



Efeitos do Armazenamento na Atividade de Beta-Galactosidase em Sangue Impregnado em Papel Filtro: Resultados após Cinco Anos à 4°C.

RIBEIRO, Nicole Sartori¹; GOLDIM, Mariana; COELHO, Janice Carneiro¹.

1) Laboratório de Erros Inatos do Metabolismo - Doenças Lisossômicas de Depósito, Departamento de Bioquímica, ICBS, UFRGS.
nicole.sari@hotmail.com

Introdução

As doenças lisossômicas de depósito (DLDs) são resultado do acúmulo de produtos que normalmente seriam degradados pelas enzimas lisossomais. Sangue impregnado em papel filtro (SPF) é atualmente utilizado como triagem para diversas DLDs, incluindo a Gangliosidose GM1, que é causada pela deficiência da enzima beta-galactosidase (b-gal). Porém, há poucos estudos que relacionam a estabilidade desta enzima em SPF. Então, esse estudo teve como objetivo investigar a estabilidade da beta-galactosidase em sangue impregnado em papel filtro, após as amostras terem sido armazenadas durante cinco anos à 4°C.

Materiais e Métodos

Coletou-se o sangue (10mL) de 13 indivíduos saudáveis, de três diferentes formas: sem anticoagulante, com EDTA ou com heparina. O sangue foi coletado em 2007 e este foi considerado o tempo zero de coleta. Após as coletas, parte das amostras foram recolhidas com pipeta Pasteur e pingadas em papel filtro Whatmann 903. Em seguida, mediu-se a atividade enzimática da b-gal (tempo zero) e essa medida foi repetida novamente cinco anos após a coleta (2012). Para esse propósito, utilizou-se a técnica de *Castilhos et al* (2011). Durante este período, todas as amostras foram armazenadas à 4°C.

Resultados

Depois de transcorridos cinco, os resultados obtidos via ANOVA de uma via mostraram que houve uma diminuição significativa da atividade da enzima ($p < 0.001$) nas três formas de coleta (Fig.1: soro; Fig.2: EDTA; Fig.3: heparina), restando apenas 59% da atividade enzimática inicial. Além disso, não foram observadas diferenças significativas na atividade de b-gal entre as 3 formas de coleta das amostras.

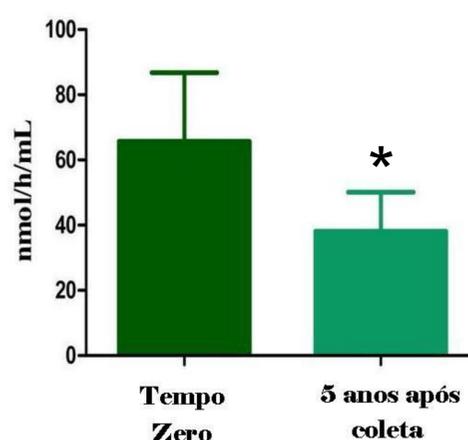


Fig. 1: Atividade da beta-galactosidase em SPF de sangue coletado sem anticoagulante.

*Diferença significativa ($p < 0.001$)

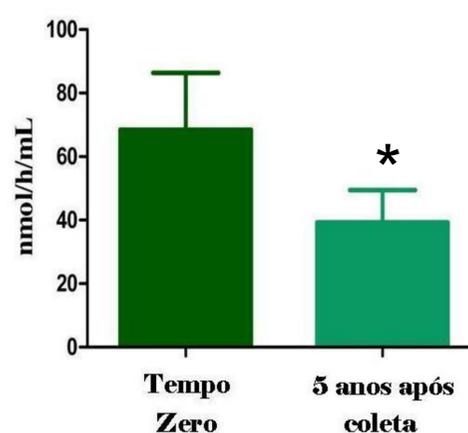


Fig. 2: Atividade da beta-galactosidase em SPF de sangue coletado com EDTA.

*Diferença significativa ($p < 0.001$)

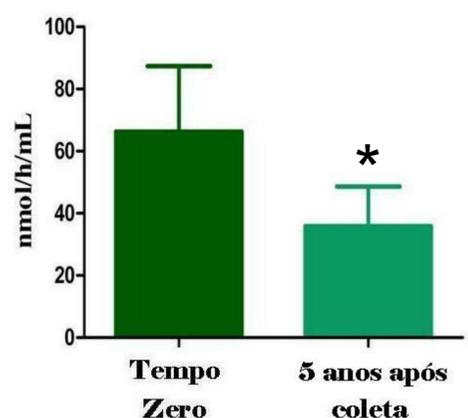


Fig. 3: Atividade da beta-galactosidase em SPF de sangue coletado com heparina.

*Diferença significativa ($p < 0.001$)

Conclusão

Foi constatado que as três formas de coleta podem ser utilizadas para mediar a atividade enzimática da beta-galactosidase, todavia os SPF não podem ser armazenados durante um longo período, pois há o risco de perda da atividade da enzima, podendo ocasionar um aumento no número de diagnósticos falso-positivos para Gangliosidose GM1. Nosso grupo já havia demonstrado que a atividade da enzima b-galactosidase é estável até 180 dias a 4°C (*Castilhos et al., 2011*).