



Universidade Federal Fluminense

Departamento de Biologia Celular e Molecular

Projeto: Desenvolvimento de Casos Clínicos para  
Aplicação no Ensino de Biologia Celular e  
Molecular para Medicina

Tema: Enzimas no Diagnóstico Clínico

Monitora: Marcelle da Costa Frickmann, Monique Martins  
Jordão

Orientadores: Profas. Lídia Maria da Fonte Amorim e  
Patricia Burth

# Enzimas no Diagnóstico Clínico

## ➤ Conceitos

- Enzimas
- Isoenzimas

## ➤ Infarto Agudo do Miocárdio (IAM)

- Enzimas do IAM
  - I. Lactato Desidrogenase(LDH)
  - II. Creatina Quinase(CK)
- Troponinas

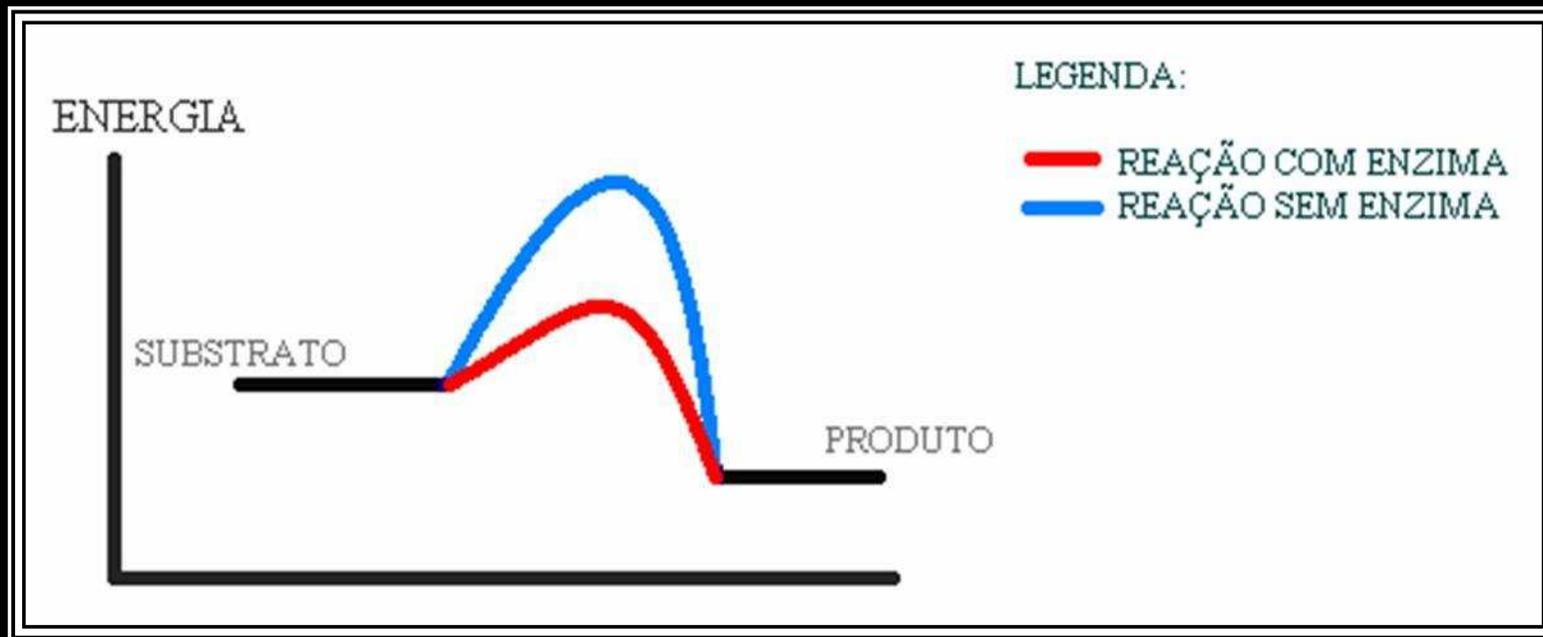
## ➤ Métodos de Separação de Isoenzimas

- Eletroforese
- Imunoinibição

# Enzimas

São proteínas que catalisam reações, com exceção de alguns RNAs

As enzimas aceleram a velocidade de uma reação, diminuindo a energia de ativação.



# Isoenzimas

São enzimas que diferem na seqüência de aminoácidos, porém catalisam a mesma reação

Características:

São tecido-específicas

Apresentam nível sérico determinado pela lise celular



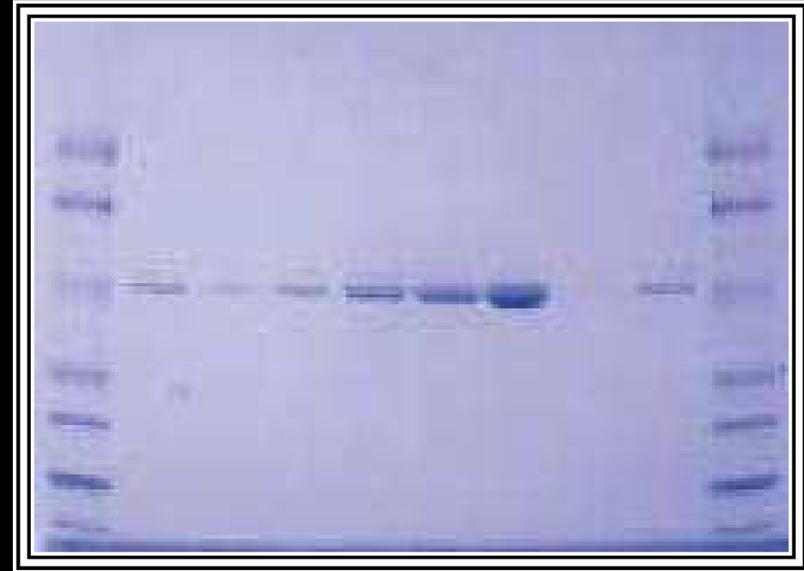
*Diagnóstico Laboratorial de Dosagem  
de Isoenzimas*

Apresentam comportamento eletroforético diferenciado

# Métodos de Separação de Isoenzimas

## ➤ Eletroforese:

Metodologia bastante precisa que, através da utilização de um campo elétrico, promove a separação das isoenzimas, levando em conta a carga elétrica e peso molecular das isoenzimas.



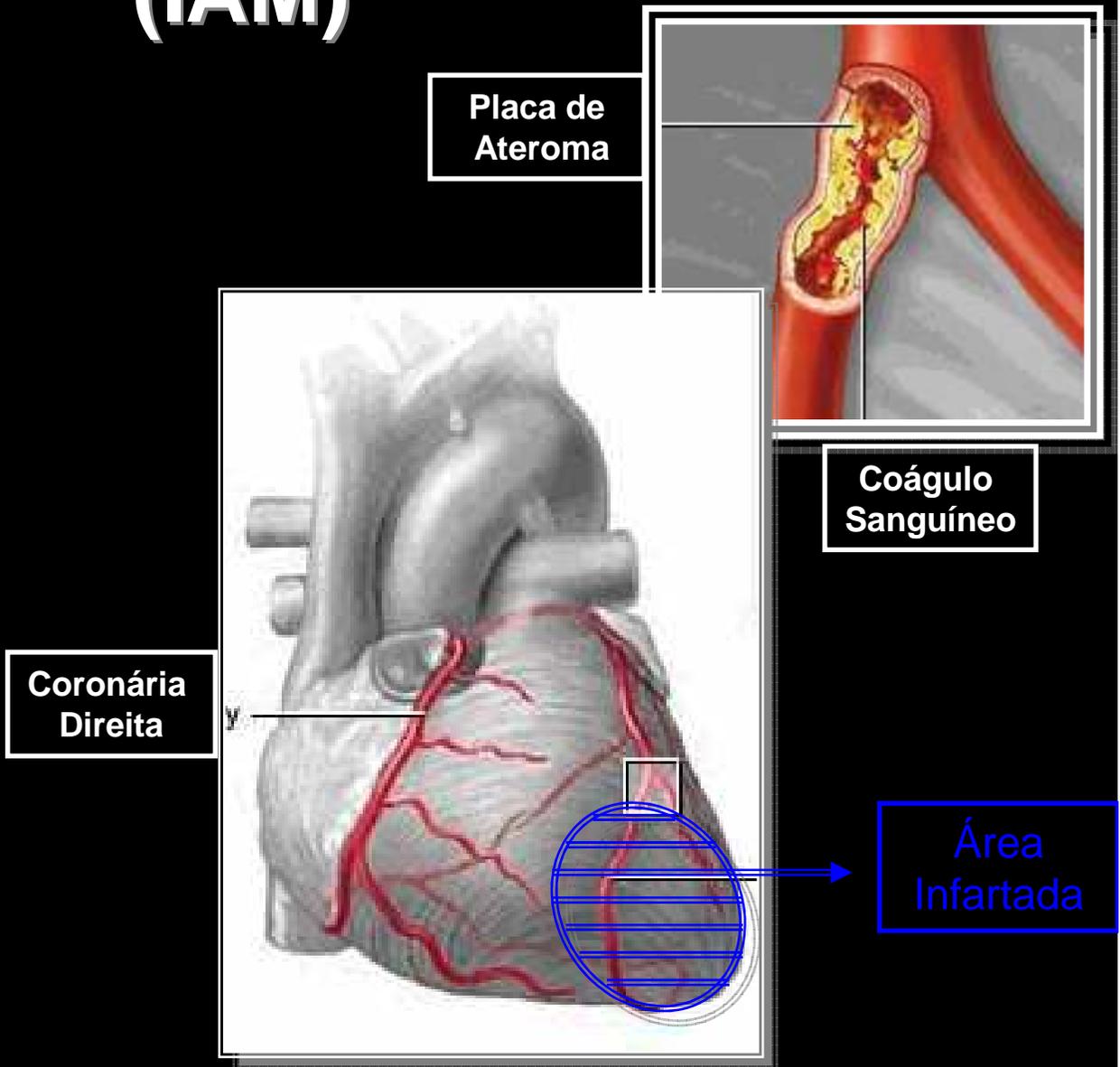
Fonte: Berg, Jeremy & Tymoczko, John & Stryer, Lumbert.  
Bioquímica - 5ª edição

## ➤ Imunoinibição:

Consiste na inibição das unidades M da creatino quinase (CK) com um anticorpo anti M e dosagem posterior da fração B da MB circulante, uma vez que a fração BB predomina no cérebro, sendo contida pelas meninges desde que estejam integras. As subunidades M são inibidas por um anticorpo específico que não afeta as subunidades B.

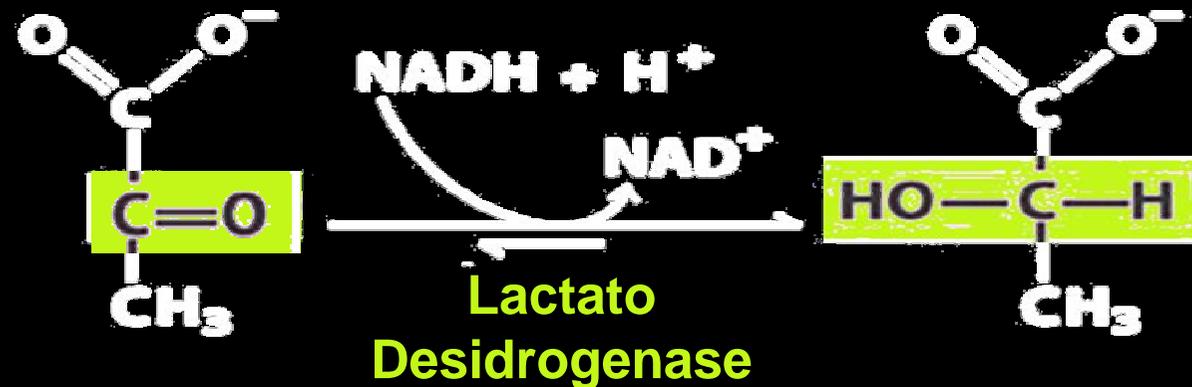
# Infarto Agudo do Miocárdio (IAM)

O Infarto Agudo do Miocárdio (IAM) ocorre como consequência de uma diminuição no suprimento sanguíneo em um determinado local do tecido cardíaco, devido à oclusão de uma coronária que vasculariza essa região. Tal fato, ocorre em função da formação de Placas de Ateroma ou Trombos.



# Lactato Desidrogenase (LDH)

Esta enzima catalisa a seguinte reação:



Características:

Possui 5 isoenzimas, cada uma com quatro cadeias, formadas por combinações diferentes de cadeias: H ou M

	Isoenzimas	Tecidos de Origem
LDH - 1	HHHH (migração mais rápida)	Coração, hemácias e rins
LDH - 2	HHHM	Coração e sistema retículo endotelial
LDH - 3	HHMM	Pulmões e outros tecidos
LDH - 4	HMMM	Placenta, pâncreas e músculo esquelético
LDH - 5	MMMM (migração mais lenta)	Fígado e músculo esquelético

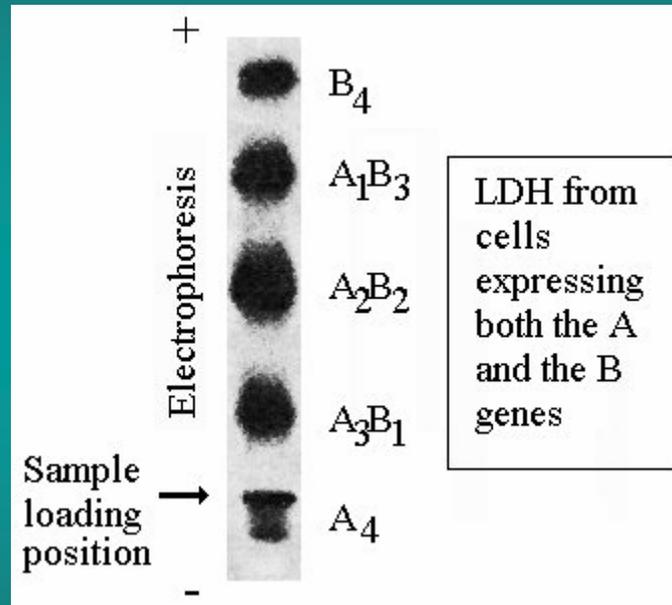
No IAM:

↑ moderada da LDH 1 e ↓ da LDH2 → 1<sup>ª</sup> horas após o infarto

pico → 48 – 72h

Níveis normais → 10 a 14 dias

[http://images.google.com.br/imgres?imgurl=http://www.ucl.ac.uk/~ucbhjow/b241/images/ldh1.jpg&imgrefurl=http://www.ucl.ac.uk/~ucbhjow/b241/biochemical\\_2.html&usg=\\_\\_AksZOErG2bOsXCLL4s59XD82qHk=&h=300&w=339&sz=20&hl=pt-BR&start=2&um=1&tbnid=N5n2W7UWtSfA8M:&tbnh=105&tbnw=119&prev=/images%3Fq%3DLDH%2Belectrophoresis%26hl%3Dpt-BR%26client%3Dfirefox-a%26rls%3Dorg.mozilla:pt-BR:official%26sa%3DG%26um%3D1](http://images.google.com.br/imgres?imgurl=http://www.ucl.ac.uk/~ucbhjow/b241/images/ldh1.jpg&imgrefurl=http://www.ucl.ac.uk/~ucbhjow/b241/biochemical_2.html&usg=__AksZOErG2bOsXCLL4s59XD82qHk=&h=300&w=339&sz=20&hl=pt-BR&start=2&um=1&tbnid=N5n2W7UWtSfA8M:&tbnh=105&tbnw=119&prev=/images%3Fq%3DLDH%2Belectrophoresis%26hl%3Dpt-BR%26client%3Dfirefox-a%26rls%3Dorg.mozilla:pt-BR:official%26sa%3DG%26um%3D1)



# Creatina Quinase (CK)

Esta enzima catalisa a seguinte reação:



Características:

Possui 3 isoenzimas, cada uma formada por duas cadeias (B e M em combinações diferentes)

A Isoenzima CK-MB é encontrada predominantemente no miocárdio;

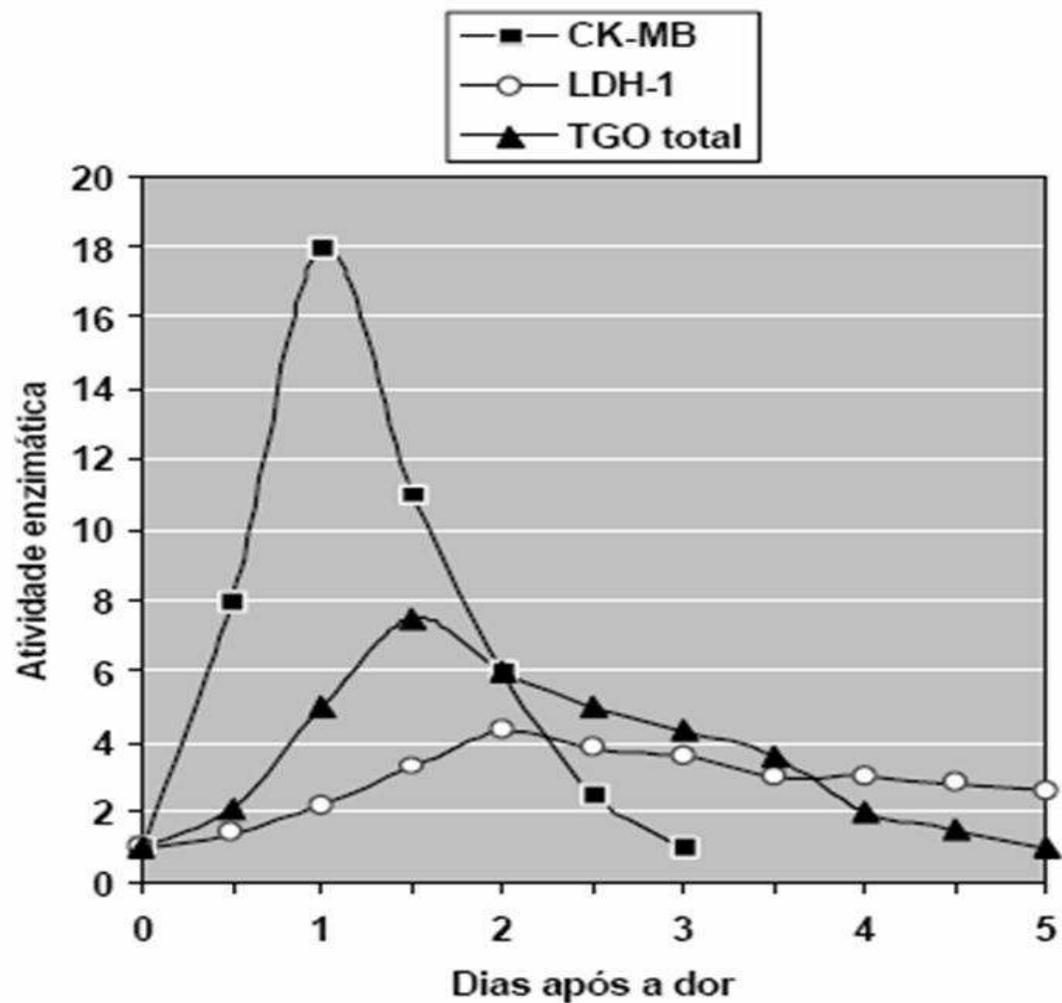
	Isoenzima	Tecidos de Origem
CK - 1	CK – BB (migração mais rápida)	Cérebro e Pulmão
CK - 2	CK – MB	Miocárdio
CK - 3	CK – MM (migração mais lenta)	Músculos esqueléticos e Miocárdio

No IAM:

↑ CK-MB → dentro de 3-6h

valor máximo → 12 – 24h

normal → 24 – 48h (caso não ocorra um novo IAM)



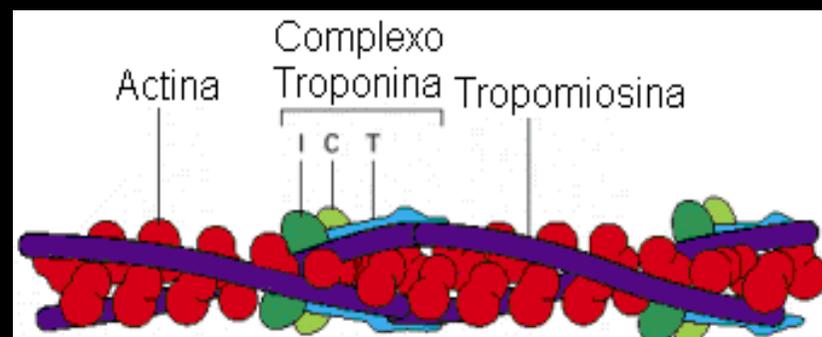
**Figura 4.1.** Modelo típico de alterações na atividade enzimática após infarto do miocárdio

# Troponinas (Tn)

São proteínas presentes nas células musculares do aparelho miofibrilar do sarcômero, formando o Complexo Troponina



*Troponinas T, C e I*



Fonte: Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts e Peter Walter *Biologia Molecular da célula*, trad. Ana Beatriz da Veiga et al – 4ª ed. – Porto Alegre: Artmed, 2004

Características:

- ✓ A TnTc e a TnIc são específicas da lesão do miocárdio, pois diferem das troponinas T e I do músculo esquelético pela seqüência de aminoácidos;
- ✓ Aparecem de 6 a 18 h após o infarto.

## II. Caso Clínico

### ➤ Enzimas no Diagnóstico Clínico:

Um operário de 29 anos sentiu uma dor torácica ao manejar uma ferramenta de trabalho. A intensidade da dor era moderada e ele achou que tinha condições de continuar a trabalhar. Ao longo do dia começou a sentir uma dor aguda ao respirar e uma sensação de aperto na parte anterior do peito. Como não melhorava, ao final do segundo dia o operário foi levado à emergência de um hospital próximo e internado após um breve exame. Os resultados do eletrocardiograma e do raio-X de tórax foram normais. No entanto, o exame de sangue mostrou um nível elevado da enzima lactato desidrogenase (LDH) no plasma (400UI/L). O nível de LDH plasmático permaneceu acima da normalidade nos quatro dias subsequentes. Não ocorreu nenhum outro problema físico ou laboratorial e a dor torácica regrediu aos poucos, mediante repouso. A elevação da atividade da LDH no plasma do paciente justificou a análise do seu padrão de isoenzimas. Essa análise indicou um aumento das isoenzimas M4 e HM3.

Para que não restassem dúvidas sobre a origem da lesão analisou-se a presença no sangue de uma outra enzima, a creatina quinase (CK). Os resultados do paciente mostraram um aumento da CK total no plasma, em função da elevação da isoenzima MM.

## ✓ Questões:

1. Quais seriam os diagnósticos possíveis para o quadro apresentado pelo paciente?
2. Explique o que são isoenzimas sob o ponto de vista estrutural e cinético.
3. Estabelecer a relação existente entre as isoenzimas da LDH com os seus tecidos de origem.
4. Estabelecer a relação existente entre as isoenzimas da CK com seus tecidos de origem.
5. Por que a análise das isoenzimas da CK foi necessária para um diagnóstico mais preciso? Por que apenas a análise das isoenzimas da LDH não foi suficiente?
6. Explique que cuidados devem ser tomados ao se colher amostras de sangue para as dosagens enzimáticas.
7. Com base nos sintomas e nas dosagens enzimáticas faça o diagnóstico do que ocorreu no paciente.

## II. Caso Clínico

### ➤ Enzimas no Diagnóstico Clínico:

Um homem de meia-idade, obeso, foi levado a sala de emergência após um acidente automobilístico. O paciente afirmou que estivera com falta de ar e um pouco tonto, logo antes da batida. O exame físico sugeria ou um acidente vascular cerebral (ACV) ou um infarto do miocárdio. O paciente foi internado para observação e amostras de sangue para a dosagem da creatina quinase e outras enzimas foram colhidas periodicamente.

### ✓ Questões:

1. Qual seria o propósito de dosar a creatina quinase várias vezes durante a internação?
2. Como as isoenzimas da creatina quinase poderiam ser separadas?
3. Qual é a relação da concentração da creatina quinase no sangue e a extensão da lesão tecidual?

# Bibliografia

- ✓ [http://images.google.com.br/imgres?imgurl=http://www.pro2services.com/Lectures/Fall/CardEnz/isos.gif&imgrefurl=http://www.pro2services.com/Lectures/Fall/CardEnz/cardenz.htm&usg=\\_\\_APW7UL017ieaVBA05WBS9BJkTj8=&h=350&w=311&sz=14&hl=pt-BR&start=10&um=1&tbnid=xcxmgS4chW4JPM:&tbnh=120&tbnw=107&prev=/images%3Fq%3DLDH%2Belectrophoresis%26hl%3Dpt-BR%26client%3Dfirefox-a%26rls%3Dorg.mozilla:pt-BR:official%26sa%3DG%26um%3D1](http://images.google.com.br/imgres?imgurl=http://www.pro2services.com/Lectures/Fall/CardEnz/isos.gif&imgrefurl=http://www.pro2services.com/Lectures/Fall/CardEnz/cardenz.htm&usg=__APW7UL017ieaVBA05WBS9BJkTj8=&h=350&w=311&sz=14&hl=pt-BR&start=10&um=1&tbnid=xcxmgS4chW4JPM:&tbnh=120&tbnw=107&prev=/images%3Fq%3DLDH%2Belectrophoresis%26hl%3Dpt-BR%26client%3Dfirefox-a%26rls%3Dorg.mozilla:pt-BR:official%26sa%3DG%26um%3D1)
- ✓ GOTO, I. Serum creatine phosphokinase isoenzymes in hypothyroidism, convulsions, myocardial ischaemia and necrosis. Clin. Chem. Acta, 52:27-30, 1974.
- ✓ HENRY, John Bernard. Diagnósticos clínicos & tratamento por métodos laboratoriais. São Paulo :Manole, 1995. 1678 p.
- ✓ MERCATELLI, Cláudio, PICCIARELLI, Fábio José, LAUDARI, Humberto, AMOEDO, Telma Veiga. Laboratório clínico: Tecnologia objetivando diretrizes para o futuro diagnóstico. LAES, 105:50-64, 1997.
- ✓ VUORI, J. SYRJALA, H., VAANANEN, H. K. Myoglobin/carbonyl anhydrase III ratio: highly specific and sensitive early indicator for myocardial damage in acute myocardial infarction. Clin. Chem., 42:107-9, 1996.
- ✓ Berg, Jeremy & Tymoczko, John & Stryer, Lubert. Bioquímica - 5ª edição
- ✓ Guyton & Hall. Tratado de fisiologia médica – 10ª edição – Editora Guanabara Koogan
- ✓ ANDREOLI, T. E., CARPENTER, C. C. J., BENNETT, J. C., PLUM, F. Cecil: medicina interna básica. 4 ed. Rio de Janeiro : Guanabara - Koogan, 1997. 965 p.
- ✓ <http://www.icb.ufmg.br/prodabi/prodabi4/grupos/grupo1/molecular.htm>
- ✓ [http://www.cardiochirurgiasancamillo.it/sul\\_cuore/malattie\\_infarto.htm](http://www.cardiochirurgiasancamillo.it/sul_cuore/malattie_infarto.htm)
- ✓ <http://members.tripod.com/medworks/Bioquimica/iam.html>
- ✓ <http://pitux.blog.simplesnet.pt/archive/coracao.jpg>
- ✓ <http://www.ecenter.com.br/img/coracao.jpg>
- ✓ [http://www.msd-brazil.com/images/external/ats/originalarticle/original\\_article\\_1679\\_home.gif](http://www.msd-brazil.com/images/external/ats/originalarticle/original_article_1679_home.gif)
- ✓ <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/images/ency/fullsize/18030.jpg>
- ✓ [http://goldanalisa.com.br/publicacoes/Enzimas\\_no\\_Laboratorio\\_Clinico.pdf#search=%22enzimas%20no%20diagnostico%20clinico%22](http://goldanalisa.com.br/publicacoes/Enzimas_no_Laboratorio_Clinico.pdf#search=%22enzimas%20no%20diagnostico%20clinico%22)
- ✓ <http://www.iacs.com.br/txt/inf122.htm>
- ✓ <http://www.sabiduria.com/salud/images/infarto-miocardio.gif>
- ✓ <http://esquina.cardiol.br/UDT/cient/006.htm>
- ✓ Prusiner SB, Molecular biology of prion disease. Science 1991; 252:1515-1522
- ✓ Prusiner SB, Prions.
- ✓ Inactivation of Prions by Acidic Sodium Dodecyl Sulfate
- ✓ Mercer, D.W., M.A. Varat (1987). Creatine kinase isoenzymes and the diagnosis of myocardial infarction. In Clinical Studies in Medical Biochemistry (ed. R.H.Glew, S.P.Peters, 1987) só encontrado na Biblioteca do Departamento.
- ✓ Nelson DL, Cox MW (2004) Lehninger's Principles of Biochemistry. Pag. 664 e 899
- ✓ Collins, D.R. et al. (1993). Early diagnosis of acute myocardial infarction with use of a rapid immunochemical assay of creatine kinase MB isoenzyme. Clinical Chemistry. 39(8):1725-1728.
- ✓ Wu, A.H.B. (1999). Biochemical markers of cardiac damage: from traditional enzymes to cardiac-specific proteins. Scand.J.Clin.Lab.Invest. 59 ( Suppl. 230): 74-82.