

## As Enzimas na Prática Médica

**1 – Generalidades** – de uma maneira geral, as reações químicas que se desenvolvem nos seres vivos apresentam diferenças fundamentais com os processos que ocorrem com a matéria inerte. As mais variadas reações que se processam no interior protoplasmático ocorrem em temperaturas e pressão relativamente baixas e dentro de uma faixa consideravelmente estreita de pH, assim como também, apresentam uma notável **eficiência e especificidade**.

Tudo isso só é possível graças à presença de enzimas que são catalisadores orgânicos ou biológicos, termolábeis, de natureza proteínica e coloidais que aceleram a velocidade das reações termodinamicamente possíveis, no interior das células vivas e nos espaços extracelulares. Algumas delas possuem uma porção não protéica, dialisável e termoestável, denominada **coenzima**.

Por serem quimicamente proteínas, as enzimas são desnaturadas pelo calor e apresentam grande sensibilidade a mudanças de pH, metais pesados, detergentes e aos sais dissolvidos em soluções. Elas atuam em substâncias específicas chamadas **substratos**, transformando-os nos respectivos **produtos**. A atividade enzimática pode ser medida de acordo com a quantidade de substrato transformado ou através da dosagem dos seus produtos finais. Os fatores mais importantes para uma medição da atividade enzimática são: pH do substrato, temperatura da reação e o tempo de atividade. Esses elementos devem ser mantidos rigorosamente, pois caso contrário, modifica a estrutura e a atividade enzimática.

O fenômeno pelo qual a atividade enzimática varia de acordo com as mudanças de pH representa uma importância relevante para o metabolismo celular. De uma maneira geral, as reações enzimáticas ocorrem numa faixa de pH relativamente estreita, entre 7,2 e 7,6, com raríssimas exceções tais como a fosfatase ácida que atua em pH próximo de 5,0 e a fosfatase alcalina, cuja faixa de pH ótimo para a sua atividade gira em torno de 10,0. A concentração hidrogeniônica que torna-se favorável a enzima desenvolver sua máxima atividade, transformando um substrato em determinado produto, denomina-se **“pH ótimo”**. Determinadas reações em cadeia em que aparecem complexos multienzimáticos, o valor do pH ótimo da reação total, que é decisivo para a mesma, está localizado entre os pHs ótimos de cada reação enzimática, ou seja, perfazendo uma média.

A temperatura é outro fator importante para o desenvolvimento da atividade enzimática, pois como acontece com a maioria das reações enzimáticas, a velocidade das reações catalisadas pelas enzimas, aumenta geralmente com a elevação da temperatura, é claro, dentro de uma certa faixa na qual se mantém a estabilidade enzimática. A velocidade de uma reação enzimática obedece à lei de Van' t Hoff, isto é, **duplica (em sua maioria), triplica ou quadruplica, a cada aumento de 10° C** na escala termométrica. Portanto, em média, a velocidade da maioria das reações enzimáticas aumenta de 1,25 a 3 vezes quando ocorre o aumento de temperatura na faixa de 10°C. Portanto, para cada grau centígrado de elevação e temperatura, a velocidade das reações enzimáticas aumenta de 2,5 a 20% (média de 10%). Porém, esta relação com o aumento de temperatura pode variar de uma enzima para outra, dependendo naturalmente da energia de atividade da reação catalisadora. Existe uma temperatura na qual a reação ocorre de forma mais rápida, denominada temperatura ótima. Acima dessa temperatura, a velocidade da reação enzimática cai de maneira brusca, pois a enzima é desnaturada pelo calor e a reação não pode mais continuar. A isto se denomina temperatura crítica que é característica para cada tipo de enzima e situa-se geralmente na faixa entre 50 e 60°C. Entretanto, para a grande maioria das enzimas, as temperaturas ótimas estão localizadas em faixa apropriada, igual ou superior a temperatura do ambiente celular no qual elas se encontram, ou seja, entre 37 e 40°C.

**2 – Distribuição** – com relação ao ambiente celular, basicamente existem dois tipos de enzimas: intracelulares e extracelulares.

**2.1 – Enzimas Intracelulares** – em princípio, todas as enzimas são intracelulares, uma vez que, são sintetizadas a nível celular pelos ribossomos livres ou aderidos às paredes do retículo endoplasmático. Dentro de uma mesma célula as enzimas podem estar em locais diferentes, sendo que algumas delas localizam-se exclusivamente no citoplasma celular e outras, além do citossol, podem estar presentes em outras estruturas celulares, como mitocôndrias, lisossomos, ribossomos, retículo endoplasmático, membrana, núcleo, e outras. De acordo com a localização intracelular, as enzimas são classificadas como: uniloculares e biloculares.

**2.1.1 – Enzimas Uniloculares** – são aquelas localizadas apenas em um compartimento ou sítio celular, quer seja no citossol, em estruturas celulares como a membrana celular ou em organelas.

**2.1.2 – Enzimas Biloculares** – são enzimas localizadas em dois compartimentos celulares, ou seja, no citossol e em outras estruturas. Eis a relação das principais enzimas celulares de acordo com a sua localização:

**2.1.2.1 – Enzimas Ligadas a Membrana Celular:**

**2.1.2.1.1 – Fosfatase Alcalina (ALP).**

**2.1.2.1.2 – Leucina Aminopeptidase ou Arilamidase (LAP).**

**2.1.2.1.3 – 5' Nucleotidase (5'-N).**

**2.1.2.2 – Enzimas Ligadas ao R.E. Liso:**

**2.1.2.2.1 – Gama Glutamil Transferase (GGT) ou Gama Glutamil Transpeptidase (GGTP).**

**2.1.2.3 – Enzimas Ligadas ao R.E. Rugoso:**

**2.1.2.3.1 – Colinesterase (CHE ou CHS).**

**2.1.2.4 – Enzimas Ligadas aos Peroxissomos:**

**2.1.2.4.1 – Catalase e Xantino-Oxidase.**

**2.1.2.5 – Enzimas Ligadas aos Lisossomos:**

**2.1.2.5.1 – Esterases e Fosfatases.**

**2.1.2.6 – Enzimas Ligadas a Mitocôndria:**

**2.1.2.6.1 – Aspartato Transaminase (AST) ou Transaminase Glutâmica Oxalacética (TGO).**

**2.1.2.7 – Enzimas Ligadas ao Citoplasma:**

**2.1.2.7.1 – Malato Desidrogenase (MD ou MDH).**

**2.1.2.7.2 – Aspartato Transaminase (AST) ou Transaminase Glutâmica Oxalacética (TGO).**

**2.1.2.7.3 – Alanina Transaminase (ALT) ou Transaminase Glutâmica Pirúvica (TGP).**

**2.1.2.7.4 – Aldolase (ALD ou ALS).**

**2.1.2.7.5 – Lactato Desidrogenase (LD ou LDH).**

**Observação** – cerca de 60% do conteúdo de AST localiza-se no citossol e o restante (40%), na matriz mitocondrial.

**2.2 – Enzimas Extracelulares** – as enzimas existentes no interior das células executam inúmeras reações, ocorrendo em condições normais, um equilíbrio entre a síntese e a degradação delas. Entretanto, é conveniente lembrar que uma pequena quantidade de enzima ultrapassa os limites da membrana plasmática e cai no espaço extracelular. Dentro da normalidade a atividade das enzimas desse espaço, possui uma estreita faixa de variação; porém, em certas enfermidades ocorre um aumento da permeabilidade da membrana celular ou por lesão celular. Existindo lesão ou necrose celular, existe uma libertação das enzimas intracelulares para o espaço extracelular; inicialmente para o espaço intersticial e posteriormente, para o espaço intravascular. Nesse caso, começa a aparecer um aumento da atividade enzimática no plasma sanguíneo, que é utilizada no laboratório para a comprovação de diagnóstico. As enzimas encontradas no plasma sanguíneo estão subdivididas em: **enzimas plasmáticas funcionais e não funcionais**.

**3 – Isoenzimas** – referem-se a grupos de enzimas ou frações enzimáticas sob a forma multimolecular, presentes em órgão, tecido, célula ou organela celular de uma mesma espécie animal, capazes de catalisar os mesmos tipos de reações, quando colocadas presentes a um substrato específico. Entretanto, elas apresentam diferenças em suas propriedades físico-químicas, bioquímicas e imunológicas; podendo ser separadas através de processos físico-químicos, em moléculas menores denominadas subunidades ou protômeros, que diferem entre si na sua estrutura primária.

Independente de sua origem, as isoenzimas específicas para um determinado substrato apresentam centro ativo estruturalmente idêntico, mesmo que apresente variações consideráveis em sua estrutura primária. Quando as subunidades ou protômeros de uma mesma enzima são diferentes entre si, ela poderá existir sob variadas formas. A creatina fosfoquinase (CPK) é formada por duas espécies de subunidades: B (brain = cérebro) e M (músculo esquelético). Portanto, devem-se ligar sempre duas subunidades (dímero) para formar uma molécula ativa. No caso de CPK existem 3 possibilidades de se construir uma molécula de enzima: BB (tipo cerebral), MB (tipo cardíaco) e MM (tipo muscular). No caso da desidrogenase láctica que é formada fundamentalmente por 2 tipos de subunidades chamadas H (isoladas do tecido cardíaco – Heart) e M (isoladas do músculo esquelético). Cada molécula dessa enzima:  $H_4$ ,  $H_2M$ ,  $H_2M_2$ ,  $HM_3$  e  $M_4$ . Cada possibilidade favorece a formação de uma isoenzima, que apresenta diferenças também em suas estruturas quaternárias.

Cada subunidade é sintetizada predominantemente por um tecido específico, correspondendo a um certo padrão isoenzimático a nível celular ou orgânico geneticamente determinado. Desse modo, as variantes estruturais químicas são padronizadas de acordo com a dependência filogenética de cada órgão e este sintetiza a enzima que melhor se adapta as suas necessidades funcionais. Assim, as diferentes formas de um mesmo tipo enzimático se apresentam em células de tecidos diferentes, possibilitando uma variedade grande de padrões isoenzimáticos, que serão vistos posteriormente. Algumas vezes, dentro de uma mesma célula pode aparecer vários tipos isoenzimáticos, em diferentes estruturas, de acordo com as suas atividades funcionais. Como são proteínas quimicamente diferentes, as isoenzimas podem ser separadas e identificadas pelas seguintes características:

**I** – Diferenças na mobilidade eletroforética.

**II** – Diferenças no comportamento cromatográfico.

**III** – Diferenças nas respostas frente a inibidores.

**IV** – Diferenças na resistência a inativação térmica.

**V** – Diferenças nas reações imunoquímicas.

**VI** – Diferenças nas constantes de Michaelis–Menten.

Com a evolução do conhecimento científico através de técnicas de bioquímica enzimáticas, cada vez mais aperfeiçoadas, vem aumentando consideravelmente a descoberta de novos tipos isoenzimáticos, possibilitando assim os diagnósticos mais precisos. Até o presente momento, demonstrou-se no organismo humano a existência de isoenzimas correspondentes a mais de 100 tipos enzimáticos e destas, destacam-se pela sua importância diagnóstica de significado especial, as seguintes isoenzimas: da ACP, ALD, AMS, ALP, AST, CPK, LAP, LDH, entre outras.

Um novo horizonte se abriu após a introdução do perfil isoenzimático no diagnóstico laboratorial, e dessa maneira, tem facilitado o diagnóstico diferencial entre as mais variadas doenças humanas.

**Nota – este texto é, na realidade, uma breve introdução, por isso queremos esclarecer aos interessados no assunto, que para obter o texto na íntegra (total), basta solicitá-lo, que atenderemos todos os pedidos e enviaremos os mesmos pelos Correios e Telégrafos; portanto, entre em contato conosco através dos nossos telefones ou e-mail.**

**À Direção.**

**Maceió, Janeiro de 2.012**

**Autor: Mário Jorge Martins.**

**Prof. Adjunto de Saúde Coletiva da Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas (UNCISAL).**

**Mestre em Parasitologia pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).**

**Médico da Fundação Nacional de Saúde (FUNASA).**