

345

METODOLOGIA DE AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA ENZIMA 5A-REDUTASE EM TECIDOS PROSTÁTICOS. Francine Muraro, Osmar Luiz Magalhães de Oliveira, Emanuel Burck dos Santos, Walter José Koff, Vera Maria Treis Trindade (orient.) (UFRGS).

A testosterona (T) é reduzida, através da enzima 5a-redutase (EC 1.3.99.5), a diidrotestosterona (DHT), um dos principais andrógenos com ação na próstata. Duas isoformas da 5a-redutase foram identificadas: a 5aR1 (pH 6-8, 5) presente na pele e no fígado e a 5aR2 (pH=5) predominante nas células prostáticas. Este estudo visa uma nova padronização da metodologia de dosagem da enzima 5a-redutase em biópsias e em tecido proveniente de prostatectomia humana. As estruturas são pesadas e homogeneizadas. A atividade enzimática é determinada num sistema de incubação contendo tampão pH 5, 0 (isoenzima 5aR2), NADPH, [4-¹⁴C] Testosterona. A reação inicia com a adição do homogeneizado, a 37°C, sendo interrompida com acetato de etila. A fase orgânica é evaporada sob atmosfera de nitrogênio. O resíduo é suspenso em acetato de etila e seus componentes separados por cromatografia em camada delgada (silica gel 60F₂₅₄ Merck), usando como fase móvel, acetato de etila:benzeno (2:1). Os componentes radioativos são revelados por autorradiografia e os padrões identificados através de lâmpada UV. As bandas correspondentes a T e a DHT são raspadas da placa e a radiatividade avaliada por cintilação líquida. A reação foi linear com os aumentos do tempo e da quantidade de proteína total. A concentração de substrato, o tempo de incubação e a quantidade de proteína ideal para a avaliação da atividade da 5aR2 foram 1, 4 mM, 60 minutos e 100 mg respectivamente, para ambas fontes de enzima. Confirmada a padronização, pretende-se usar a medida da atividade desta enzima como um possível parâmetro de diagnóstico e de acompanhamento terapêutico das patologias de próstata, como o câncer e a hiperplasia benigna. (PIBIC).