

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

CAMPUS SOROCABA

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – LICENCIATURA

GABRIEL FELDER PELENTIR

**LIMITES DO MODELO DE LIGAÇÃO ENZIMA-SUBSTRATO
“CHAVE-FECHADURA” PARA O ENSINO DE CIÊNCIAS**

Sorocaba - SP

2021

GABRIEL FELDER PELENTIR

LIMITES DO MODELO DE LIGAÇÃO ENZIMA-SUBSTRATO “CHAVE-FECHADURA” PARA O ENSINO DE CIÊNCIAS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Ciências Biológicas Licenciatura, para obtenção do título de Licenciado em Biologia.

Orientação: Prof. Dr. Antonio Fernando Gouvêa da Silva

Sorocaba - SP

2021

GABRIEL FELDER PELENTIR

LIMITES DO MODELO DE LIGAÇÃO ENZIMA-SUBSTRATO “CHAVE-FECHADURA” PARA O ENSINO DE CIÊNCIAS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas para obtenção do título de Licenciado em Ciências Biológicas apresentado à Universidade Federal de São Carlos- *campus* Sorocaba, 28 de junho de 2021.

Aprovado em ____ / ____ / ____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Antonio Fernando Gouvêa da Silva. Universidade Federal de São Carlos – UFSCar.

Prof. Dr. Fernando Faria Franco. Universidade Federal de São Carlos – UFSCar.

Me. Gabriel Ribeiro Demartini. Universidade Federal de São Carlos – UFSCar.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais (Daniela e Norberto) por todo apoio e incentivo que me proporcionaram ao longo de minha vida. Aos meus irmãos (Miguel e Rafaela) pelo companheirismo.

À minha namorada Gabrielle pelo apoio e incentivo ao longo de toda a graduação

Ao meu orientador Prof. Vadim Viviani pela oportunidade de trabalhar em seu laboratório, pelo incentivo científico e intelectual, pela confiança e companheirismo.

Ao orientador deste trabalho Prof. Antônio Gouvêa que sem dúvida contribuiu imensamente para minha formação docente, filosófica e científica.

À minha co-orientadora Vanessa Bevilaqua por compartilhar técnicas e aprendizados no laboratório, contribuindo com minha formação científica e intelectual.

A todos os colegas amigos do laboratório que tive a oportunidade de conversar, contribuindo com minha formação científica.

Aos amigos Daniel e Raone pelas risadas e aprendizados nas noites de coletas de vagalumes.

À todos os amigos e colegas que contribuíram direta ou indiretamente em minha formação pessoal.

À fundação de amparo a pesquisa do estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro e intelectual ao longo de minha iniciação científica.

RESUMO

PELENTIR, Gabriel Felder, Limites do modelo de ligação enzima-substrato “chave-fechadura” para o ensino de ciências, 2021. Trabalho de Conclusão de Curso Graduação/Licenciatura em Ciências Biológicas - Universidade Federal de São Carlos, Sorocaba, 2020.

Um problema na sociedade contemporânea e evidenciada pela atual crise sanitária mundial, o crescimento do analfabetismo científico, e os problemas sociais e políticos dele decorrentes, mostram nada mais do que a falha do ensino, de modo geral, em prover uma educação científica crítica. Neste trabalho, assumiu-se a premissa de que o ensino com uma abordagem histórica pode ser uma solução viável para este problema. Para isso, analisou-se a construção histórica dos modelos de ligação enzima-substrato à luz da epistemologia de Ludwik Fleck, bem como a forma que este assunto é tratado em dois livros didáticos presentes na PNLD. O método de coleta e análise. Concluiu-se que os livros didáticos, além de tratar o assunto de modo integralmente ahistórico e fragmentado, falha ao não abordar conceitos indispensáveis para a compreensão consistente dos modelos de ligação enzima-substrato, bem como das enzimas de modo geral. Neste quesito, uma abordagem histórica sob a luz de Ludwik Fleck pode sanar os problemas referentes aos conteúdos e contribuir com a formação de cidadão mais cientificamente mais críticos.

Palavras-chave: História e filosofia da ciência, Enzimas, Ludwik Fleck.

ABSTRACT

A very common problem in contemporary society and evidenced by the current global health crisis, the growth of scientific illiteracy and the social and political problems arising from it .It shows nothing more than the failure of teaching, in general, to provide critical scientific education. In this work, it was assumed that teaching with a historical approach can be a viable solution to this problem. Therefore, the historical construction of enzyme-substrate binding models was analyzed in the Ludwik Fleck's epistemology perspective, also the way this subject is treated in two textbooks present in the PNLD. The method of collection and analysis used in this work was qualitative research through document analysis. It was concluded that textbooks, in addition to treating the subject in a completely ahistorical and fragmented way, fail to address concepts that are essential for a consistent understanding of enzyme-substrate binding models and enzymes in general. In this regard, a historical approach in the light of Ludwik Fleck can solve the problems related to content and contribute to the formation of more scientifically more critical citizens.

Keywords: Science history and philosophy; Enzymes; Ludwik Fleck

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	5
2. CAPÍTULO 1: HISTÓRIA DAS ENZIMAS	8
3. CAPÍTULO 2: LUDWIK FLECK	15
3.1. BIOGRAFIA DE LUDWIK FLECK	15
3.2. EPISTEMOLOGIA DE LUDWIK FLECK	16
3.3. UM OLHAR FLECKIANO PARA A CONSTRUÇÃO HISTÓRICA DO MODELO DE LIGAÇÃO ENZIMA-SUBSTRATO	18
4. METODOLOGIA.....	27
5. CAPÍTULO 3: ANÁLISE DOS LIVROS DIDÁTICOS.....	29
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	35
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36

1. INTRODUÇÃO

Meu interesse pela bioquímica iniciou-se ainda muito cedo, principalmente por incentivo de meu pai, que por dar aulas de química, tinha acesso a materiais didáticos e livros de experiências para crianças. Assim como muitas crianças eu queria ser cientista, inspirado pelos “cientistas malucos” da televisão como “O mundo de Beakman”, e já que tanto a química quanto a biologia me despertavam o interesse, eu decidi que queria me especializar em bioquímica, mesmo sem entender muito bem do que a disciplina se tratava.

Conforme fui adquirindo a educação formal de ciências, fui cada vez mais perdendo o interesse pelo assunto, devido à forma com que é tratada, que não é nada mais do que a memorização de nomes de cientistas, de organelas, de processos, entre outros. Além disso, o principal motivo foi a forma com que o cientista e o fazer ciência é tratado nas aulas e nos livros didáticos, neles os cientistas, a meu ver, eram tratados como gênios, de uma inteligência rara e sobrenatural, que faziam descobertas espontâneas e assustadoramente inovadoras, e tais requisitos pareciam inatingíveis.

Esse pensamento foi desaparecendo durante a faculdade, mas foi principalmente durante meu trabalho de iniciação científica, em que precisei me adequar ao trabalho do laboratório e fiz a leitura de artigos que datavam de 1950 até os mais recentes. Neles vi que as “descobertas” não acontecem espontaneamente, mas sim são longos anos de tentativas, onde cada artigo complementava o anterior, novas teorias eram propostas, novas técnicas eram utilizadas, e centenas de mentes de diferentes áreas se empenhavam para chegar ao conhecimento que estamos hoje.

Por muitas vezes o ensino de bioquímica, ou das ciências da natureza como um todo, carece de uma abordagem histórica, deste modo, faz-se parecer que o processo de fazer ciência é inerte da realidade dos cientistas e da sociedade, passando uma ideia de neutralidade, ou seja, como se não houvesse uma intenção ou que não fosse afetada pela subjetividade humana (DELIZOICOV, 2011).

Segundo Martinelli (2017) a história da ciência (HC) é utilizada com propósitos variados no ensino básico. A HC muitas vezes é utilizada como uma tentativa de despertar a curiosidade ou o interesse do aluno sobre o tema, sendo abordado normalmente como introdução a um assunto ou como material complementar na forma de histórias anedóticas (MARTINELLI, 2017).

A HC também é utilizada como uma ferramenta didática para facilitação da compreensão, onde é apresentada a construção histórica dos conteúdos apresentados como corretos. O autor afirma também que se pode tratar a HC como o próprio conteúdo da aula, todavia, essa abordagem é pouco utilizada, pois demanda muito tempo de aula (MARTINELLI, 2017), sendo então menos viável considerando o currículo das escolas.

Para Carneiro (2005) a abordagem histórica é extremamente válida no ensino de ciências para superar alguns obstáculos na construção do conhecimento científico:

Podem humanizar as ciências e aproximá-las dos interesses pessoais, éticos, culturais e políticos da comunidade; podem tornar as aulas de ciências mais desafiadoras e reflexivas, permitindo, desse modo, o desenvolvimento do pensamento crítico; podem contribuir para um entendimento mais integral de matéria científica, isto é, podem contribuir para a superação do “mar de falta de significação” que se diz ter inundado as salas de aula de ciências, onde fórmulas e equações são recitadas sem que muitos cheguem, a saber, o que significam; podem melhorar a formação de professores auxiliando o desenvolvimento de uma epistemologia da ciência mais rica e mais autêntica, ou seja, de uma maior compreensão da estrutura das ciências bem como do espaço que ocupam no sistema intelectual das coisas (MATTHEWS *apud* CARNEIRO, 2005)

Todavia, a forma com que é abordada pode trazer uma série de complicações para o ensino-aprendizagem. A HC pode passar a ideia de que a ciência é construída somente por epifanias de cientistas geniais isolados, caso não aborde amplamente o contexto histórico, social e científico em que se passa (CARNEIRO, 2005). Pode passar uma ideia de que a construção científica é linear ao apontar somente os eventos que corroboraram diretamente para a construção do conhecimento tratado (CARNEIRO, 2005). Pode passar uma ideia de na construção do conhecimento há uma “batalha” entre visões corretas e erradas sobre o objeto de

estudo, caso traga somente as teorias que se consolidaram como os conhecimentos atuais (CARNEIRO, 2005).

O ensino de bioquímica não é exceção e muitas vezes se apresenta de modo ahistórico, ou então quando abordado de forma histórica apresenta os problemas apontados por Carneiro (2005). Com base nisso, faremos análise de livros didáticos a fim de entender a forma com que o recorte “Enzima-substrato” é tratado pelos mesmos.

Para isso realizamos uma revisão bibliográfica sobre a construção histórica do modelo “Enzima-Substrato” e a interpretamos com base na teoria epistemológica de Ludwik Fleck, a qual pode suprir os problemas associados a abordagem histórica e contribuir para o entendimento da bioquímica e das ciências de modo geral.

Com isso, o problema abordado neste trabalho é de que o ensino de bioquímica, bem como o livro didático, falha ao apresentar os conteúdos de modo ahistórico, descontextualizado e fragmentado, o que torna o conteúdo pouco significativo e traz uma visão equivocada dos fenômenos biológicos e da construção do conhecimento científico como um todo.

Objetivo geral deste trabalho é analisar o conceito de ligação enzima-substrato nos livros didáticos e apontar uma forma de discutir o assunto com base na teoria epistemológica de Ludwik Fleck.

Objetivos específicos estabelecidos foram: Analisar os livros didáticos de forma crítica visando apontar os conceitos ali empregados e as implicações destes para a construção do conhecimento em bioquímica e da vida pessoal dos alunos; revisar a construção histórica do modelo de ligação enzima-substrato sob a ótica de Ludwik Fleck. Inferir a implicação de tratar, ou não, conceitos modernos de ligação enzima-substrato nos livros didáticos.

Para atender aos objetivos deste trabalho utilizaremos pesquisa qualitativa por análise documental, realizando um levantamento bibliográfico sobre a construção histórica do modelo de ligação enzima-substrato e então a analisaremos com base na teoria de Ludwik Fleck, e também faremos a análise de dois livros didáticos presentes no Plano Nacional do Livro didáticos e será proposto como uma

perspectiva fleckiana pode contribuir o ensino de bioquímica e das ciências da natureza de modo geral.

No primeiro capítulo realizou-se uma revisão bibliográfica sobre a construção histórica do modelo enzima-substrato. No segundo capítulo foram tratados os conceitos fundamentais da teoria epistemológica de Ludwik Fleck e com isso aplicá-los à história da construção do modelo enzima substrato trabalhado no capítulo 1. No terceiro capítulo foram analisados dois livros didáticos visando compreender como a ligação enzima-substrato é tratada pelos mesmos e propor uma forma de abordar o tema com base na epistemologia de Ludwik Fleck.

2. CAPÍTULO 1: HISTÓRIA DAS ENZIMAS

Os trabalhos mais relevantes para o estudo das enzimas no século XIX foram os relacionados à fermentação, e tais estudos originaram o primeiro modelo de ligação “enzima-substrato”

Nesta época, havia diversas observações sobre fenômenos biológicos em que a fermentação ocorria ou que tinha características muito parecidas com a mesma, por exemplo, inicialmente mostrou-se que no processo digestivo de carboidratos eram formados produtos similares da fermentação por leveduras (FRUTON, 2002).

Havia duas principais teorias sobre a fermentação, que dividiam os cientistas em dois grandes grupos, os vitalistas, que afirmavam que leveduras eram seres vivos e que para o processo era indispensável a vida, neste grupo Louis Pasteur (1822 - 1895) teve grande destaque, e os mecanicistas, que afirmavam que os processos fermentativos não eram nada mais que transformações químicas, neste grupo se destaca Justus Von Liebig (1803-1873) (FRUTON, 2002).

A hipótese de que ocorria por células vivas era suportada pelo advento da microscopia, ou seja, pela aferição de leveduras e bactérias nestes processos, e por experimentos em que se aquecia uma amostra, esterilizando-a e mantinham-na em anaerobiose, dessa forma não ocorria a fermentação. Com isso, mostrava-se que

era preciso vida para o acontecimento do fenômeno e também que o oxigênio não era essencial, porém, essa teoria trazia de volta a discussão sobre o vitalismo e até mesmo sobre a geração espontânea (HEIN, 1961).

A outra hipótese dizia que a fermentação não passava de uma reação química em que moléculas ainda não conhecidas transferiam energia para o açúcar através de vibração. Esta teoria não dependia de que as leveduras fossem seres vivos (HEIN, 1961).

Pasteur trouxe de volta o vitalismo afirmando que a fermentação ocorria por catalisadores indissociáveis das células vivas de leveduras. E posteriormente, Moritz Traube (1826 - 1894) afirmou que esses catalisadores eram localizados em locais específicos das células, realizando funções específicas, este, porém, afirmava que o processo não dependia da célula estar viva (CORNISH-BOWDEN, 2011).

A teoria de Traube foi confirmada posteriormente pelos irmãos Buchner, quando estes, a fim de desenvolver um tratamento imunológico, adicionaram açúcar a uma solução de leveduras lisadas e observaram formação de bolhas na solução, ou seja, a fermentação. Além disso, Traube afirmou que os agentes fermentadores eram parecidos com proteínas (CORNISH-BOWDEN, 2011).

Até esse momento, ainda não se conhecia a natureza química das enzimas. Hoje se sabe que grande parte das enzimas são um grupo de proteínas com funções catalíticas, todavia, o estudo das proteínas e das enzimas ocorreu de forma independente (HECKMANN, 2020).

Em 1890, Cornelius O'Sullivan e Frederick Tompson, tentaram quantificar a velocidade da catálise de invertases, todavia, seus experimentos não levaram em conta diferentes concentrações de substrato, dessa forma chegaram a conclusão que a velocidade da reação era independente da concentração de enzima utilizada (CORNISH-BOWDEN, 2013).

Em 1892, Adrian Brown mostrou que poderia haver uma ligação entre a enzima e substrato, formando um complexo. Todavia, Brown usou leveduras vivas em seus experimentos, ao invés de extratos ou mesmo enzimas purificadas, o que não havia muito conhecimento na época. Com isso, concordou com a afirmação de

Sullivam e Tompson de que a velocidade da reação não se alterava pela variação da concentração substrato (CORNISH-BOWDEN, 2013).

Emil Fischer, em 1894, chegou a propor o modelo de ligação enzima-substrato “chave-fechadura”. Fischer propôs que, nas enzimas, há uma região com um arranjo espacial complementar ao substrato, onde o mesmo se liga e forma um complexo entre ambos, o complexo enzima-substrato (RINGE, 2008).

Mais tarde, em 1902, Victor Henri e Adrian Brown, publicaram que a velocidade da reação era sim dependente da concentração de substrato e trouxeram evidências experimentais da formação de um complexo enzima-substrato (CORNISH-BOWDEN, 2013).

Um ano mais tarde, 1903, Henri propôs seu modelo matemático, inspirado pelos trabalhos sobre as reações químicas em cadeia de Max Bodenstein, que descrevia a relação da velocidade com a concentração do substrato e do produto formado e as constantes de dissociação da enzima com o produto e o substrato. Dessa forma, podia-se quantificar matematicamente a catálise enzimática de uma reação (CORNISH-BOWDEN, 2013).

Todavia, seu trabalho e o de Brown receberam diversas críticas na época devido a erros metodológicos e foram esquecidos por cerca de 10 anos até terem servido de base para os trabalhos de Leonor Michaelis e Maud Menten.

Michaelis e Menten retomaram os trabalhos com invertase de Henri e Brown, desta vez corrigindo os erros cometidos pelos mesmos, apresentando uma nova equação derivada da equação de Henri, conhecida hoje por “equação de Michaelis-Menten”, sendo o nome de seu predecessor, muitas vezes omitido pela história (NELSON, 2014).

Hoje em dia a equação de Michaelis-Menten é uma ferramenta largamente utilizada para caracterização enzimática. Nela há a relação da entre a velocidade inicial da reação (V_o), a velocidade máxima da reação (V_{max}), ou seja, a velocidade da reação quando todas as enzimas estão formando o complexo E-S e não há livres, a concentração de substrato ($[S]$) e a constante de Michaelis-Menten (K_M), esta constante é ligada a afinidade da enzima pelo seu substrato, dessa forma varia de

enzima para enzima. O K_M corresponde à concentração de substrato equivalente a metade do valor da velocidade máxima (NELSON, 2014).

Em 1921, o polímata Michael Polanyi mostrou através de estudos termodinâmicos que um catalisador, ao se ligar com substrato em seu estado de transição aceleraria mais a reação do que caso se ligasse ao mesmo no seu estado fundamental. Mais tarde, John Haldane em sua publicação "*Enzymes*" de 1930, propôs que interações fracas poderiam ser responsáveis pela catálise (NELSON, 2014).

Posteriormente, Linus Pauling, em 1946, aprimorou os trabalhos de Polanyi e Haldane, e baseado nos mecanismos quânticos, propôs que o sítio ativo das enzimas era complementar ao estado de transição. Deste modo o substrato seria atraído ao sítio ativo por interações fracas e deveria assumir um estado tenso, diminuindo a energia de ativação e por isso a reação ocorreria em uma taxa maior do que sem a enzima. Sendo essa a visão moderna sobre a catálise enzimática (NELSON, 2014).

Mais tarde, Daniel Edward Koshland Jr., em 1958, em um artigo teórico, postulou que as enzimas deveriam sofrer algum tipo de modificação para se ligar ao seu substrato (KOSHLAND, 1958). Em 1960, em seu estudo sobre a hidrolase beta-amilase, mostrou que análogos do substrato dessa enzima tem efeito inibitório sobre sua atividade catalítica. Isso significava que havia algo de errado no modelo "chave-fechadura" de Fischer, uma vez que a especificidade do sítio ativo não permitiria ligação de um análogo (THOMA, 1960).

Em seu artigo, Koshland demonstrou que deveria haver uma mudança conformacional na enzima durante a ligação do substrato. Essa mudança deveria aproximar as cadeias laterais dos aminoácidos para uma posição ótima para sua catálise, todavia, quando se liga ao análogo do substrato, este induz mudanças diferentes e que não permitiriam sua catálise. Dessa forma Koshland pode afirmar que as enzimas se ligam a seu substrato através de um ajuste conformacional, a teoria do "ajuste induzido" (THOMA, 1960).

Mais tarde, percebeu-se que havia enzimas que não obedeciam à equação de Michaelis-Menten, essas enzimas possuíam mais de uma subunidade (estrutura

quaternária) e estas eram iguais entre si. Logo, em 1965, Jacques Monod, Jeffries Wyman e Jean-Pierre Changeux, estes, na tese de doutorado de Changeux, propuseram um modelo em que as enzimas podem existir em dois estados, o estado tenso (T) e o relaxado (R), em que há moléculas que as modulam entre esses dois estados, todavia, neste modelo, não pode haver uma enzima híbrida, com subunidades em estado T e em estado R. Este modelo foi nomeado de modelo de transição concertada ou modelo MWC (as iniciais dos pesquisadores) (FREIRE, 2019)

No ano seguinte, Koshland, Némethy e Filmer em 1966, propuseram um novo modelo muito parecido com o modelo MWC, todavia este permitia que houvessem estados híbridos entre as subunidades, dentre outras diferenças. Este modelo foi nomeado de modelo sequencial ou de modelo KNF (Koshland, 1966). Ambos os modelos podem ser utilizados para explicar alguns casos, todavia, o modelo KNF pode explicar alguns casos a mais, como o efeito Bohr que modula a afinidade da hemoglobina pelo oxigênio em diferentes condições de pH (FREIRE, 2019)

Em 1926 James Summer afirmou que todas as enzimas eram proteínas ao conseguir obter cristas de urease isoladas de *Cannvalia ensiformis* e provar que estes consistiam inteiramente de proteínas. Todavia, não obteve aceitação imediata. Sua ideia ganhou cada vez mais aceitação quando mais enzimas foram cristalizadas por John Northrop e Moses Kunitz trabalhando com enzimas digestivas em 1930 (SIMONI, 2002).

Em 1952 Frederick Sanger sequenciou completamente a sequência de aminoácidos das duas cadeias peptídicas da insulina (cadeia A em 1951 e cadeia B em 1952). O método inicial de Sanger consistia em hidrolisar a proteína com ácido ou com enzimas digestivas, como a tripsina, adicionar um marcador, o 1-fluoro-2,4-dinitrobenzeno, então realizar eletroforese com as amostras e outra cromatografia perpendicular, gerando então o que Sanger chamou de “impressões digitais” da proteína. Com a sobreposição destes dos fragmentos da proteína pôde-se inferir sua sequência completa. Este método foi posteriormente aprimorado para sequenciar ácidos nucleicos (WALSH, 1981).

Mais tarde, Pehr Edman desenvolveu também um método de sequenciamento de peptídeos, esse consiste em retirar o último resíduo do N-terminal sem afetar os demais resíduos. Esse método utiliza fenilisotiocianato que reage com a extremidade amina, formando um composto cíclico que se cliva em condições levemente ácidas, esse composto é tratado e pode ser identificado. Dessa forma esse método pode determinar a sequência da proteína, todavia não pode ser utilizada para peptídeos com mais de 50 aminoácidos (WALSH, 1981).

No século XX, houve um avanço muito grande em relação à física nuclear, o que permitiu um simultâneo avanço técnico no que se diz respeito ao uso dos raios-X para determinar a estrutura de moléculas, elucidando assim, diversos processos químicos e biológicos.

Em meados de 1950, a técnica de difração de raios-X era amplamente utilizada, sendo quase obrigatória para certos estudos de química orgânica. Com o avanço das técnicas de purificação e cristalização de proteínas, Cowdery Kendrew conseguiu elucidar pela primeira vez a estrutura 3D de uma proteína globular, a miosina, sendo laureado com o prêmio Nobel por esse feito (ALMEIDA, 2014).

Paul Berg e seus colaboradores foram os primeiros a conseguir implantar um trecho do DNA de um organismo em outro. Berg conseguiu implantar um trecho de DNA do fago λ , junto a um trecho de *E. coli* no material genético do vírus SV40 (BERG, 2008). Desse modo, os estudos de Berg possibilitaram que proteínas de interesse fossem expressas em outros sistemas biológicos, dessa forma aumentando a taxa de obtenção da mesma se comparado aos extratos obtidos de amostras naturais.

Outra ferramenta muito útil para o estudo das enzimas e suas aplicações é a possibilidade de alterar a sequência do gene de uma proteína (mutagênese), criando proteínas mutantes que podem exibir diferentes características (CARTER, 1986).

Com o crescente avanço das tecnologias da computação e a geração de computadores cada vez mais potentes, é possível inferir a estrutura tridimensional de proteínas com base na sequência de aminoácidos comparando-a com bases de dados, pode-se inferir sítios de ligação, supor inibidores e fazer modelagens de mudanças estruturais de possíveis mutantes, conseguindo até prever constantes

intrínsecas das enzimas. Todavia, sua precisão é muito limitada se comparada com a caracterização experimental (SANTOS FILHO, 2003; AWOONOR-WILLIAMS, 2017).

Uma nova técnica, o silenciamento gênico, tem sido considerada um marco na medicina, pela promessa de acabar com doenças genéticas. Resumidamente a técnica consiste em introduzir uma molécula de RNA que se ligará ao RNA mensageiro, impedindo sua tradução ou promovendo sua degradação (MENCK, 2010). Dessa forma pode ser usada para o estudo de enzimas, pois, ao silenciar um gene específico, pode-se analisar os efeitos fenotípicos de sua ausência em tempo real. Por exemplo, a enzima Laccase 2 é diretamente envolvida pigmentação da cutícula de insetos, e ao silenciar seu gene, os indivíduos passaram a apresentar ausência de alguns pigmentos, confirmado sua importância na via biossintética da melanina (ARAKANE, 2005).

Em suma, a pesquisa sobre enzimas e suas aplicações cresceu em uma taxa exponencial ao longo dos últimos 2 séculos. Hoje, é comum que novas enzimas sejam clonadas, caracterizadas e modificadas em uma velocidade cada vez maior, isso graças a cooperação entre cientistas de variadas áreas que voltaram seus olhares para um objeto em comum.

A figura a seguir sintetiza os principais acontecimentos até o surgimento da noção moderna de ligação enzima-substrato:

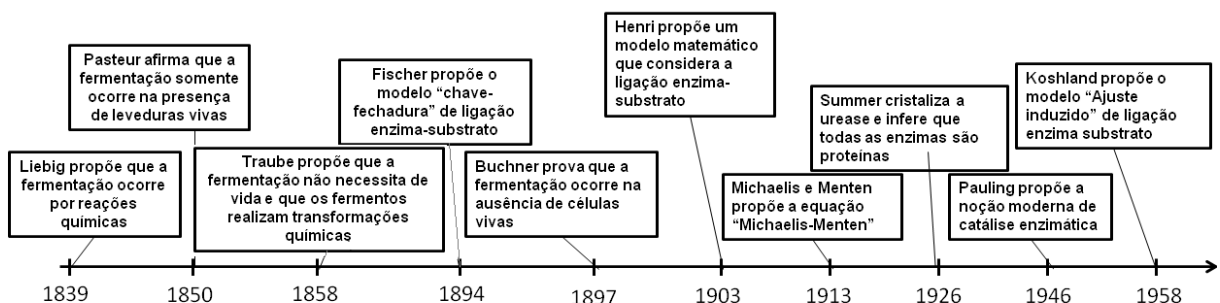


Figura 1: Linha do tempo dos principais acontecimentos até o surgimento do modelo "ajuste induzido" de ligação enzima-substrato. Fonte: Elaborado pelo autor, 2021

3. CAPITULO 2: LUDWIK FLECK

3.1. Biografia de Ludwik Fleck

Ludwik Fleck nasceu em 1896 em uma família judia na cidade de Lviv, território inicialmente pertencente à Polônia e hoje pertencente a Ucrânia. Fleck teve sua formação no campo da medicina, onde atuou como médico e pesquisador (DELIZOICOV, 2002).

Fleck estudou licenciatura em medicina na universidade de Lviv (até então chamada de universidade Jan Kazimierz) onde pode ser assistente de Rudolf Weigl cuja especialidade era o tifo. Após sua formatura, trabalhou por um breve período como clínico geral até voltar-se para o campo da pesquisa nas áreas de microbiologia e bioquímica (SADY, 2012).

Ao todo, Fleck publicou dezenas de artigos científicos na área da medicina, porém, seu maior reconhecimento se dá por seus trabalhos na área da epistemologia. Sua primeira publicação neste campo foi em 1927, uma conferência sobre as características do pensamento na medicina. Dois anos mais tarde, Fleck publica seu segundo trabalho na área e já nestas obras, começa a introduzir conceitos fundamentais de seu pensamento (SADY, 2012)

Para Löwy (1990) apud Delizoicov (2002), Fleck foi profundamente influenciado pela Escola Polonesa de Filosofia da Medicina, cujos interesses se voltavam a um olhar mais epistemológico, filosófico, histórico e social da medicina. Por mais que ele não os citasse em suas obras, Fleck sistematizou conhecimentos anteriormente produzidos por autores poloneses como, Chalubinski, Kramsztyk e Biernacki.

Mais tarde, em 1935, Fleck publica seu mais importante livro, “A gênese e o desenvolvimento de um fato científico”, onde aborda o surgimento da reação de Wassermann, utilizada para o diagnóstico da sífilis, com base em sua epistemologia e com isso explicitando os principais conceitos de sua teoria (DELIZOICOV, 2002).

Este livro foi considerado original e muito a frente de seu tempo, todavia, não teve o devido reconhecimento em sua época, uma vez que havia um crescente antissemitismo nazista e uma forte influência do círculo de Viena, o que pode tê-lo dificultado, já que era judeu e suas ideias contrariavam fortemente o neopositivismo desta tendência dominante (SADY, 2012).

Com a invasão dos nazistas na Polônia em 1941, Fleck é preso e enviado para campos de concentração, onde é obrigado a trabalhar em laboratórios e hospitais, realizando diagnósticos e desenvolvendo vacinas contra o tifo. Em 1945 Fleck é liberto e volta a trabalhar nas áreas de microbiologia e epistemologia, publicando diversos trabalhos e ganhando bastante reconhecimento acadêmico na Polônia (SADY, 2012).

Em 1957, Fleck se muda para Israel, já acometido por problemas de saúde, trabalha por alguns anos com pesquisa em Ness Ziona e escreve seu último manuscrito filosófico, o qual não teve aceitação pelas revistas científicas de filosofia. Em 1961 faleceu devido a um ataque cardíaco (SADY, 2012)

Até o ano de sua morte, os trabalhos de Fleck no campo da epistemologia foram subestimados e esquecidos pela comunidade acadêmica. Somente após Thomas Kuhn escrever seu famoso livro “A Estrutura das Revoluções Científicas” de 1961 e dedicar uma curta frase em seu prólogo relatando que os trabalhos de Fleck lhe deram uma série de ideias, que a comunidade científica passou a levar a sério sua teoria (DELIZOICOV, 2002).

Hoje Fleck é conhecido mundialmente por seus trabalhos e sua teoria é estudada por diversos grupos de pesquisa em diferentes países, onde há diferentes abordagens sobre a visão fleckiana e suas bases epistemológicas (DELIZOICOV, 2002).

3.2. Epistemologia de ludwik Fleck

Fleck foi o primeiro pensador a introduzir questões sociais, históricas e antropológicas a discussão da construção do conhecimento. Para ele esses fatores que condicionam o olhar dos cientistas sobre o objeto de estudo (DELIZOICOV, 2002).

A epistemologia de Fleck, também conhecida por “Sociogênese do conhecimento”, afirma que a construção do conhecimento é um processo indissociável da esfera social, econômica, política e cultural da qual um indivíduo está imerso (DELIZOICOV, 2002).

Para construção do conhecimento, além do sujeito e do objeto, há o “estado de conhecimento”, Delizoicov (2002) o define como “as relações históricas, sociais e culturais que marcam, segundo Fleck, o estilo de pensamento onde o coletivo de pensamento é permeado”. Esse fator é fundamental para Fleck, e sem ele não seria possível entender o surgimento de um sistema de ideias (LAMBACH, 2013).

O sujeito que observa um determinado objeto observa-o condicionado pelas bases de um estilo de pensamento que caracteriza o coletivo de pensamento ao qual o sujeito pertence. Essa visão condicionada é o “ver formativo”. (LAMBARCH, 2012). Desse modo, não há neutralidade na construção do conhecimento científico.

Um coletivo de pensamento é o conjunto de indivíduos de determinada área do conhecimento que trocam ideias entre si, estes possuem características singulares do próprio coletivo, seja sua forma de pensar, seu comportamento, suas concepções predeterminadas, suas técnicas entre outros, desenvolvidos historicamente, que compartilham de um estilo de pensamento (DELIZOICOV, 2002; MARTINS, 2020).

Estilo de pensamento é um conceito central na teoria de Fleck, este é intrinsecamente ligado ao coletivo de pensamento, e diz respeito aos pressupostos históricos e sociais característicos dos coletivos de pensamento. O estilo de pensamento é um fator condicionante e molda a visão dos indivíduos sobre os fatos científicos (DELIZOICOV, 2002).

Fleck dividiu os coletivos de pensamento em dois tipos de círculos, o esotérico e exotérico. O círculo esotérico é menor, composto por especialistas da área e o círculo exotérico é maior e formado pelos leigos. Ambos sofrem influências uns dos outros (FREITAS, 2018).

Vale ressaltar que o estilo de pensamento de um coletivo não é imutável, pois sofre alterações devido à circulação de indivíduos de diferentes coletivos e principalmente do contexto social e histórico pelo qual passa (FREITAS, 2018).

Há dois tipos de circulação de ideias que podem existir, a circulação intracoletiva e a circulação intercoletiva. A intracoletiva acontece pela circulação de ideias entre o círculo esotérico e exotérico. Já a intercoletiva é a circulação de ideias entre diferentes coletivos de pensamento (LAMBACH, 2012).

A circulação intracoletiva, tem por finalidade a divulgação do estilo de pensamento e a aquisição de novos membros para o coletivo de pensamento. Já a circulação intercoletiva acaba sendo responsável pelas modificações do estilo de pensamento ou a criação de um novo, uma vez que pode adquirir novos fatos e significados pela colaboração entre os coletivos (FREITAS, 2018).

Um estilo de pensamento já instaurado passa por duas fases até sua transformação, o classicismo e a fase de complicações. O classicismo é o período no qual o coletivo de pensamento só observa os fatos que condizem perfeitamente com o estilo de pensamento. A fase de complicações é quando se toma consciência dos fatos das anomalias e estas superam os fatos explicados, o que leva a instauração de um novo estilo de pensamento (LAMBACH, 2012).

3.3. Um olhar fleckiano para a construção histórica do modelo de ligação enzima-substrato

É possível analisar a mudança dos modelos de ligação enzima-substrato em uma perspectiva Fleckiana, para isso deve-se levar em consideração o momento histórico da época, o conhecimento científico construído até então, os sujeitos participantes, seus coletivos e os estilos de pensamento vigentes.

A construção do modelo de ligação enzima-substrato atual se passa entre o final do século XIX e até a metade do século XX. Neste período ocorreu a Segunda Revolução Industrial, a Segunda Guerra Mundial e deu o início a Terceira Revolução Industrial, as quais foram responsáveis por alavancar a pesquisa científica e inovação tecnológica, principalmente no ramo químico.

O processo da construção científica é indissociável de uma coerção política, social e principalmente econômica. O estudo das enzimas não é exceção, em seu primórdio foram estudados os processos fermentativos, os quais geravam muito lucro na indústria alimentícia e por isso havia uma grande demanda por entender suas bases para aprimorá-los (RAY, 2014).

Por mais que a construção do modelo de ligação enzima-substrato tenha sido contínuo e envolvido diversos sujeitos em seu decorrer, pode-se dividi-la em três momentos, de modo que facilite sua análise. No primeiro momento, não se conhecia a natureza das enzimas e por isso havia um choque entre dois estilos de pensamento, os que acreditavam em um processo puramente químico e os que acreditavam na força vital. No segundo com o entendimento da natureza proteica das enzimas e o primeiro modelo de ligação E-S. E o terceiro com o estudo da estrutura das enzimas e o modelo “ajuste induzido”.

Em um primeiro momento havia outro estilo de pensamento baseado principalmente na química, de que os processos biológicos não passavam de reações químicas. Um cientista que teve destaque nesse coletivo foi Justus Von Liebig.

Justus Von Liebig teve sua principal área de formação a química, inicialmente a química analítica e posteriormente a química orgânica, sendo que em ambas as áreas fizeram grandiosos avanços (HEITMANN, 1989).

Liebig tinha grande interesse pela agricultura, nessa área aplicou seus conhecimentos de química e mostrou que as plantas necessitam de moléculas inorgânicas para se desenvolverem (HEITMANN, 1989).

Do mesmo modo, Liebig estudou também a fisiologia, interessado principalmente pela nutrição animal, tentou da mesma forma aplicar seus conhecimentos químicos, cunhando algumas bases importantes da fisiologia química (HEITMANN, 1989).

Possivelmente, dado ao grande reconhecimento de seus trabalhos tentando desvendar as bases químicas da vida, Liebig tenha assumido que a vida era simplesmente baseada em eventos químicos envolvidos por moléculas orgânicas e

inorgânicas. Além disso, repudiava fortemente a afirmação de que as leveduras fossem vivas.

Por outro lado, havia um estilo de pensamento que tinha suas bases arraigadas na força vital, essa crença se sustentava principalmente pela observação de organismos vivos nas amostras que sofriam a fermentação. Neste coletivo, se destaca Louis Pasteur.

Pasteur pertencia ao coletivo dos químicos e dos físicos, tendo doutorado nas áreas. Sua tese foi sobre isomeria óptica do ácido tartárico extraído do processo fermentativo do vinho revelando que este possuía duas formas ópticas (GAL, 2007). Ele também tentou associar os cristais com a origem da matéria, sendo os assimétricos derivados de tecidos vivos e os simétricos da matéria inorgânica (SMITH, 2012).

Pertenceu também ao coletivo dos microbiologistas, sendo muito mais lembrado por seus trabalhos nessa área, considerado até mesmo o “pai da microbiologia”. Pasteur inicialmente estudou a fermentação, pois, um dos produtos deste processo era ácido amílico, um dos objetos de estudo de seu doutorado (GAL, 2007). Estudou também a hipótese da abiogênese e conseguiu refutá-la através de seus experimentos.

Um fato pessoal que pode ter influenciado Pasteur foi sua forte crença católica (GILLEN, 2008), o que possivelmente o influenciou a refutar a teoria da abiogênese, o que era considerado uma crença pagã. Todavia, a força vital não era necessariamente contra os dogmas cristãos.

Pasteur afirmava que os processos fermentativos requeriam organismos vivos, isso, pois havia acumulado diversas observações de microscopia em amostras de fermentação láctica, mostrando que havia minúsculas esferas que se moviam velozmente obedecendo ao movimento Browniano, o que se provou serem bactérias (SMITH, 2012).

Uma afirmação de Pasteur para suportar suas teorias é de que a fermentação é um processo complexo, com diversos produtos, não uma mera reação química

com um reagente e um produto, o que só um organismo vivo poderia realizar (SMITH, 2012).

Poucos anos depois de Pasteur, Moritz Traube afirmou que a fermentação não deveria depender da vida, mas sim de reações químicas específicas que ocorrem dentro da célula. Para ele os processos se resumiam em oxidações e reduções. Afirmando também que as moléculas catalíticas eram parecidas com proteínas (Cornish-Bowden, 2011). Todavia, suas ideias não foram muito aceitas no momento (SOURKES, 1955).

Traube é um bom exemplo de como a influência de diferentes estilos de pensamento, mesmo que “rivais” neste caso, podem gerar uma visão nova sobre o mesmo objeto.

Traube estudou no laboratório de Liebig em Giessen sob a supervisão de Hermann Hoffmann, cuja formação a botânica (SOURKES, 1955), dessa forma, inevitavelmente teve contato com o coletivo dos químicos e as teorias mecanicistas de Liebig, bem como o coletivo dos botânicos, que além de plantas estudavam os fungos nesta época.

Mais tarde Traube, muda-se para Berlin onde adquire seu doutorado em 1847 em química estudando compostos de cromo. Neste período teve contato com, além dos químicos, com mineralogistas e geólogos (SOURKES, 1955).

Também em Berlin, Traube estudou medicina, tendo contato com fisiologistas, anatomistas, patologistas e farmacologistas, porém, teve que abandoná-la para ajudar os negócios da família, o comércio de vinhos. Isso o fez com que tivesse que abandonar a comunicação científica, todavia, mesmo fora da academia desenvolveu alguns projetos no âmbito da medicina em seu próprio laboratório (SOURKES, 1955).

Quando os negócios da família de Traube prosperaram, ele pôde focar-se à pesquisa científica, todavia, continuou com a administração, de onde vinha sua renda (SOURKES, 1955).

Traube teve contato com diversos coletivos e isso pode ter moldado sua visão sobre a fermentação, em especial o dos fisiologistas, muito influenciados pelo

vitalismo e dos químicos mecanicistas, bem como o comércio de sua família pode ter sido um incentivo a estudar a fermentação. Além disso, o fato de suas ideias terem sido ignoradas mostra a coerção do estilo de pensamento a se manter na harmonia das ilusões.

Esse embate durou por cerca de meio século até que os experimentos de Buchner o encerrassem. Neste período, foram se acumulando evidências da natureza das enzimas, novos processos enzimáticos foram descritos, novas técnicas e instrumentações foram inventadas.

Todavia, pouco antes do debate sobre o vitalismo se encerrar, Emil Fischer em 1894, propôs seu famoso modelo de ligação enzima-substrato chamado de chave-fechadura.

Inicialmente Emil Fischer teve contato com o coletivo dos físicos, devido ao contato com seu primo Otto Fischer, o qual o incentivou a estudar física na universidade de Strassburg, todavia, achou melhor mudar para a área da química. Mesmo assim trabalhou em colaboração com Otto no estudo de corantes derivados de triphenylmethanol (NOBEL LECTURES, 1966)

Emil Fischer estudou na universidade de Bonn, onde pode ter contato com Rudolf Clausius e August Kekulé através de suas palestras. Fischer foi transferido para a universidade de Strassburg onde adquiriu seu doutorado aos 22 anos, sob orientação de Adolf Baeyer. Neste período Fischer estudou química orgânica, trabalhando com novos compostos derivados de hidrazina, dentre eles a fenil-hidrazina, que foi o reagente principal para seus posteriores estudos com açúcares (LICHTENTHALER, 1995).

Fischer participou principalmente do coletivo dos químicos orgânicos, sendo neste, seu maior reconhecimento científico. Neste campo, fez grandes avanços, dentre os quais resultou em um prêmio Nobel em 1902 pela síntese de açúcares e purinas (NOBEL LECTURES, 1966).

Fischer teve contato com o coletivo dos microbiologistas e os trabalhos com leveduras de Pasteur lhe interessaram muito, o que o fez comprar um microscópio logo que os descobriu. Esse interesse pode ser atribuído ao estímulo de seu pai, um

empresário muito rico e que investia grandes quantias na indústria da cerveja (LICHTENTHALER, 1995). Neste campo, Fischer não se dedicou muito, todavia, isso o estimulou a utilizar leveduras em seus experimentos.

Seus trabalhos com açúcares foram de grande importância para a elaboração do modelo “chave-fechadura”. Neste quesito, Fischer percebeu que nem todos os açúcares eram fermentados pelas leveduras, sendo naturais ou sintéticos e além disso, apenas os isômeros D sofriam fermentação. Bem como utilizou diferentes leveduras em seus experimentos (LICHTENTHALER, 1995).

Fischer também estudou extensivamente as proteínas, tentando obter uma forma de sintetizar cadeias de aminoácidos, sendo bem sucedido com a cooperação de Fournau, conseguindo sintetizar inicialmente dímeros e posteriormente cadeias maiores. Além disso, trabalhou na separação e identificação de aminoácidos, descrevendo a prolina (LICHTENTHALER, 1995).

Com base nos coletivos de pensamento dos quais pertencia, ou que fora influenciado, fica evidente suas contribuições destes para a construção de seu modelo de ligação enzimática.

Esse modelo vigorou por mais de meio século e nesse período apareceram estudos que corroboravam com o modelo de Fischer, bem como anomalias que futuramente culminariam na elaboração de um novo modelo que poderia englobar tanto as questões antigas quanto as anomalias que surgiram. Todavia, ainda é usado para explicar alguns processos, como a ligação antígeno-anticorpo (VERLI, 2005).

Pode-se dizer que depois da instauração desse estilo de pensamento os avanços que se seguiram no âmbito da estrutura e função de proteínas, as construções dos modelos matemáticos que necessitavam da ligação entre enzima e substrato, entre outros avanços. Neste período foi provado que a maioria das enzimas são proteínas, as técnicas de extração e purificação foram aprimoradas. As estruturas de alfa-hélice e as folhas-beta foram descritas. Houve a construção de técnicas de sequenciamento e a determinação de suas estruturas por difração de raio-X (CORNISH-BOWDEN, 2011).

O entendimento de que as interações fracas entre a enzima substrato poderia ser responsável pela catálise enzimática em 1930 por Haldane ainda poderia ser explicado pelo modelo “chave-fechadura”, mas influenciou os trabalhos futuros que encontrariam complicações deste modelo (NELSON, 2014).

O período de complicações inicia-se com a circulação intercoletivas de ideia com a química quântica, o que levou a teoria moderna sobre a catálise enzimática, nesta, o sítio ativo da enzima deveria ser complementar ao estado de transição do substrato, para que assim ocorra a catálise, pois, se fosse complementar ao substrato em seu estado fundamental, não ocorreria (NELSON, 2014).

Outra anomalia que surgiu foi a descrição de que as enzimas apresentavam uma certa flexibilidade estrutural (VERLI, 2005). O entendimento de que algumas enzimas poderiam atuar em mais de um substrato também complicou o modelo “chave-fechadura”. Bem como a observação do efeito de inibição de alguns fármacos (VERLI, 2005).

O modelo de Fischer podia explicar as observações de que análogos menores do substrato original da enzima eram catalisados em uma taxa menor, porém não podia explicar como análogos maiores também eram catalisados. Esse foi um argumento central para Daniel Koshland, em 1958, receber a aceitação de seu modelo de ligação enzimática, o “ajuste induzido” (RINGE, 2008).

Neste novo modelo foi postulado que as enzimas não são rígidas, mas sim que alteram sua conformação estrutural ao se ligar ao substrato, entrando em uma forma cataliticamente ativa, complementar ao estado de transição do substrato, retornando ao estado fundamental com a liberação do produto. Dessa forma, não é apenas a enzima que atua sobre o substrato, mas o substrato também atua sobre a enzima (RINGE, 2008).

Koshland iniciou seus estudos de química na universidade de Berkeley, onde adquiriu conhecimentos de química inorgânica com Wendell Latimer, conhecido pelos estudos de estados de oxidação. Participou também do projeto Manhattan sob a orientação de Glenn T. Seaborg, ganhador do Nobel de química de 1951 por seus estudos de elementos transurânicos (SCHEKMAN, 2007).

Na universidade de Chicago, onde fez seu doutorado na área de química orgânica e bioquímica. Neste período teve contato com Frank Westheimer, que o estimulou a estudar enzimas. Em seu pós-doutorado na universidade de Harvard, teve contato com Fritz Lipmann's, ganhador do Nobel de medicina e fisiologia do ano de 1953 pela descrição da coenzima A e sua importância no metabolismo (SCHEKMAN, 2007)

No ano de 1951 até 1966, Koshland trabalha como pesquisador independente em Brookhaven, onde estudou a especificidade de reações químicas, sendo este o trabalho responsável por levá-lo a propor seu modelo de ligação (SCHEKMAN, 2007).

Koshland (2004) afirma que foi intrigado a pensar em um novo modelo em seus estudos com hexoquinase, ao perceber que caso a enzima obedecesse ao modelo de Fischer seria catastrófico para os sistemas biológicos (Koshland, 2004).

Koshland (2004) relata que seus trabalhos iniciais foram rejeitados inicialmente por críticas a sua pessoa, recebendo justificativas do tipo: "A teoria de Emil Fischer tem sido a pedra angular por 100 anos e não será derrubada pelas ideias de um jovem bioquímico desconhecido de um jovem laboratório nacional". Todavia, algumas revistas aceitaram seus trabalhos e com isso ele foi ganhando reconhecimento (KOSHLAND, 2004).

As resistências às ideias de Koshland, bem como a tentativa de ridicularizá-lo, podem ser relacionadas à coerção do coletivo de manter o estilo de pensamento.

Por mais que o modelo de Fischer seja considerado ultrapassado se comparado ao modelo de Koshland, ele deve ser considerado como precursor das ideias modernas e não como um modelo derrotado:

A teoria do ajuste induzido não é mais uma refutação do modelo "Chave-Fechadura" de Fischer do que o átomo de Heisenberg era do átomo de Bohr ou as sequências de DNA modernas foram do "um gene uma enzima". Uma nova teoria deve explicar todos os fatos que lhe dizem respeito no momento de sua enunciação. Gradualmente a nova teoria é aceita e, em seguida, adquire anomalias devido aos novos fatos descobertos após sua enunciação. Isso por sua vez, gera uma nova teoria que elicia novas técnicas para testá-la e suas previsões. Essas novas técnicas, então, revelam fatos que eventualmente requerem novas teorias adicionais e assim por diante. As novas teorias são construídas em componentes dos antigos princípios. Diz-se que cada cientista está sobre os

ombros dos gigantes que foram antes dele. Não pode haver lugar mais honrado do que ficar nos ombros de Emil Fischer. (KOSHLAND, 1995).

Em síntese podemos elaborar um quadro da construção histórica dos modelos de ligação enzima-substrato com base nas categorias de Fleck (Quadro 1).

Quadro 1 – Relação entre os acontecimentos históricos e as categorias de Fleck

Ano	Acontecimento	Categoria de Fleck
1839	Liebig propõe que a fermentação ocorre por reações químicas.	Período de classicismo
1850	Pasteur afirma que a fermentação somente ocorre na presença de leveduras vivas.	Complicação para o estilo de pensamento dos mecanicistas.
1858	Traube propõe que a fermentação não necessita de vida e que os fermentos realizam transformações químicas.	Complicação para o estilo de pensamento
1894	Fischer propõe o modelo “chave-fechadura” de ligação enzima-substrato.	Transformação do estilo de pensamento
1897	Buchner mostra que a fermentação ocorre na ausência de células vivas.	Período de classicismo
1903	Henri propõe um modelo matemático que considera a ligação enzima-substrato.	Período de classicismo
1913	Michaelis e Menten propõe a equação “Michaelis-Menten”.	Período de classicismo
1926	Summer cristaliza a urease e infere que todas as enzimas são proteínas.	Período de classicismo
1946	Pauling propõe a noção moderna de catálise enzimática.	Complicação
1958	Koshland propõe o modelo “Ajuste induzido” de ligação enzima substrato.	Transformação do estilo de pensamento

Fonte: Elaborado pelo autor, 2021

4. METODOLOGIA

Para Goldenberg apud Sá-Silva (2003) “o que determina como trabalhar é o problema que se quer trabalhar: só se escolhe o caminho quando se sabe aonde se quer chegar”. Dessa forma, tendo em vista problema proposto, a pesquisa escolhida foi qualitativa por meio de análise documental.

De forma geral, o conceito de análise documental refere-se à coleta criteriosa de documentos relevantes para a pergunta que se pretende responder e interpretá-los a fim de gerar novos conhecimentos ou uma nova concepção sobre os mesmos dados.

Primeiramente, é necessário definir o que é um documento. Pode-se defini-lo como qualquer registro humano que carregue informações do passado. Ao contrário da pesquisa bibliográfica, não se restringe apenas a arquivos de texto, é um conceito amplo que abrange recursos fotográficos, cinematográficos, sonoros, entre outros (Sá-Silva, 2003).

Para Cellard (2008) um documento deve ser analisado do modo em que se apresenta, por isso elenca cinco critérios para se realizar a análise documental, para o autor, deve-se levar em consideração o contexto em que foi produzido, quem o produziu, a confiabilidade do material, sua natureza e sua lógica.

Entender o contexto histórico, social, econômico e político em que o autor do texto foi imerso é imprescindível para uma análise correta de sua obra.

“Pela análise do contexto, o pesquisador se coloca em excelentes condições até para compreender as particularidades da forma, da organização, e, sobretudo, para evitar interpretar o conteúdo do documento em função de valores modernos”
CELLARD, 2008

Todo documento é produzido com uma intenção, seja ela representante do desejo do autor ou da instituição que ele representa. Dessa forma, para entender completamente o documento deve-se saber por quem e para quem foi produzido, tentando desvendar suas intenções e razões, aumentando a credibilidade da análise (CELLARD, 2008).

Deve atentar-se a procedência dos documentos coletados, se são originais ou se foram transcritos ou traduzidos, pois, nesses processos pode haver modificações do sentido original baseado na intenção de seu intermediário (CELLARD, 2008).

A natureza do documento também deve ser levada em consideração, uma vez que o conteúdo pode ser um limitado conforme o tipo gênero que se enquadra. Por exemplo, não se deve esperar encontrar fatos pessoais sobre a vida de alguém em um relatório científico, deveria esperar de encontrar algo desse tipo em uma carta pessoal destinado a um amigo (CELLARD, 2008).

O último critério proposto por Cellard é de que se deve delimitar o significado dos conceitos utilizados no documento, uma vez que um termo pode ter sentidos diferentes em textos de áreas diferentes. Além disso, ao analisar um texto deve-se ater a lógica interna do mesmo, sua pergunta central e como sua resposta se desenvolve ao longo dele (SÁ-SILVA, 2003).

Baseado nesses critérios foram reunidos documentos referentes à construção da ciência por trás do conceito de enzimas, com um enfoque nos modelos de ligação enzima-substrato e os eventos que se sucederam. Após isso, foi conceituado as bases epistemológicas de Ludwik Fleck e baseado nessa perspectiva analisou-se a construção do primeiro modelo enzima-substrato e a sua posterior substituição. Além disso, foi analisado como os livros didáticos abordam o conceito de enzima e principalmente a ligação enzima-substrato, para com isso elaborar uma sugestão de como poderia ser abordado.

Os livros escolhidos foram *Biologia* (Vivian L. Mendonça) e *Fundamentos da biologia moderna* (José M. Amabis e Gilberto R. Martho) ambos do ano de 2016. A escolha por esses livros se deve a pertencerem ao plano nacional do livro didático dos anos de 2018 a 2020.

O livro *Biologia* de Vivian Mendonça é destinado ao ensino médio. Foi publicado pela editora AJS, na cidade de São Paulo – SP. É a terceira edição do livro.

A autora do livro formou-se em Ciências biológicas em licenciatura e bacharelado pela universidade de São Paulo em 2001. Obteve o título de mestre em

2008, cujo título de dissertação foi: O Folclore como ferramenta de motivação para o ensino de Zoologia. Atualmente atua na elaboração e edição de materiais didáticos.

O volume escolhido para a análise foi o vol. 3, onde o tema “enzimas” é tratado com um pouco mais detalhes. Este tópico situasse dentro do capítulo 3 – “Digestão e Nutrição”, especificamente na página 56 e 57. Neste tópico é abordado o que são as enzimas e os fatores que afetam sua atividade.

O livro *Biologia Moderna* de José Amabis e Gilberto Martho foi publicado pela editora Moderna na cidade de São Paulo - SP. É a primeira edição do livro.

José Amabis graduou-se em ciências biológicas em 1970, mestrado em 1972, doutorado em 1974 pela Universidade de São Paulo. Sua área de pesquisa é a genética, estudando principalmente a estrutura de cromossomos politênicos.

Gilberto Martho possui licenciatura em ciências biológicas na Universidade de São Paulo, sendo orientado por José Amabis Martho. Dedicou-se, em geral, a docência.

O livro possui três volumes, sendo primeiro escolhido para a análise, onde o tema enzimas é tratado dentro do capítulo de bases moleculares da vida, o segundo capítulo, especificamente nas páginas 56 e 57. O livro aborda a função das enzimas, trata de cofatores e coenzimas e os fatores que afetam a atividade enzimática.

5. CAPITULO 3: ANALISE DOS LIVROS DIDÁTICOS

Em Amabis e Martho (2016) o tema enzimas é tratado dentro do capítulo 3 “Bases moleculares da vida” onde há apenas uma página e meia dedicadas exclusivamente a esse assunto.

O livro utiliza as bases estruturais abordadas em proteínas para trabalhar as enzimas. Todavia, a estrutura das proteínas é rasamente tratada, onde é completamente omitida a existência de interações fracas entre as cadeias laterais dos aminoácidos, um conhecimento indispensável para compreender a função de proteínas e enzimas.

Além disso, também é tratado superficialmente as estruturas na conformação secundária, no qual é afirmado: “A maioria dos polipeptídeos apresenta um primeiro nível de enrolamento helicoidal, chamado de estrutura secundária, comparável ao de um fio de telefone”. O autor faz menção a α -hélice, a estrutura mais comum nas proteínas, todavia, este não é a única estrutura secundária formada, há também as folhas- β e regiões flexíveis, os loops. Além disso, comparar a estrutura α -hélice a um fio de telefone, é pouco significativo para os alunos de hoje em dia, que possivelmente nunca tenham visto um, e não só isso, um fio de telefone sofre um enrolamento mecânico, já a α -hélice isso ocorre pelas interações moleculares fracas, principalmente das ligações de hidrogênio (NELSON, 2014).

A primeira afirmação do tópico de enzimas é “Enzimas são catalisadores biológicos, participando de processos biológicos, mas sem se alterarem neste processo”, com isso o autor tenta definir a função das enzimas. Nesta frase, o autor menciona catalisadores, todavia, esse termo não é explicado em nenhum momento no livro, bem como não afirma que as enzimas aumentando a velocidade das reações e muito menos que as enzimas diminuem a energia de ativação das mesmas.

Além do mais, menciona que as enzimas não se alteram durante o processo de catálise, o que de acordo com a noção moderna de ligação enzima-substrato, está errado, pois, durante o processo há alterações em sua conformação espacial e retorna a seu estado fundamental ao fim dele.

O modelo de ligação enzimática tratado nesse livro é o modelo “chave-fechadura” de Emil Fischer, um modelo com mais de 100 anos e que não explica fenômenos fundamentais para a compreensão da biologia, como a inibição enzimática, que explica a atuação de fármacos, por exemplo.

Sobre o sítio-ativo das enzimas o autor afirma:

Na superfície das enzimas há saliências e reentrâncias que permitem seu encaixe nas substâncias, genericamente chamados de substratos enzimáticos. Os locais das enzimas que propiciam o encaixe no substrato são denominados centros ativos enzimáticos. (AMABIS; MARTHO, 2016, v. 2, p. 58)

Com isso passa uma ideia de que o encaixe entre a enzima e o substrato é puramente mecânico, ignorando a interação entre o substrato e as cadeias laterais dos resíduos do sítio-ativo.

Ao se referir à especificidade das enzimas, o autor afirma: “Enzimas tem atuações específicas, ou seja, uma enzima atua somente em uma ou poucas reações biológicas.” Neste ponto o autor contradiz o modelo de ligação proposto anteriormente, já que uma enzima pode atuar em mais de uma reação, dessa forma está afirmando que pode se ligar a mais de um substrato, o que não condiz com o que foi explicado anteriormente.

No mesmo parágrafo afirma: “A especificidade de uma enzima é explicada pelo fato de seus centros ativos se encaixarem corretamente apenas a substratos específicos.” Novamente o autor acaba passando a ideia de que as enzimas e seu substrato são rígidos e se encaixam como um jogo infantil de encaixar peças geométricas nos espaços adequados.

Uma informação que é esquecida durante a explicação é de que as reações bioquímicas podem ocorrer na ausência de enzimas, todavia, são extremamente lentas, o que impediria qualquer forma de vida conhecida acontecer.

O livro apresenta uma figura na qual é exemplificado a reação de hidrólise da sacarose para exemplificar o modelo de ligação enzima-substrato. Nesta, a enzima é representada por um semicírculo com uma borda irregular, representando o sítio ativo. Em sua legenda há a afirmação: “(...) (Elementos fora de proporção de tamanho entre si; cores fantasia.)”. De fato os elementos estão fora de proporção, todavia não relata que a enzima apresentada é apenas uma representação, o que pode trazer uma ideia totalmente errada sobre sua estrutura.

Quando o autor trata sobre a nomenclatura de enzimas, afirma que as enzimas são nomeadas pelo substrato que atuam seguido pelo sufixo –ase. Afirmação não deixa de estar correta, todavia, essa classificação é antiga, de quando não haviam tantas enzimas estudadas. Hoje há uma classificação sistemática das enzimas na qual é empregada uma sequência de números, um código próprio de cada enzima, em que cada número representa a classe em que estão inseridas. Por exemplo, a hexoquinase é representada por EC 2.7.1.1. Por

mais que essa classificação seja mais atual não é usual para fins explicativos, sendo que até mesmo em artigos científicos é pouco utilizada.

No tópico seguinte “Fatores que afetam a atividade enzimática”, trabalha a questão da temperatura e pH ótimo das enzimas, todavia a carência da abordagem estrutural das enzimas inviabiliza essa explicação. As forças intermoleculares fracas e ligações dissulfeto tem um papel central na influência da temperatura e do pH na atividade enzimática e sua omissão afetam a compreensão do tema. Por exemplo, é impossível compreender o motivo de que determinada enzima se desnatura em temperaturas de 40°C enquanto outras se desnaturam à 80°C.

Em Mendonça (2016), o assunto “enzimas” é tratado no capítulo de digestão, o que de certa forma é incomum e pode passar a ideia errada de que as enzimas estão ligadas apenas a estes processos, além do mais durante esse tópico a autora não explicita que há uma infinidade de outras enzimas atuando em processos diferentes da digestão.

Os tópicos de enzimas começam com a afirmação: “enzimas são proteínas”, este foi um dogma da bioquímica por muito tempo, até que a descrição dos RNAs catalíticos o muda. Talvez substituir essa afirmação por “a maioria das enzimas são proteínas” fosse mais adequado.

Para explicar a função das enzimas, a autora traz o conceito de energia de ativação, o que é muito importante para o entendimento da catálise enzimática, todavia, não define o que é, sendo que para isso teria de abordar princípios de termodinâmica. No mesmo parágrafo utiliza este conceito para explicar o funcionamento das enzimas, afirmando corretamente que diminuem a energia de ativação das reações enzimáticas. A autora afirma:

No caso das reações biológicas, elas não são espontâneas, podem ser muito lentas e a energia de ativação necessária é muito grande. As enzimas atuam diminuindo a energia de ativação e fazem com que as reações químicas ocorram mais rapidamente e de forma controlada. Devido a essas propriedades, as enzimas são classificadas como catalisadores de reações químicas. (MENDONÇA, 2016 p.56)

Bem como em Amabis e Martho (2016), o modelo de ligação enzima-substrato apresentado é o modelo “chave-fechadura” e da mesma forma trata a

enzima e o substrato como um encaixe de peças. Todavia, afirma que a enzima é restrita a catalisar uma única reação. A autora afirma:

A enzima está para o substrato assim como uma chave está para uma fechadura, ou seja, a forma de uma enzima permite o encaixe em apenas um tipo de substrato (MENDONÇA, 2016 p. 56).

A representação de uma reação de hidrólise hipotética na figura apresentada chama muito a atenção. Nesta, o sítio ativo da enzima não possui um encaixe perfeito com o substrato, mas sim com seu estado de transição, o que é sem dúvida mais correto do que o apresentado em Amabis e Martho (2016). Dessa forma, a autora por meio da imagem, intencionalmente ou não, faz referencia ao estado de transição, por mais que não seja mencionado em nenhum momento do texto. Além do mais, a figura esta de acordo com a afirmação de que a enzima diminui a energia de ativação, pois, se o sítio ativo fosse complementar ao estado fundamental do substrato, a energia de ativação seria ainda maior. Porém, ainda assim apresenta os mesmo erros conceituais de Amabis e Martho (2016).

Ao fim do tópico “o que são enzimas” a autora faz uma explicação breve sobre as hidrolases e como atuam, podendo reforçar ainda mais a percepção de que as enzimas são relacionadas apenas ao processo de digestão.

Assim como Amabis e Martho (2016), há o tópico “Fatores que influenciam a atividade das enzimas”, neste ponto a crítica é a mesma, ambos não abordam as bases estruturais das enzimas, e isso impossibilita a compreensão deste conteúdo. A autora afirma:

Cada enzima possui um valor de pH onde ela atua melhor; existem enzimas que se tornam ativas apenas em meio ácido, enquanto outras necessitam de uma solução levemente básica para realizar sua função. A maioria das enzimas, entretanto, é mais eficiente quando em solução de pH neutro. (MENDONÇA, 2016 p. 57).

Sobre o efeito da temperatura a autora afirma:

Altas temperaturas destroem as ligações químicas que mantêm o formato da enzima e ela perde sua função. Todas as proteínas, não apenas as enzimas, perdem sua estrutura espacial quando expostas ao calor excessivo, processo esse chamado desnaturação. Alterações no pH também podem provocar desnaturação das enzimas. (MENDONÇA, 2016 p. 57).

Sem mencionar as forças intermoleculares fracas, que mantêm a estrutura tridimensional das proteínas, esta afirmação pode passar a ideia errada de que a perda da atividade é consequência da quebra das ligações peptídicas.

Em geral, ambos os livros carecem de uma abordagem estrutural das proteínas e por consequência, das enzimas. Sem abordar as ligações de hidrogênio, pontes salinas e interações hidrofóbicas, bem como as funções das cadeias laterais dos resíduos de aminoácidos, não é possível entender verdadeiramente os conceitos apresentados pelos livros.

Muitas vezes os modelos, ilustrações e analogias nos livros didáticos tem o intuito de facilitar a compreensão de determinado conteúdo, todavia, como aponta Sangiogo (2011), pode oferecer um obstáculo ao acesso do saber científico e criam a impressão de compreensão.

Oliveira (2010) afirma que, no ensino, não há uma preocupação entre separar as representações e a realidade, uma vez que a preocupação central é a memorização dos conceitos e a resolução de exercícios.

No ensino de química, por exemplo, a distinção entre modelo e realidade nem sempre é enfatizada, de modo que frequentemente os estudantes acreditam que esta é descrita com total fidelidade por aquele, não havendo diferença entre o que é pensado e o próprio existente (DE OLIVEIRA, 2010, p. 229)

Em ambos os livros há uma completa omissão da história da construção dos conhecimentos sobre as enzimas, o que faz parecer que os conceitos apresentados ali são verdades sobre a natureza, e não uma concepção construída historicamente sobre os fenômenos observados.

Leite (1988), afirma que os cientistas e educadores se dividem sobre a abordagem histórica dos conteúdos científicos. Há os que consideram um equívoco tratar as teorias e conceitos ultrapassados, pois consideram resultado de erro e ignorância. E outros que afirma que “é necessário investigar o passado para compreender o futuro e controlar o passado” (BERNAL, 1969) apud. Leite (1988).

Martins (2007), ressalta que dentre os professores e futuros professores há um reconhecimento da importância da história e filosofia da ciência, porém, esse reconhecimento não é refletido na sala de aula. Dentre as dificuldades observadas,

a principal é a baixa disponibilidade de materiais didáticos de qualidade, e também a exigência de uma abordagem extensiva do conteúdo pelas provas de vestibulares (Martins, 2007).

Como aponta Carneiro (2005), uma abordagem histórica da ciência pode acarretar em uma série de problemas dependendo da forma que é tratada, podendo complicar ainda mais o processo de ensino-aprendizagem e passar uma visão equivocada da construção do conhecimento científico.

Carneiro (2005) afirma que a abordagem histórica da ciência pode incitar os alunos a pensar que a ciência é feita apenas de grandes “descobertas” de cientistas geniais. Pode apresentar a história de modo linear, ou seja, elenca apenas os acontecimentos “corretos” que corroboraram para o entendimento atual do assunto. Pode apresentar uma visão de que a comunidade científica trabalha em consenso em prol de uma única visão. Além disso, muitas vezes o contexto histórico, político e social é ignorado (CARNEIRO, 2005).

Os livros didáticos tem um papel central no ensino básico, atuando de forma a tentar homogeneizar a educação com base nos valores hegemônicos e interesses políticos e econômicos (MACEDO, 2004). Todavia, são uma ferramenta do professor e o mesmo pode selecionar os conteúdos que são interessantes abordar, bem como a forma que será abordado.

Um olhar fleckiano no ensino faria os alunos entender as relações que se formam entre os coletivos de pensamento, perceber a forma que um coletivo de pensamento se esforça para manter a harmonia das ilusões, notar que as complicações em um estilo de pensamento não surgem e transformam um estilo de pensamento espontaneamente, mas que se acumulam por anos até levar a uma transformação, e com isso contribuir para tornar a compreensão da construção histórica do modelo de ligação enzima-substrato moderna mais consistente. Além disso, pode contribuir para a compreensão da construção científica como um todo, bem como desmistificar os estereótipos dos cientistas e da ciência, e tornar os alunos mais críticos quanto às verdades que lhes são impostas.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Espera-se que este trabalho possa contribuir com o ensino básico de bioquímica, bem como das ciências de modo geral, não só no âmbito escolar, mas também influenciar a compreensão da realidade dos alunos no que tange os fenômenos biológicos e da estrutura da construção do conhecimento científico.

Esperamos também que a análise da história da construção do conhecimento no campo das enzimas, em especial dos modelos de ligação enzima-substrato, em uma perspectiva Fleckiana possa humanizar os cientistas e com isso aproximar os alunos da construção conhecimento científico, bem como estimulá-los a seguir uma carreira científica ou simplesmente torná-los mais críticos quanto às “verdades” científicas.

Concordamos com a afirmação de Tonolli (2010) em abordar a construção histórica das enzimas junto ao tópico de fermentação, uma vez que os conhecimentos construídos neste campo foram fundamentais para o entendimento sobre a natureza das enzimas e suas funções.

Todavia, acreditamos que, além disso, deve haver uma reformulação dos conhecimentos abordados no tópico de proteínas para contemplar sua estrutura e conseqüentemente das enzimas. É indispensável que seja abordado as ligações de hidrogênio, as pontes salinas e forças de Van der Waals, pois, sem este conhecimento não há como entender a noção moderna de ligação enzima-substrato, da catálise enzimática, a formação das estruturas secundárias e terciárias, pH e temperatura ótimos, entre outros relacionados, bem como pode-se expandir os conceitos para explicar fenômenos biológicos envolvidos.

Especialmente no momento em que vivemos, em que o negacionismo está tomando proporções assustadoras, onde pessoas confundem opiniões com verdades absolutas, em confiam em notícias falsas e sensacionalistas e não se dão o trabalho de apurar os fatos, lerem artigos científicos e apoiar a pesquisa científica, é cada vez mais necessário abordar a história e filosofia da ciência para formar cidadãos mais críticos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, Leonardo R. et al. Cristalografia: 100 Anos no Caminho da Inovação. **Revista Processos Químicos**, v. 8, n. 16, p. 75-86, 2014.

ARAKANE, Yasuyuki et al. Laccase 2 is the phenoloxidase gene required for beetle cuticle tanning. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 102, n. 32, p. 11337-11342, 2005.

AWOONOR-WILLIAMS, Ernest; WALSH, Andrew G.; ROWLEY, Christopher N. Modeling covalent-modifier drugs. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics**, v. 1865, n. 11, p. 1664-1675, 2017.

BERG, Paul. Asilomar 1975: DNA modification secured. **Nature**, v. 455, n. 7211, p. 290-291, 2008.

CARNEIRO, M. H. & GASTAL, M. L. História e Filosofia das Ciências no Ensino de Biologia. **Ciência e Educação**, v. 11, n.1, p. 33-39, 2005.

CARTER, Paul. Site-directed mutagenesis. **Biochemical Journal**, v. 237, n. 1, p. 1, 1986.

CELLARD, A. A análise documental. In: POUPART, J. et al. A pesquisa qualitativa: enfoques epistemológicos e metodológicos. Petrópolis, Vozes, 2008.

CORNISH-BOWDEN, Athel. History of Enzyme Chemistry. **eLS**, 2011.

CORNISH-BOWDEN, Athel. The origins of enzyme kinetics. **FEBS letters**, v. 587, n. 17, p. 2725-2730, 2013.

DE OLIVEIRA, Renato José. O ensino das ciências e a ética na escola: interfaces possíveis. **Revista Química Nova na Escola**, v. 227, 2010.

DELIZOICOV, Demétrio et al. Sociogênese do conhecimento e pesquisa em ensino: contribuições a partir do referencial fleckiano. **Caderno Brasileiro de Ensino de Física**, v. 19, p. 52-69, 2002.

DELIZOICOV, Demétrio; AULER, Décio. Ciência, Tecnologia e Formação Social do Espaço: questões sobre a não-neutralidade. **Alexandria: revista de educação em ciência e tecnologia**, v. 4, n. 2, p. 247-273, 2011.

FREIRE, Thales S. **Inibição enzimática analisada com uma abordagem da mecânica estatística**. Dissertação (mestrado em Física). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP. 2019.

FREITAS, Mayara Reinert Gelamo de. **A epistemologia de Ludwik Fleck em pesquisas sobre formação de professores de ciências no Brasil**. Dissertação (mestrado em educação em ciências e matemática). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2018.

FRUTON, Joseph S. A history of pepsin and related enzymes. **The Quarterly review of biology**, v. 77, n. 2, p. 127-147, 2002.

GAL, J. The discovery of biological enantioselectivity: Louis Pasteur and the fermentation of tartaric acid, 1857—A review and analysis 150 yr later. **Chirality**, 20(1), 5–19, 2007.

GILLEN, Alan L.; SHERWIN, Frank. Louis Pasteur's views on creation, evolution, and the genesis of germs. **Faculty Publications and Presentations**. v. 144. 2008.

HECKMANN, Christian M.; PARADISI, Francesca. Looking back: A short history of the discovery of enzymes and how they became powerful chemical tools. **ChemCatChem**, v. 12, n. 24, p. 6082, 2020.

HEIN, George E. The Liebig-Pasteur controversy: vitality without vitalism. **Journal of Chemical Education**, v. 38, n. 12, p. 614, 1961.

HEITMANN, John Alfred. "Justus von Liebig," in *Great Lives From History: Renaissance to 1900*. Pasadena, CA: **Salem Press**, 1989

KOSHLAND, D. Crazy, but correct. **Nature** 432, 447 (2004).

KOSHLAND, D.E., NÉMETHY, G. and FILMER, D. Comparison of experimental binding data and theoretical models in proteins containing subunits. *Biochemistry* 5, 365–385, 1966

KOSHLAND JR, Daniel E. The key–lock theory and the induced fit theory. **Angewandte Chemie International Edition in English**, v. 33, n. 23-24, p. 2375-2378, 1995.

KOSHLAND JR, D. E. Application of a theory of enzyme specificity to protein synthesis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 44, n. 2, p. 98, 1958.

LAMBACH, M. **Formação Permanente de Professores de Química da EJA na Perspectiva DialógicoProblematizadora Freireana**. (Tese de Doutorado, UFSC), Florianópolis, 2013

LICHTENTHALER, Frieder W. 100 years "Schlüssel-Schloss-Prinzip": what made Emil Fischer use this analogy?. **Angewandte Chemie International Edition in English**, v. 33, n. 23-24, p. 2364-2374, 1995.

MACEDO, Elizabeth. A imagem da ciência: folheando um livro didático. **Educ. Soc.**, Campinas, v. 25, n. 86, p. 103-129, Apr. 2004.

MARTINELLI, NRBS; MACKEDANZ, Luiz Fernando. Abordagens da História da Ciência no Ensino de Ciências. **Encontro Nacional de Pesquisa em Educação em Ciências, Anais... Florianópolis: ABRAPEC**, 2017.

MARTINS, André Ferrer Pinto. A obra aberta de Ludwik Fleck. **Revista Brasileira de Pesquisa em Educação em Ciências**, p. 1197-1226, 2020.

MARTINS, André Ferrer Pinto. História e Filosofia da Ciência no ensino: Há muitas pedras nesse caminho.. **Caderno Brasileiro de Ensino de Física**, v. 24, n. 1, p. 112-131, 2007.

MENCK, Carlos Frederico Martins. A nova grande promessa da inovação em fármacos: RNA interferência saindo do laboratório para a clínica. **Estudos avançados**, v. 24, n. 70, p. 99-108, 2010.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. Editora Artmed, 6a Ed. Porto Alegre, 2014.

NOBEL LECTURES, **Chemistry 1901-1921**, Elsevier Publishing Company, Amsterdam, 1966

RAY, Ramesh C.; JOSHI, V. K. Fermented foods: past, present and future. **Microorganisms and fermentation of traditional foods**, p. 1-36, 2014.

RINGE, Dagmar; PETSKO, Gregory A. How enzymes work. **SCIENCE-NEW YORK THEN WASHINGTON-**, v. 320, n. 5882, p. 1428, 2008.

SADY, Wojciech. Ludwik Fleck. 2012.

SANGIOGO, F. A.; ZANON, L. B.. Reflexões sobre modelos e representações na formação de professores com foco na compreensão conceitual da catálise enzimática. **Química nova na escola**, v. 34, n. 1, p. 26-34, 2012.

Santos Filho, O. A. e ALENCASTRO, R. B. de Modelagem de proteínas por homologia. **Química Nova**, v. 26, n. 2, pp. 253-259, 2003

SÁ-SILVA, Jackson Ronie; DE ALMEIDA, Cristóvão Domingos; GUINDANI, Joel Felipe. Pesquisa documental: pistas teóricas e metodológicas. **Revista brasileira de história & ciências sociais**, v. 1, n. 1, 2009.

SCHEKMAN, Randy. The nine lives of Daniel E. Koshland, Jr.(1920–2007). **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 37, p. 14551-14552, 2007.

SIMONI, Robert D.; HILL, Robert L.; VAUGHAN, Martha. Urease, the first crystalline enzyme and the proof that enzymes are proteins: the work of James B. Sumner. **Journal of Biological Chemistry**, v. 277, n. 35, p. e23-e23, 2002.

SMITH, Kendall A. Louis Pasteur, the father of immunology?. **Frontiers in immunology**, v. 3, p. 68, 2012.

SOURKES, Theodore L. Moritz Traube, 1826-1894: his contribution to biochemistry. **Journal of the history of medicine and allied sciences**, p. 379-391, 1955.

TONOLLI, Paulo Newton. **A construção histórica do conceito de enzima e o seu uso no ensino de Biologia**. (Tese de conclusão de curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, Universidade Federal de São Carlos), Sorocaba, 2010.

THOMA, J. A., & KOSHLAND, D. E. Competitive Inhibition by Substrate during Enzyme Action. Evidence for the Induced-fit Theory. **Journal of the American Chemical Society**, 82(13), 3329–3333, 1960.

VERLI, Hugo; BARREIRO, Eliezer J.. Um paradigma da química medicinal: a flexibilidade dos ligantes e receptores. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 28, n. 1, p. 95-102, Feb. 2005.

WALSH, Kenneth A. et al. Advances in protein sequencing. **Annual review of biochemistry**, v. 50, n. 1, p. 261-284, 1981.