÃO ENZIMÁTICA: INIBIÇÃO COMPETITIVA

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

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



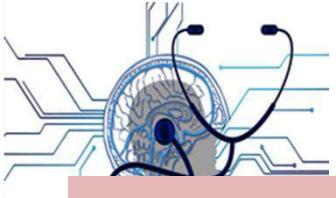
Aumento da [S] desloca o inibidor I do centro ativo e V_{MAX} se mantém constante



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

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

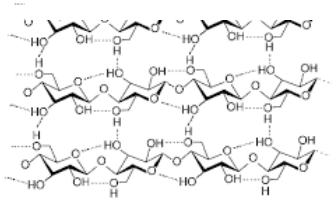
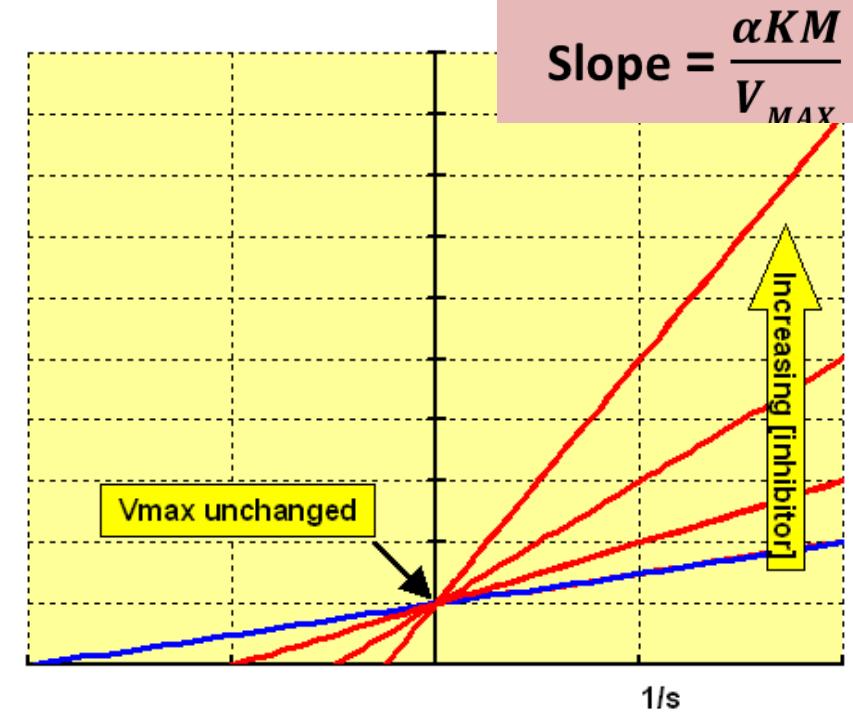
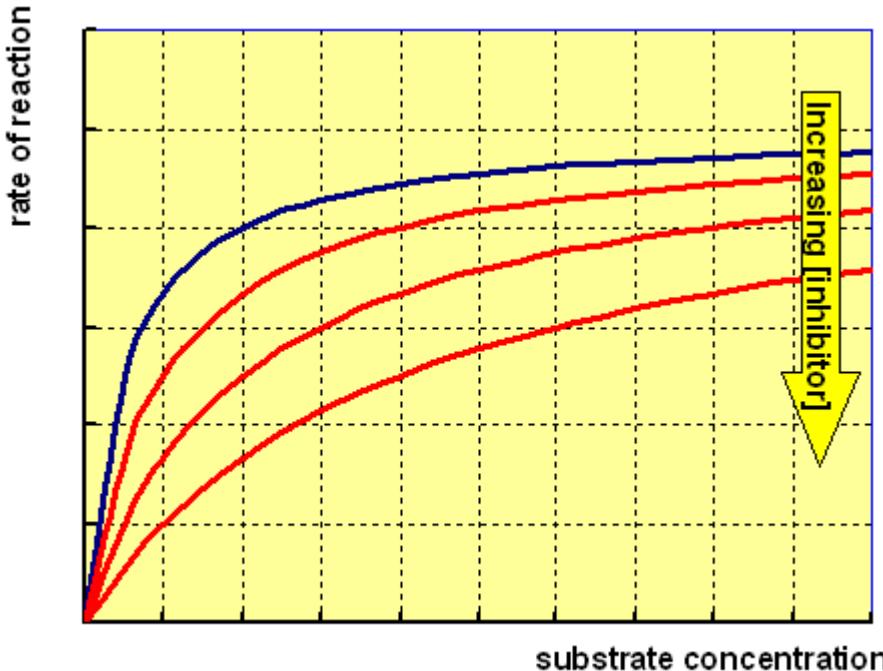
$$K_M (\text{inibidor}) = \alpha K_M$$

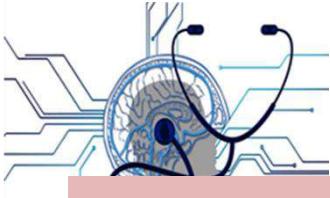


INIBIÇÃO ENZIMÁTICA: INIBIÇÃO COMPETITIVA

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

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

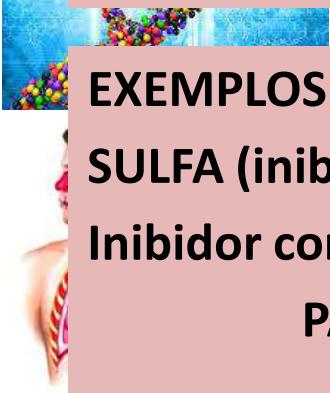




INIBIÇÃO ENZIMÁTICA: INIBIÇÃO COMPETITIVA

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

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



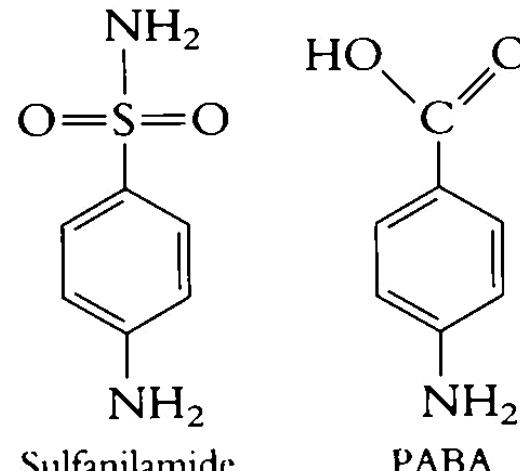
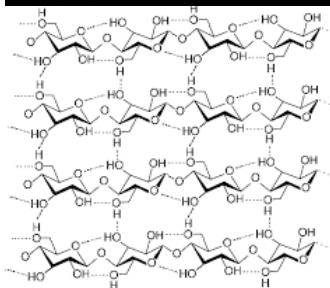
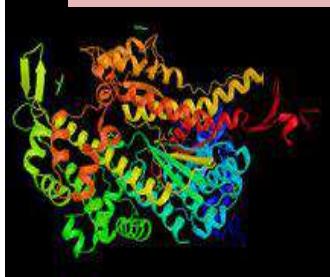
EXEMPLOS:

SULFA (inibidor) para infecções bacterianas

Inibidor competitivo da enzima Dihidropteroato sintase

PABA (Ácido 4-aminobenzóico)

DNA (BACTÉRIAS)

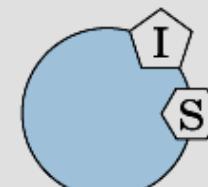
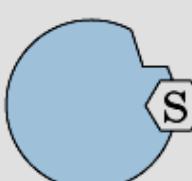
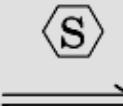




INIBIÇÃO ENZIMÁTICA: INIBIÇÃO NÃO-COMPETITIVA

INIBIÇÃO NÃO-COMPETITIVA: Um inibidor não-competitivo liga-se à 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.

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



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

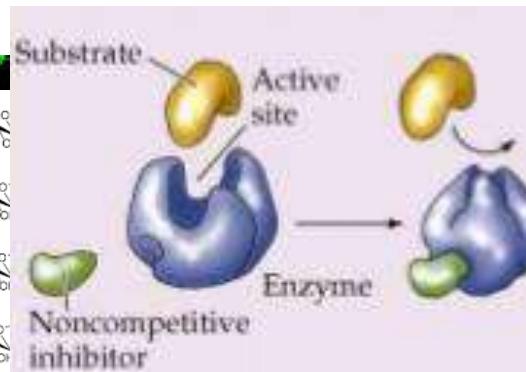
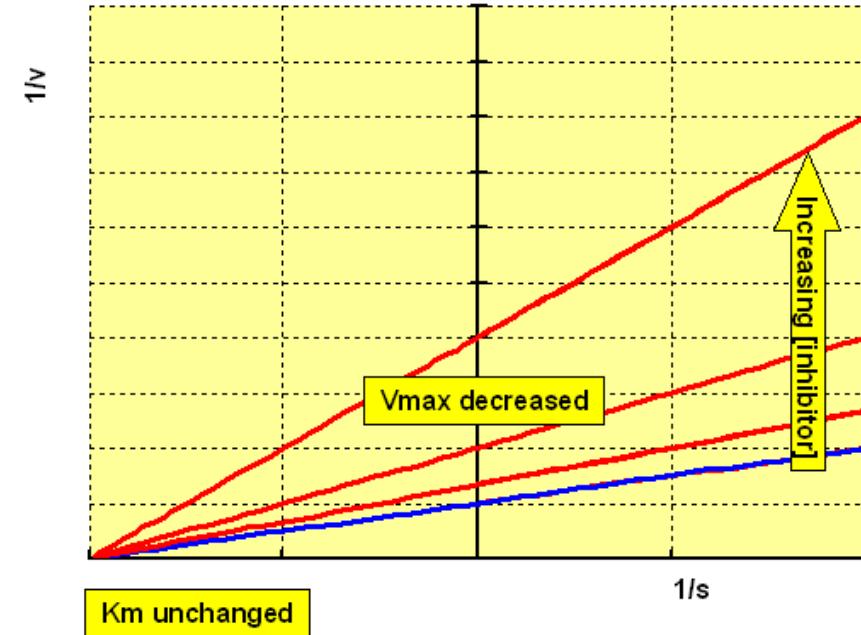
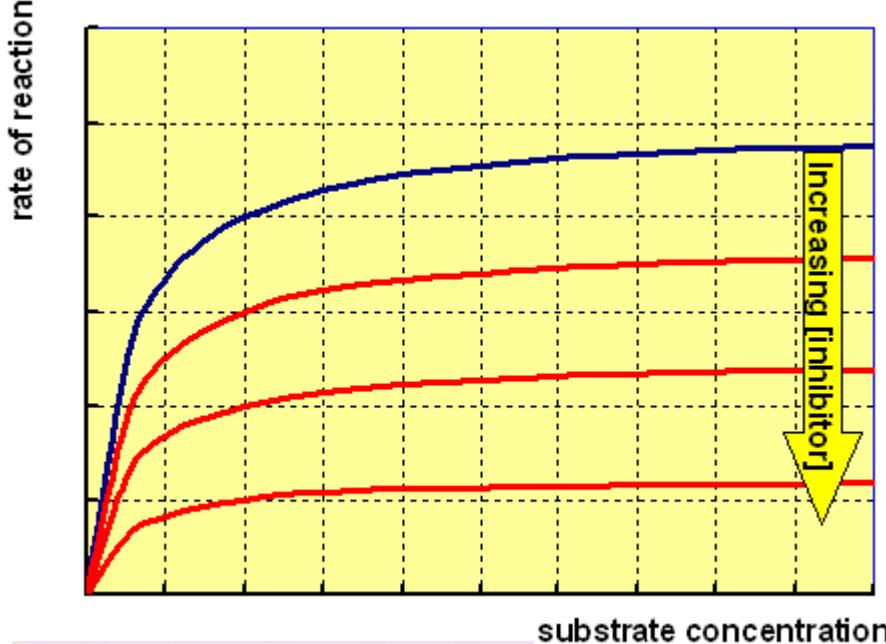
$$\frac{1}{V_0} = \left(\frac{K_m}{V_{max}} \right) \frac{1}{[S]} + \frac{\alpha'}{V_{max}}$$



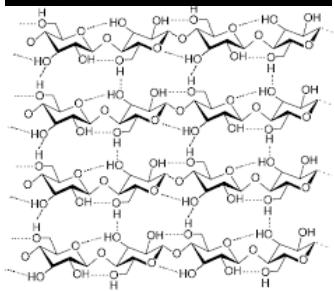
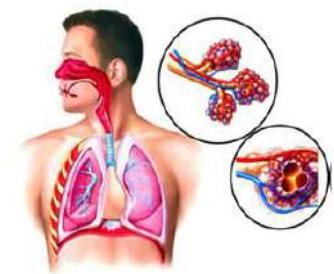
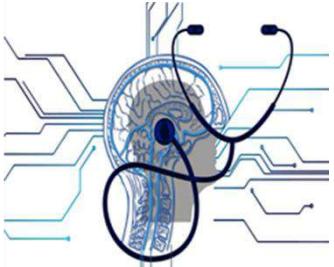
INIBIÇÃO ENZIMÁTICA: INIBIÇÃO NÃO-COMPETITIVA

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

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



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

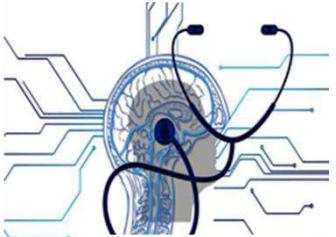


ENZIMAS COMO MARCADORES DIAGNÓSTICOS E ALVOS PARA O TRATAMENTO DE DOENÇAS

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

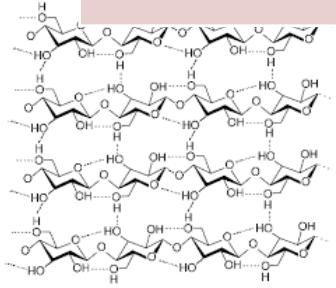
**ENZIMAS
COMO FÁRMACOS**

**ENZIMAS COMO
MARCADORES PARA
DIAGNÓSTICO**



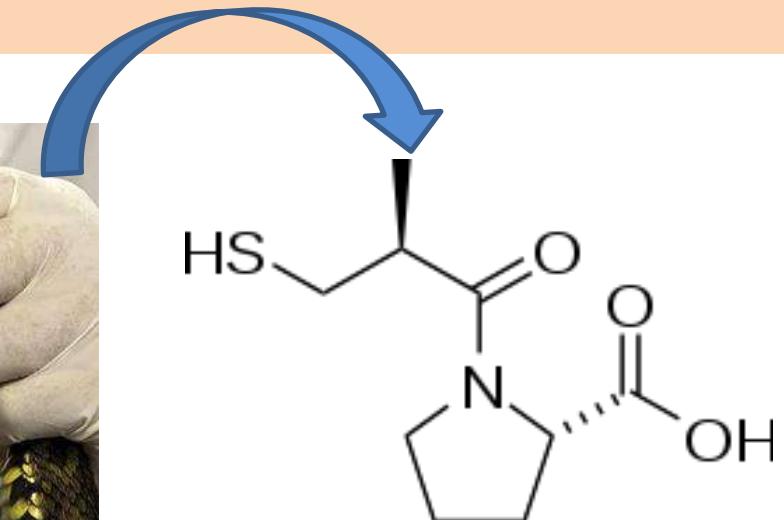
INIBidores COMPETITIVOS: APLICAÇÃO COMO FÁRMACOS

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

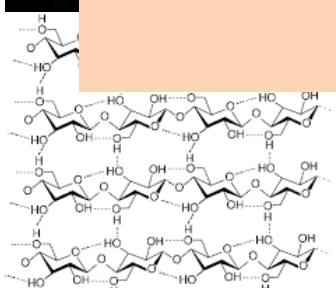


CAPTOPRIL é um inibidor da ENZIMA CONVERSORA DE ANGIOTENSINA:

EFEITO FINAL: Redução da pressão arterial



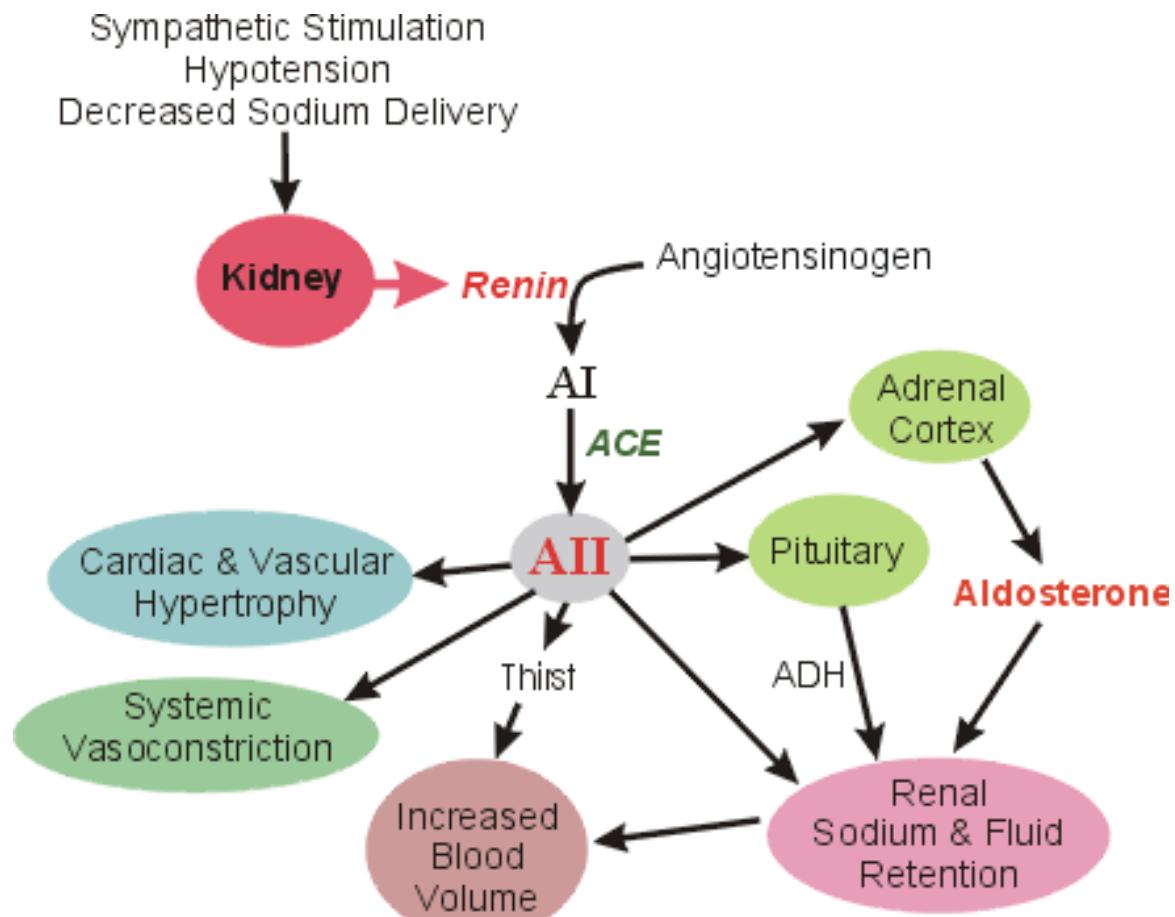
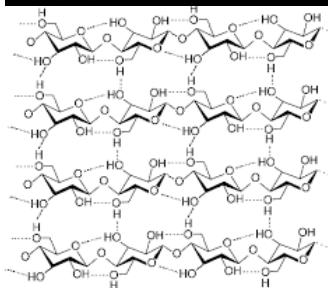
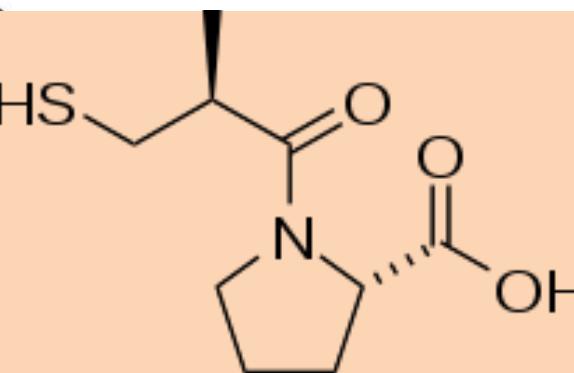
CAPTOPRIL compete com a ANGIOTENSINA pelo sítio ativo da ENZIMA CONVERSORA DE ANGIOTENSINA

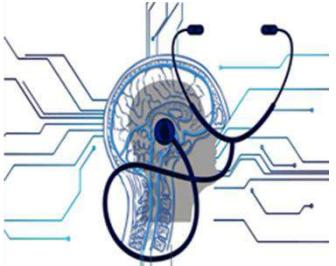




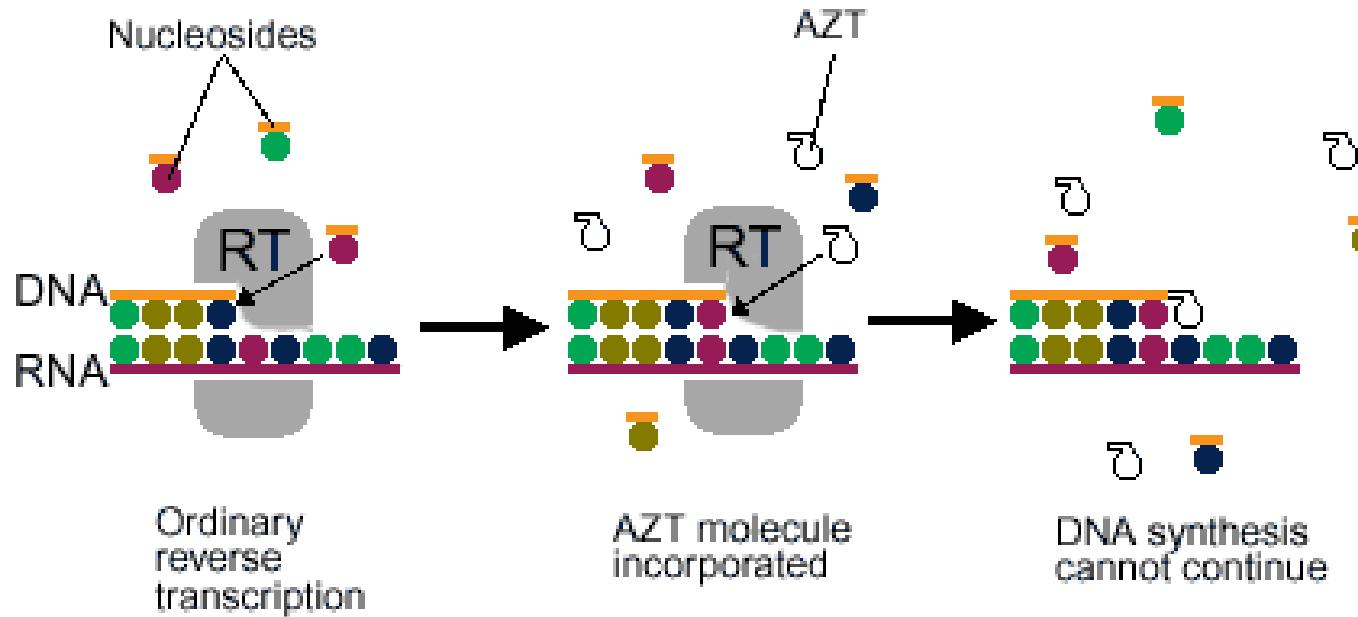
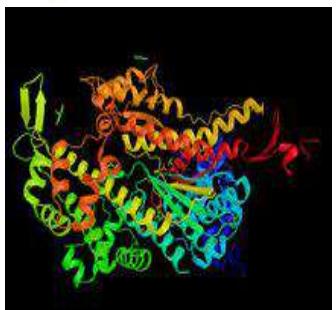
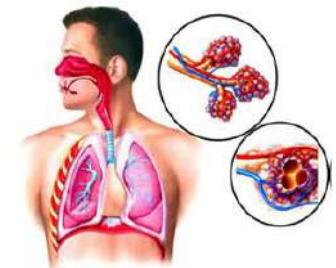
CAPTOPRIL

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

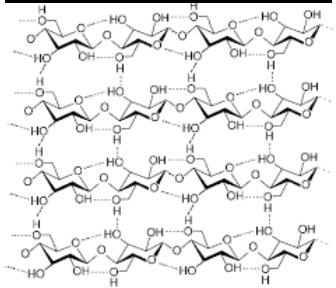


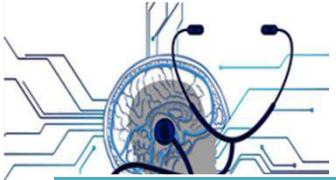


ANÁLOGOS DE NUCLEOTÍDEOS COMO INIBidores DA TRANSCRIPTASE REVERSA



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





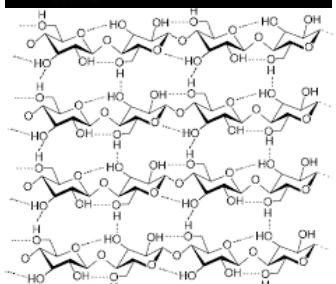
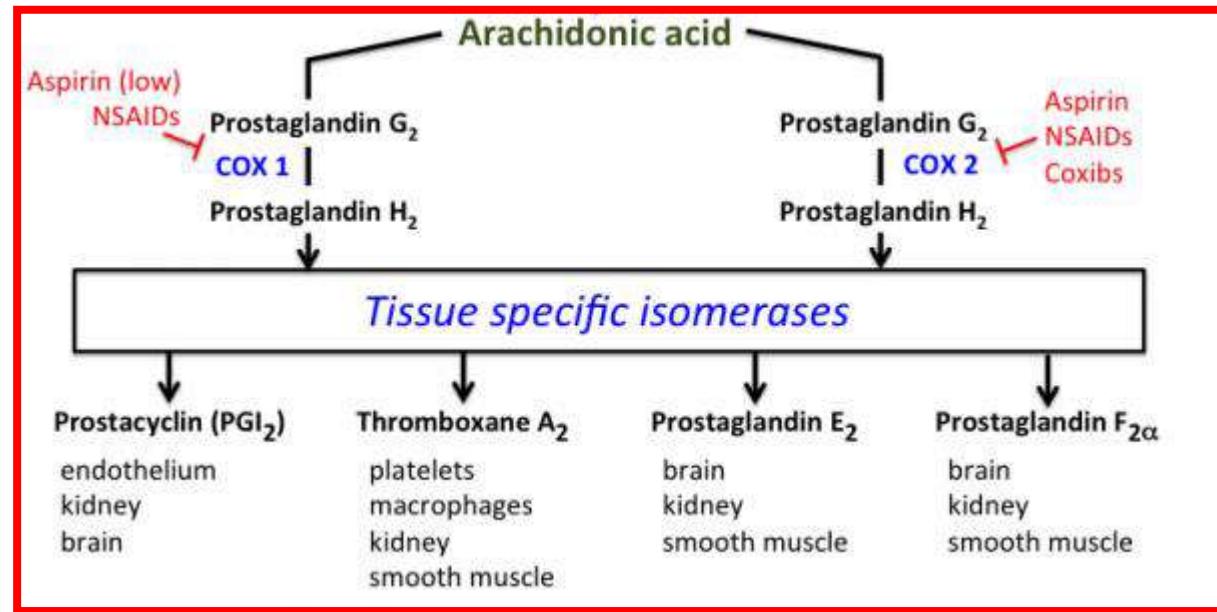
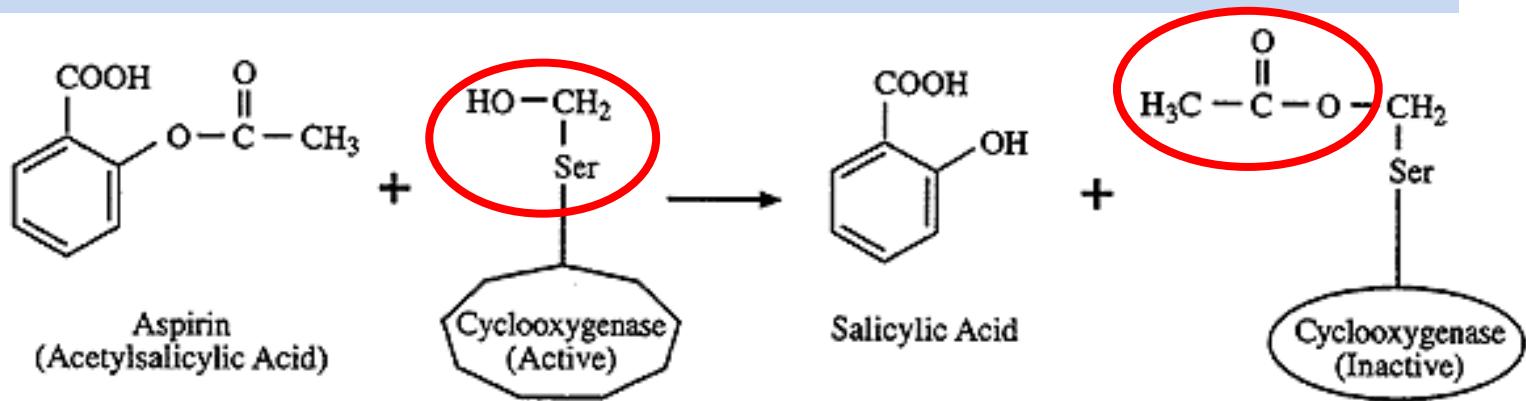
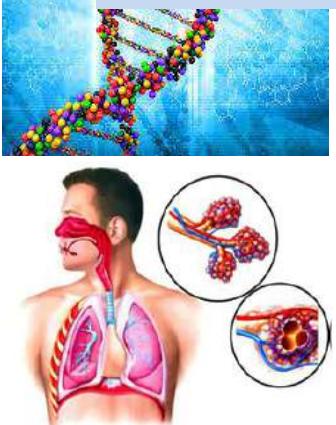
INIBIÇÃO ENZIMÁTICA: INIBIÇÃO NÃO-COMPETITIVA

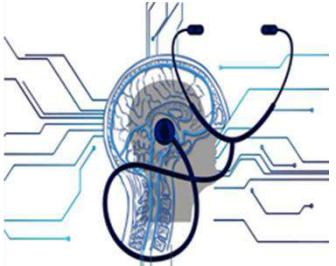
INHIBITOR	ENZIMA INIBIDA	USO MÉDICO
Acetazolamida	Anidrase carbônica	Tratamento de glaucoma, epilepsia , hipertensão intracraniana idiopática e pressão arterial
Aspirina	Ciclooxygenase	Redução da inflamação, analgesia (alívio da dor), prevenção da coagulação e redução da febre
Disulfiram	Aldeído desidrogenase	Inibe a acetaldeído desidrogenase, desencadeando a "ressaca" imediatamente após o consumo do álcool
Omeprazole	H+ K+ ATPase	Reage com resíduos de Cys da enzima H + / K + ATPase na célula parietal inibindo a produção de suco gástrico
Lovastatina	HMG-CoA redutase	Inibe a HMG-CoA redutase, a primeira enzima da via de biossíntese do colesterol



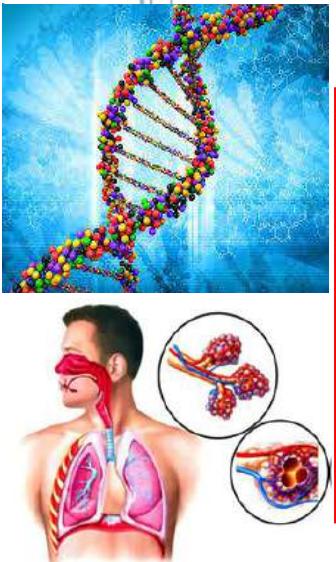
ÁCIDO ACETIL SALICÍLICO: ASPIRINA

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)

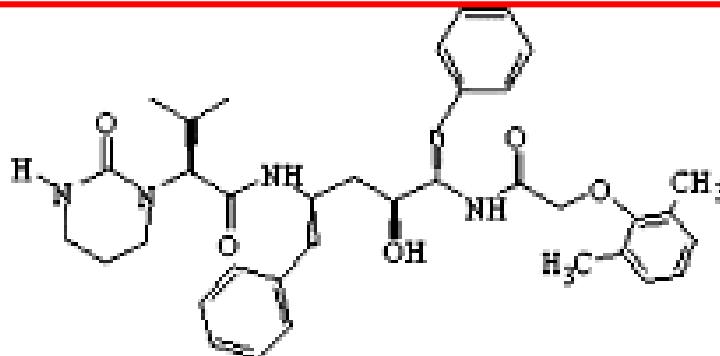




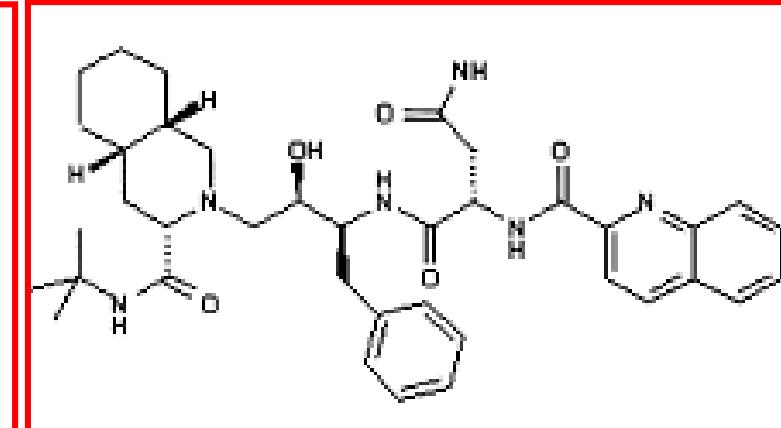
ENZIMAS COMO ALVOS PARA DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DE DOENÇAS



✓ LOPINAVIR e SAQUINAVIR: inibem a protease do vírus HIV

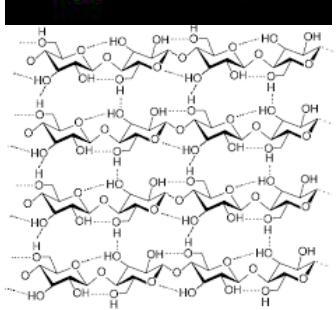


LOPINAVIR

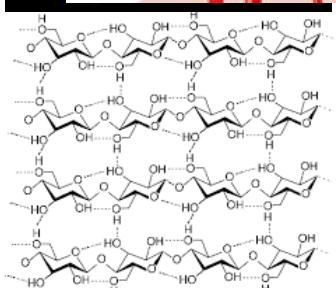
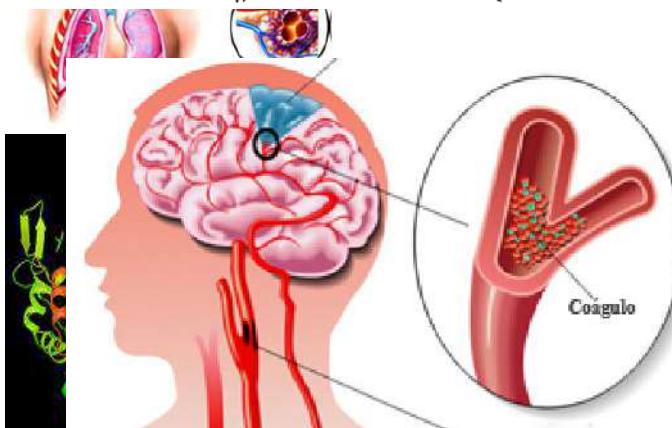
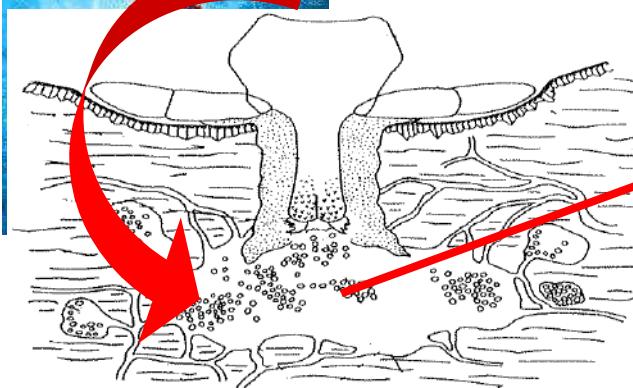


SAQUINAVIR

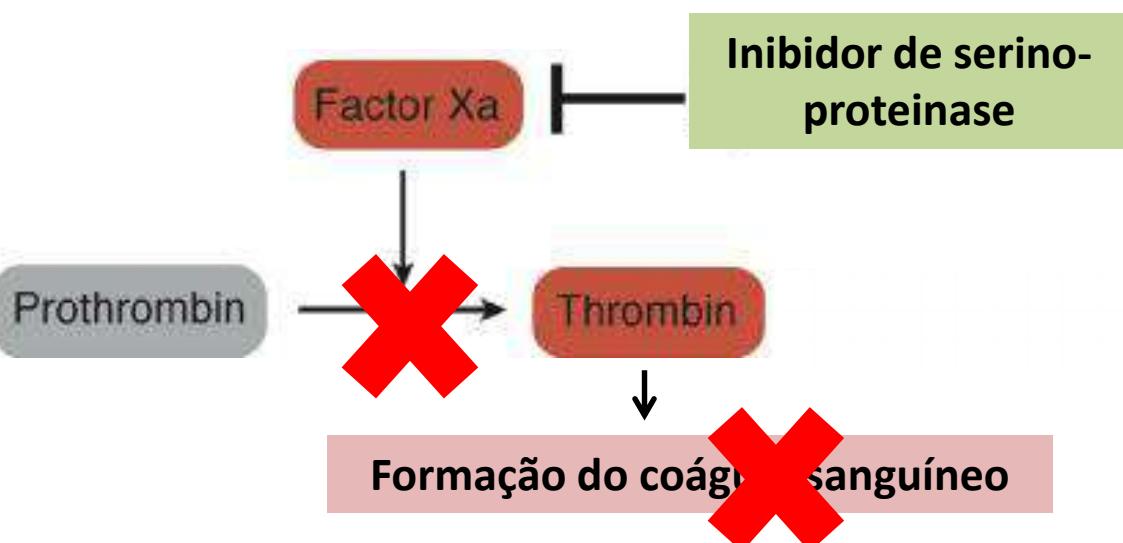
Recentemente, foi identificada uma protease mutante no HIV, o mutante 147 (Alanina mutada por Isoleucina 147) mostrando alta resistência ao LOPINAVIR e ao SAQUINAVIR.

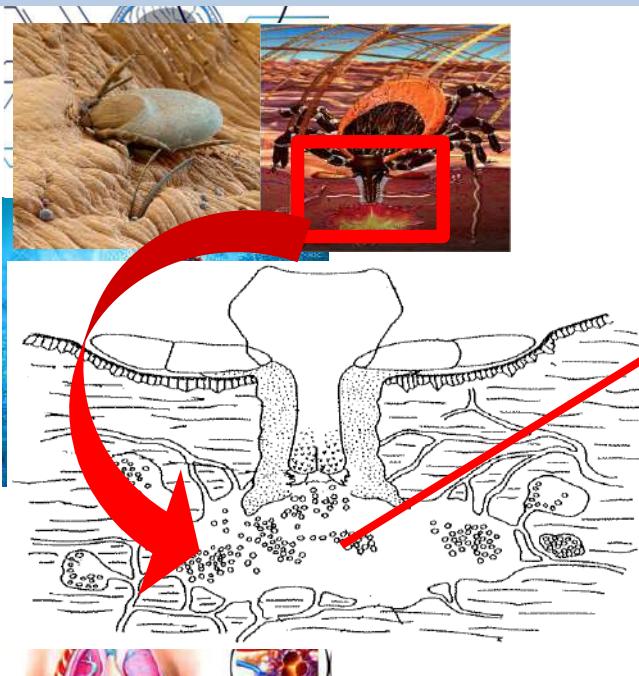


INIBIDORES DE SERINO-PROTEINASES (Inibição do Fator Xa)

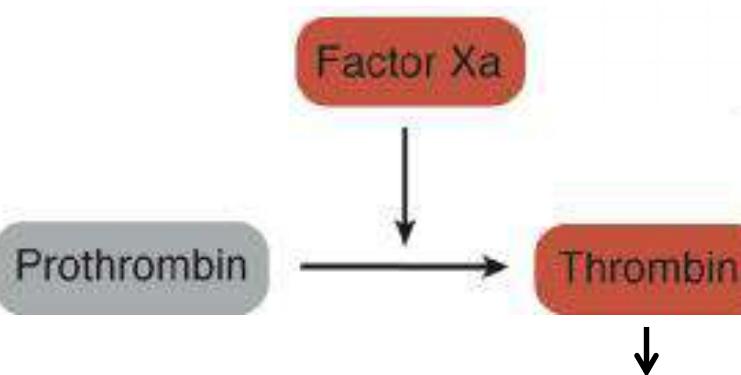


Inibidores de Serino-proteinases inibição do Fator Xa (serina- proteinase)

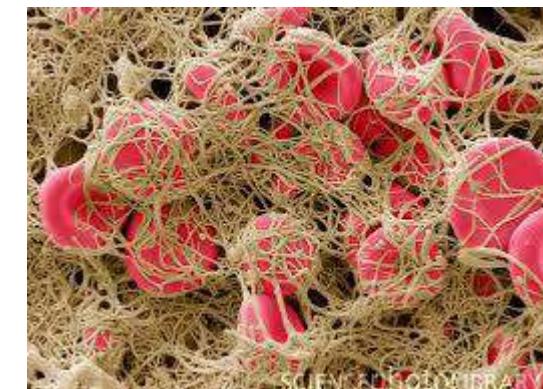
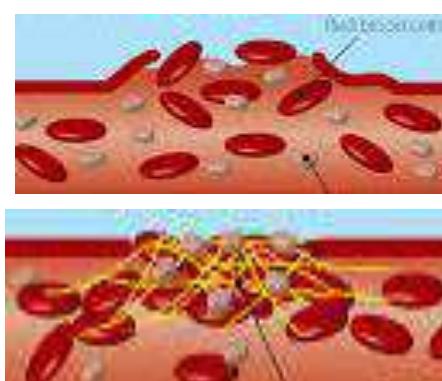
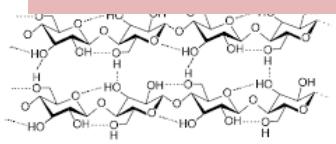


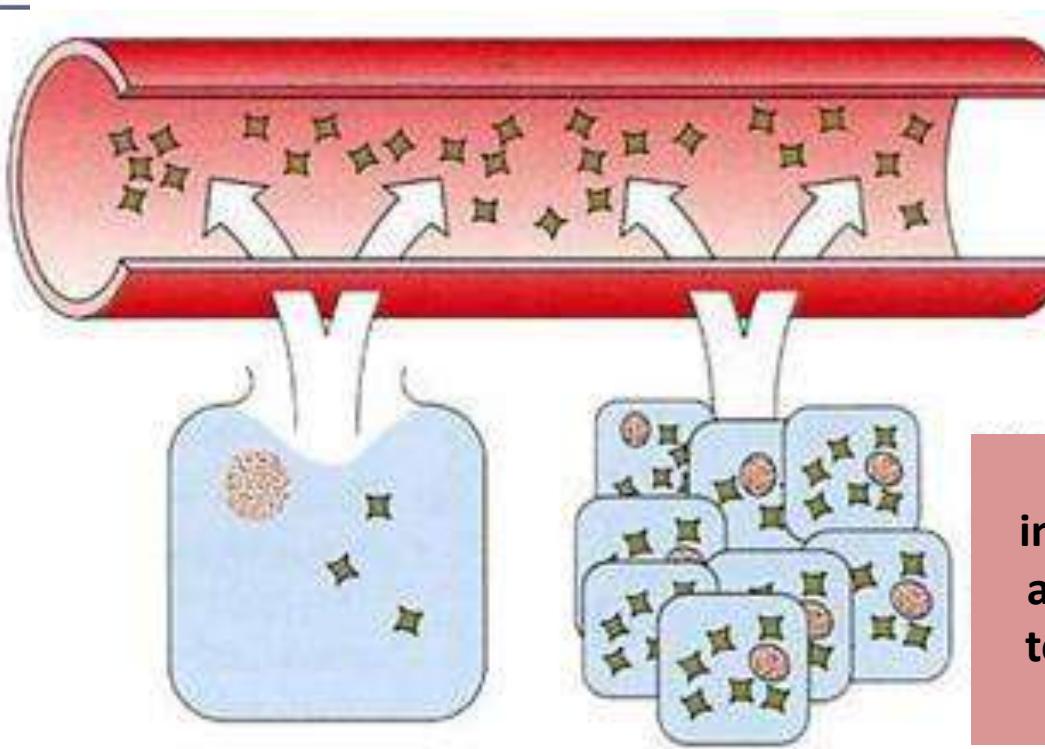
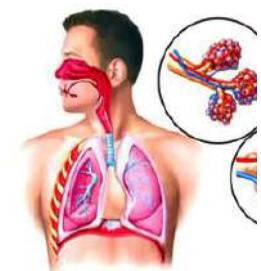
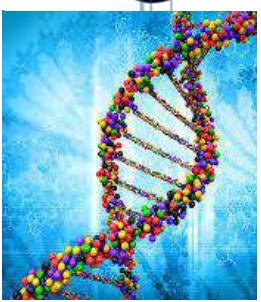
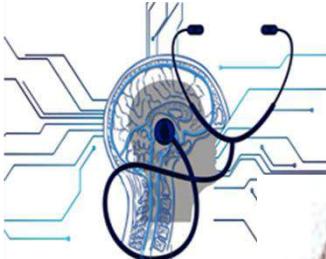


Metaloproteases: hidrolisa filamentos de fibrina (coágulo sanguíneo)



Aplicação de metaloproteases *in situ* : hidrolise da fibrina

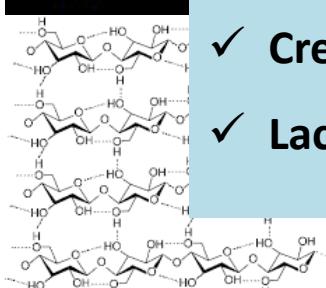


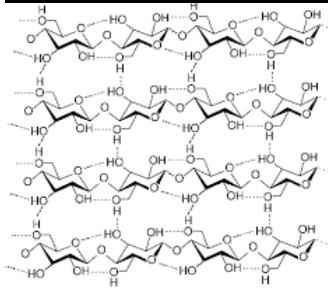
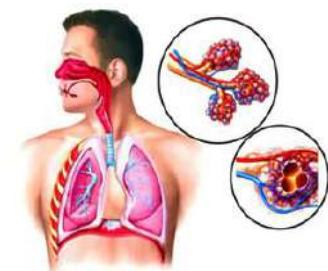
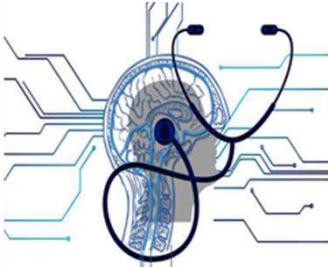


Níveis de enzimas intracelulares no plasma aumenta devido a dano tecidual ou crescimento celular anormal

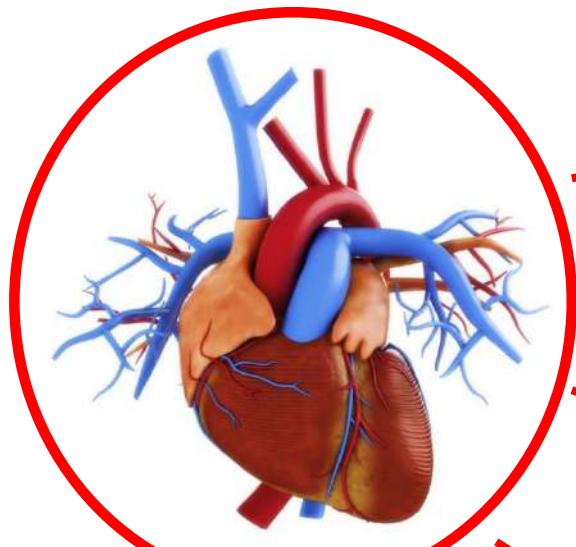
DANO TECIDUAL: LIBERAÇÃO DE ENZIMAS INTRACELULARES NO PLASMA:

- ✓ 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



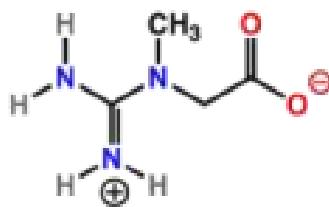
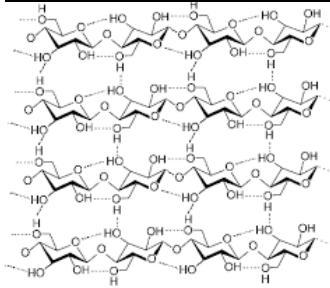
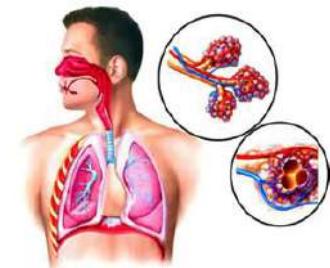
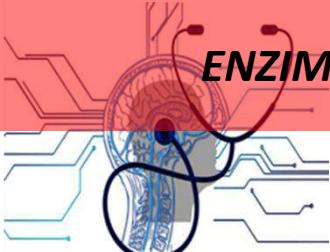
CREATINA QUINASE
(Teste CK)

LACTATO DESIDROGENASE
(LDH)

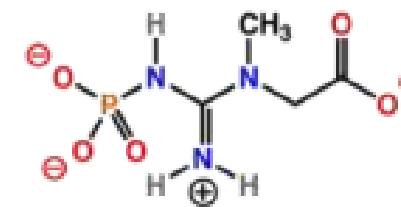
GLICOGÊNIO FOSFORILASE
Isoenzima BB (GPBB)

OUTROS TESTES

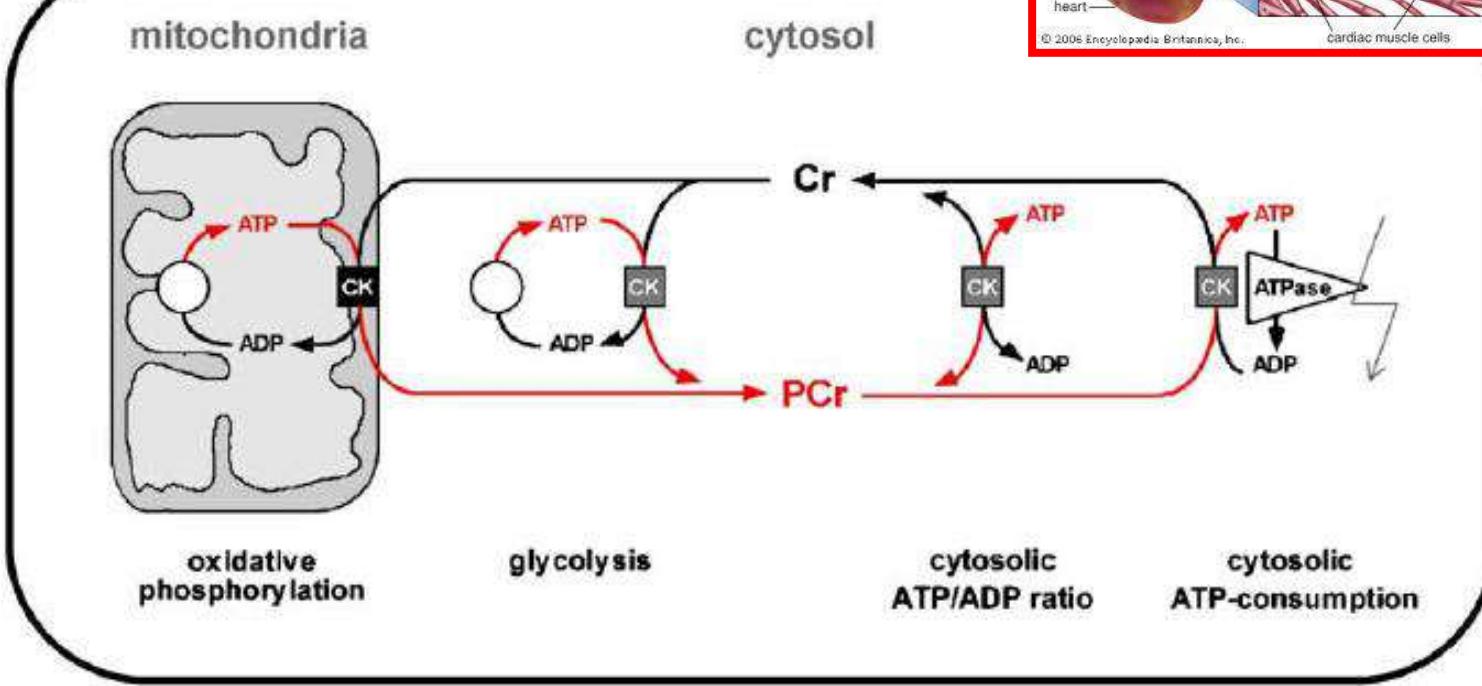
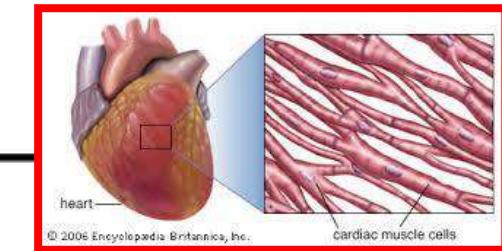
ENZIMAS PARA TESTES DE LESÃO NO MIOCÁRDIO: CREATINA QUINASE ISOENZIMA BB



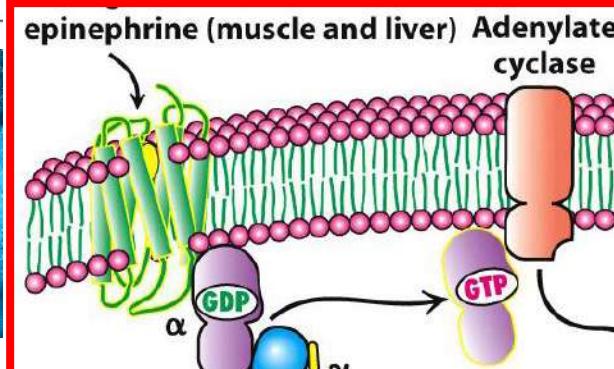
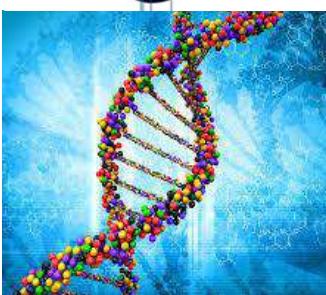
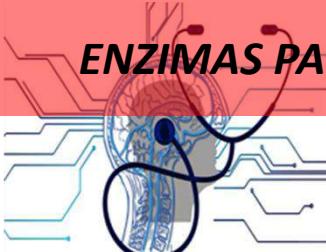
CREATINE



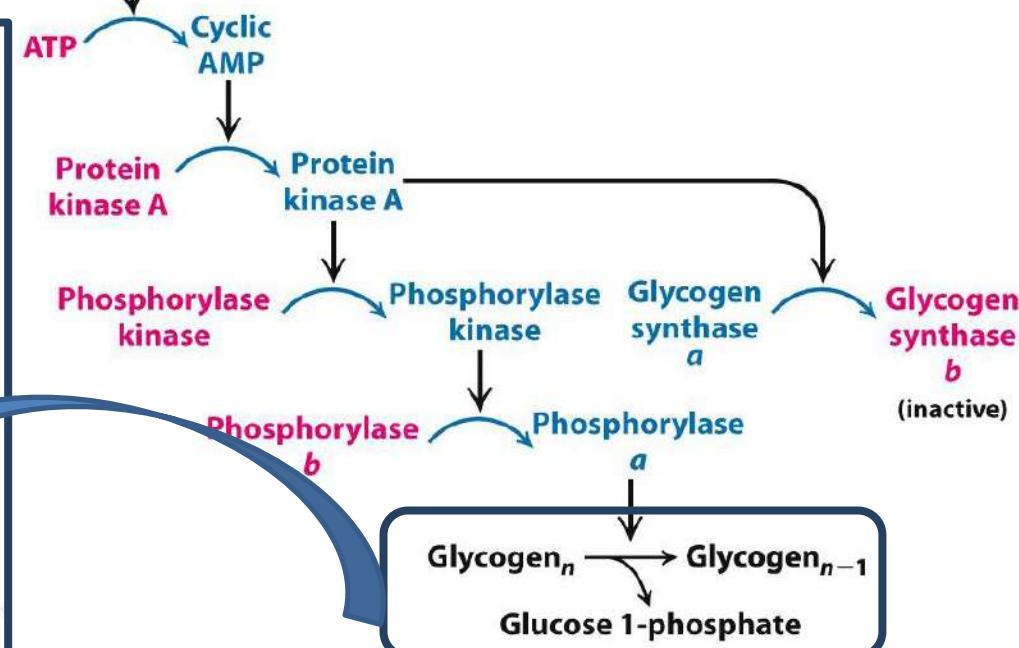
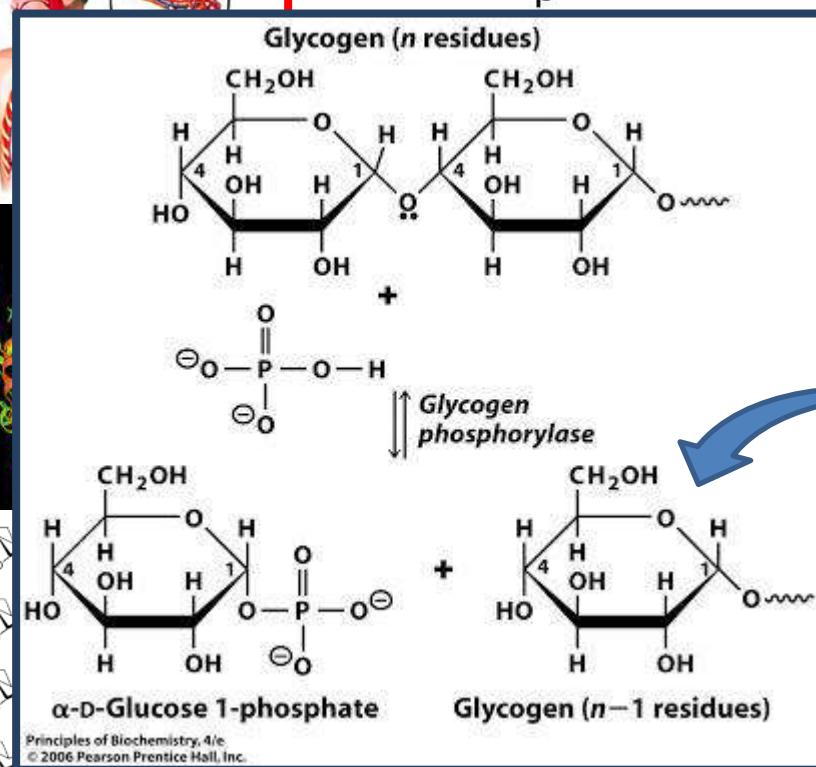
FOSFOCREATINE



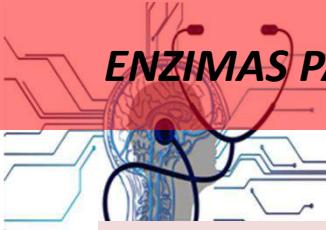
ENZIMAS PARA TESTES DE LESÃO NO MIOCÁRDIO : Glicogênio fosforilase (Isoenzima GP-BB)



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)



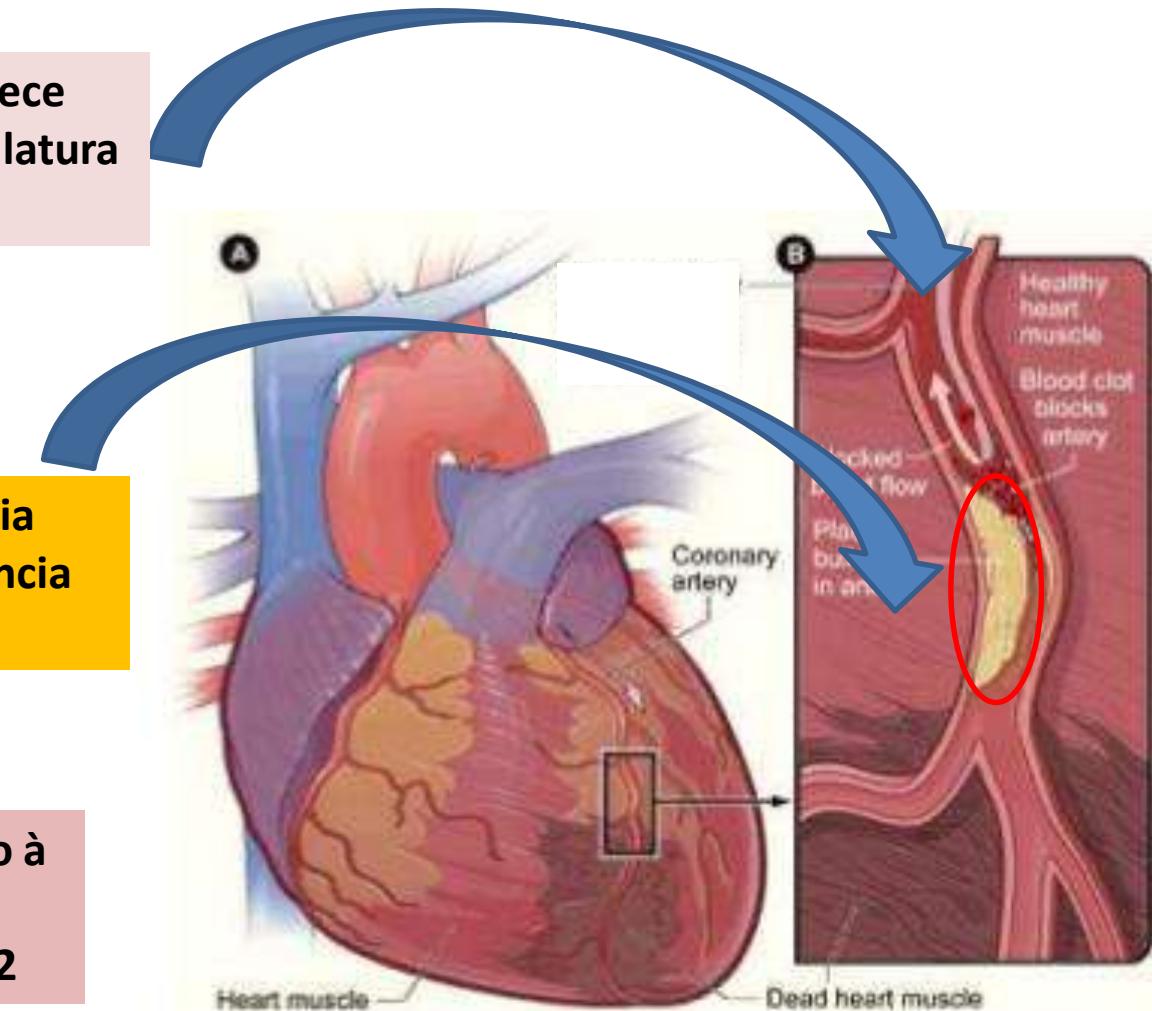
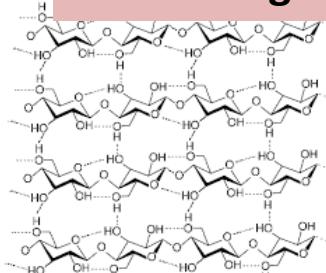
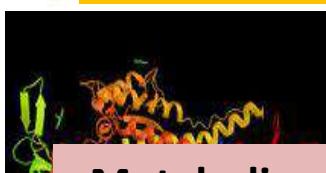
ARTERIA CORONÁRIA: fornece sangue e oxigênio para musculatura cardíaca



Coágulos bloqueiam a artéria coronária: Hipoxia e insuficiência cardíaca

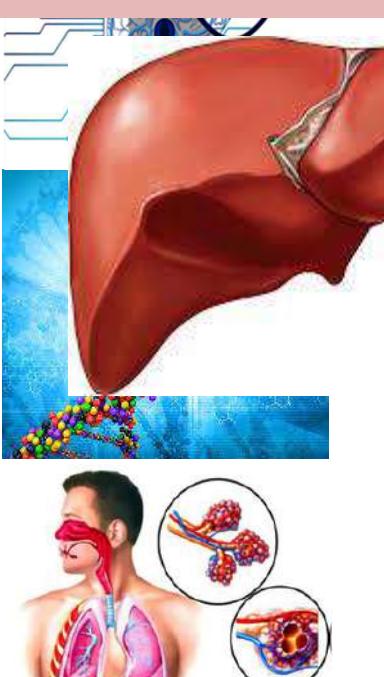


Metabolismo anaeróbico devido à hipoxia: produção de lactato desidrogenases (LDH-1 e LDH-2

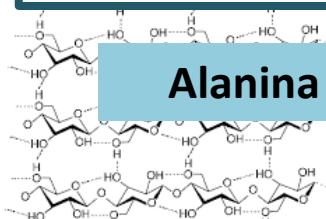
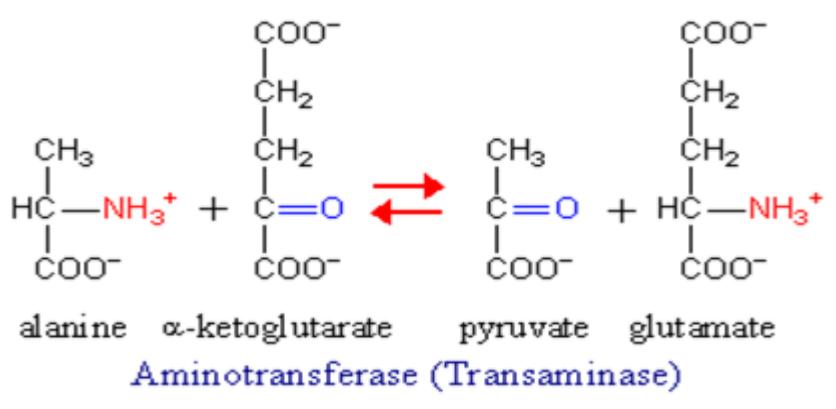
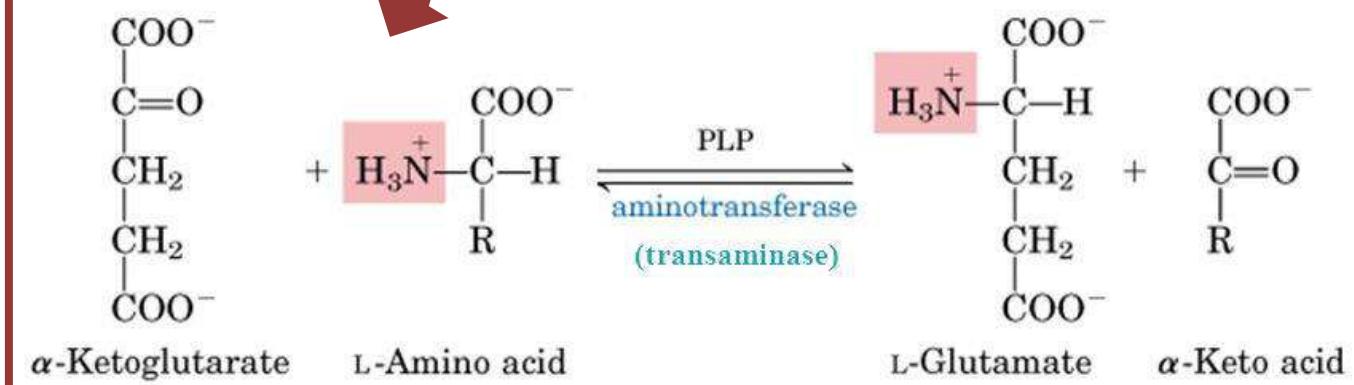


- Heart muscle cells die
- Release LDH into the bloodstream

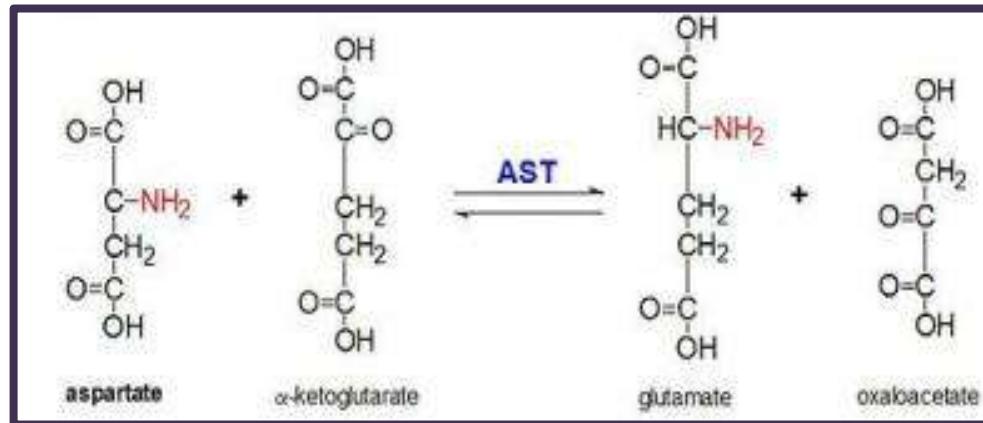
ENZIMAS PARA DETECÇÃO DE LESÕES HEPÁTICAS



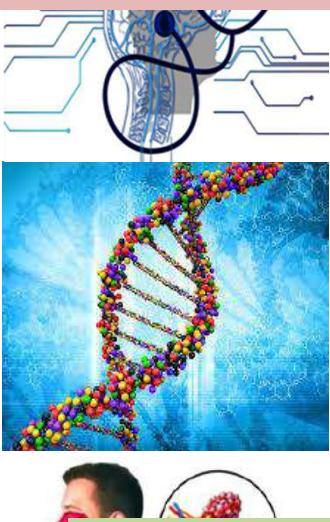
Reação de transaminação



Alanina transaminase (ALT)

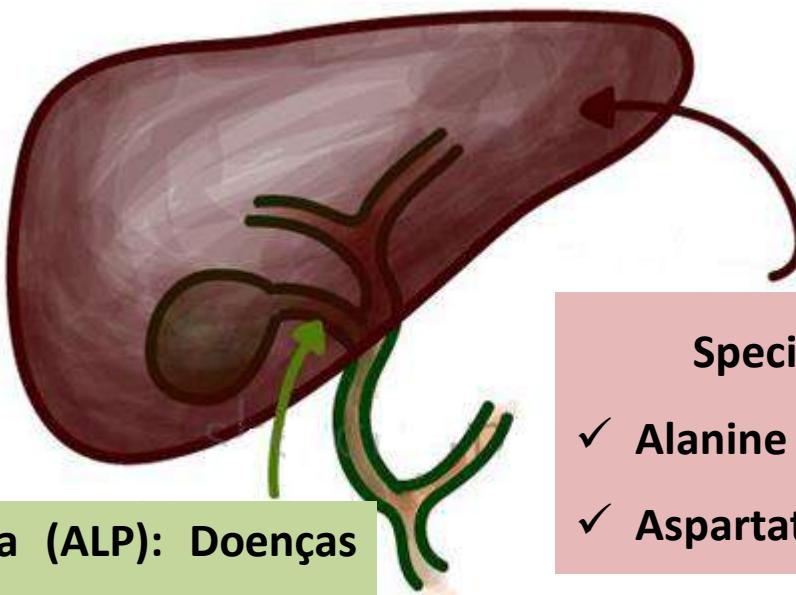
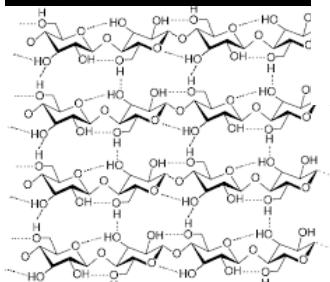
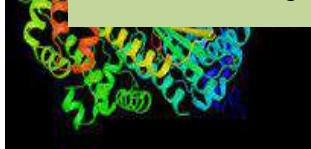


**Aspartato transaminase (AST)
Glutamato-Oxaloacetato Transaminase (GOT)**



Fosfatase alcalina (ALP): Doenças do trato biliar

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



Specific to Liver Damage

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

- ✓ 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 parenquimatosa