

CORRELAÇÃO ENTRE A ATIVIDADE DAS ENZIMAS BETA-GLICOSIDASE (LEUCÓCITOS) E QUITOTRIOSIDASE (PLASMA) COM AQUELA EM SANGUE COLHIDO EM PAPEL FILTRO

CRISTINA DA SILVA GARCIA; MARIANA PEREIRA DE SOUZA GOLDIM; JANICE CARNEIRO COELHO

A Doença de Gaucher (DG) é causada pela deficiência de β -glicosidase (BGli), gerando o acúmulo de glicosilceramidas nos lisossomos, causando vários sintomas aos pacientes. Outra enzima relacionada a DG é a quitotriosidase (QT), cuja atividade aparece aumentada. A dosagem de BGli (leucócitos) e QT (plasma), são consideradas como padrão ouro para o diagnóstico da DG. Esta medida também pode ser realizada em sangue impregnado em papel filtro (SPF), mas ainda como método de triagem. Esse estudo tem como objetivo estabelecer a atividade de BGli e QT em leucócitos e plasma correlacionando-a com a atividade das mesmas em SPF, estabelecendo também a faixa de normalidade. Foram utilizados 9 ml de sangue heparinizado de 14 indivíduos hígidos. As técnicas padrão ouro das enzimas BGli e QT utilizaram os substratos artificiais com 4-Metilumbeferil, com incubação de 60 min e 15min, respectivamente. Ambas as reações foram realizadas à 37°C e interrompidas com tampão glicina-NaOH pH10,3. As técnicas para SPF (Civallero et al, 2006) foram reduzidas 2,5 vezes para placa de 96 poços, mantendo a proporção entre os reagentes. Todas as reações foram lidas em espectrofluorímetro em 365 e 450nm. A BGli em leucócitos variou de 8,0-17,8 nmol/h/mg prot e em SPF de 4,7-49,9 nmol/h/mL, enquanto a QT variou de 0-40,9 nmol/h/mL (plasma) e 4,6-49,9 nmol/h/mL (SPF). Obtido os resultados foi feita uma correlação de Pearson. Para BGli foi obtida correlação não significativa de $R^2=0,02$ e para QT correlação significativa de $R^2=0,75$. Os resultados nos mostram que a técnica da BGli em SPF necessita ainda de aprimoramentos para ser utilizada como diagnóstico final da DG. Para tanto, propomos a expressão da atividade enzimática levando-se em consideração a quantidade de proteínas ou DNA da amostra analisada.