

**DIAGNÓSTICO DA DOENÇA DE NIEMANN-PICK TIPO C = ADAPTAÇÃO DO MÉTODO ORIGINAL..** Souza, F. ,  
Vieira , M. , Sostruznik, L. , Giugliani, R. , Coelho, J. . Serviço de Genética Médica . HCPA.

Fundamentação:A doença de Niemann-Pick é um grupo de distúrbios caracterizados pelo acúmulo de esfingomielina e outros lipídios nos tecidos. O tipo C, não ocorre deficiência de esfingomielina, o acúmulo de lipídios é observado em fibroblastos de indivíduos que provavelmente tenham uma deficiência no transporte do colesterol dos lisossomos. Objetivos:O objetivo deste trabalho foi o de otimizar a técnica para o diagnóstico de indivíduos com Doença de Niemann-Pick C de acordo com o método de coloração de fibroblastos com o corante Filipin. Causística:Foram utilizados fibroblastos de indivíduos com suspeita da doença de NPC em andamento no laboratório de cultura de tecidos do Serviço de Genética Médica do HCPA. Os fibroblastos foram cultivados em meio Ham-F10 com 10% de SBF (Soro Bovino Fetal) e após confluência foram tripsinizados. A tripsina foi completamente removida por centrifugação com o meio Ham-F10. Em seguida foi colocado 3 mL de meio MEM com 8% de LPDS (soro deficiente em Lipoproteína). Os fibroblastos foram então transferidos para placas de petry contendo uma lamínula, cultivados por 3 dias em estufa de CO<sub>2</sub> com 1,5mL de meio MEM com 5% de LPDS. Os fibroblastos foram tratados, então, com 1,5mL de meio MEM + 8% de LPDS contendo 50 ug de LDL humana por mL de meio. Após incubação por 24 horas foi realizado a coloração com o corante fillipin de acordo com a técnica de Kruth e colaboradores (1986) de modo a observarmos ou não a presença de colesterol no citoplasma celular. Resultados:O soro deficiente em LPDS não inativa completamente a tripsina. A modificação do método com a eliminação de tripsina no preparo dos fibroblastos possibilitou uma maior aderência deste sobre a lamínula, aumentando quantitativamente o número de fibroblastos a serem corados. Conclusões:A eliminação da tripsina possibilitou um diagnóstico mais preciso devido ao maior número de fibroblastos que ficaram aderidos a lamínula. Desta forma o novo protocolo aumentou a eficiência e a confiabilidade dos resultados.