

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

GARCIA, Cristina da Silva<sup>1</sup>; GOLDIM, Mariana Pereira de Souza<sup>1</sup>; COELHO, Janice Carneiro<sup>1</sup>

1) Laboratório de Erros Inatos do Metabolismo - Doenças Lisossômicas de Depósito, Departamento de Bioquímica, ICBS, UFRGS.  
[garcia.cs7@gmail.com](mailto:garcia.cs7@gmail.com)

### Introdução

A Doença de Gaucher (DG) é causada pela deficiência de  $\beta$ -glicosidase (BGli), gerando o acúmulo de glicosilceramidas nos lisossomos, o que causa 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 da BGli e da QT em leucócitos e plasma correlacionando-a com a atividade das mesmas em SPF, estabelecendo também a faixa de normalidade.

### Materiais e Métodos

Foram utilizados 9 ml de sangue heparinizado de 14 indivíduos hígidos. As técnicas padrão ouro das enzimas BGli e QT utilizaram os substratos 4-Metilumbiferil- $\beta$ -D-glicosídeo, com incubação de 60 min e 4-metilumbiferil- $\beta$ -D-N'-N'-N'-triacetilquitotriosídeo, com incubação por 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.

### Resultados

A BGli em leucócitos variou de 8,0 a 17,8 nmol/h/mg de proteína e em SPF de 2,2 a 5,7 nmol/h/mL, enquanto em plasma a QT variou de 0 a 40,9 nmol/h/mL e de 4,6 a 49,9 nmol/h/mL (SPF). Obtido os resultados foi feita uma correlação de Pearson considerando  $\alpha=0,05$  e  $R^2=0,70$ . Para a BGli foi obtida correlação não significativa de  $r = 0,24$  e  $R^2 = 0,06$ ; e para QT correlação significativa de  $r = 0,87$  e  $R^2=0,7570$ .

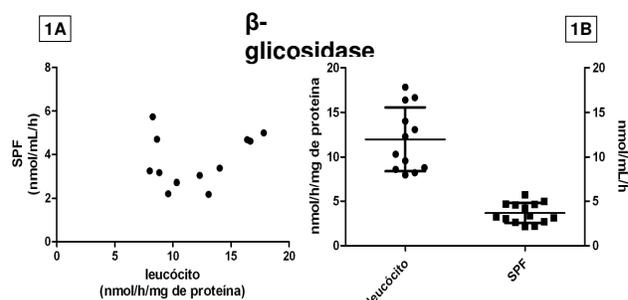


Fig. 1. Resultados da  $\beta$ -glicosidase. 1A – Correlação de Pearson entre os resultados em papel filtro 1,2mm e leucócitos, foi obtido  $r = 0,24$  e  $R^2=0,06$ , não sendo significativo ( $p = 0,43$ ). 1B – Intervalo entre as amostras em leucócitos variaram de 8,0 a 17,8 nmol/h/mg de proteína ( $12,0 \pm 3,6$  DP) e em SPF de 2,2 a 5,7 nmol/h/mL ( $3,7 \pm 1,1$  DP).

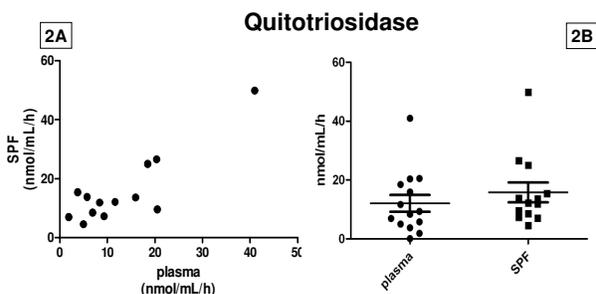


Fig. 2. Resultados da Quitotriosidase. 2A – Correlação entre os resultados em papel filtro e leucócitos, foi obtido  $r = 0,87$  e  $R^2 = 0,7570$ , sendo significativo ( $p = 0,0001$ ). 2B – Intervalo entre as amostras em plasma variou de 0 a 40,9 nmol/h/mL ( $12,1 \pm 10,7$  DP) e em papel filtro de 4,6 a 49,9 nmol/h/mL ( $15,8 \pm 12,1$  DP).

### Conclusão

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.