



<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2013: SIC - XXV SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2013
<b>Local</b>	Porto Alegre - RS
<b>Título</b>	Alfa-D-glicosidase ácida: parâmetros bioquímicos em amostras de sangue impregnado em papel filtro.
<b>Autor</b>	DÁCIO FRANCO WEILER PILOTI
<b>Orientador</b>	JANICE CARNEIRO COELHO

A Doença de Pompe (DP) é uma doença lisossômica de depósito (DLD), de herança autossômica recessiva, rara e progressiva onde a enzima alfa-D-glicosidase ácida (GAA) encontra-se deficiente. Essa deficiência gera um acúmulo de glicogênio nos lisossomos da célula, principalmente no tecido muscular e assim, o aparecimento dos sintomas clínicos. O diagnóstico para DP é realizado através da medida da atividade da GAA usando o substrato sintético fluorimétrico 4-metilumbeliferil- $\alpha$ -D-glicopiranosídeo em biópsias musculares, fibroblastos cultivados a partir de biópsias de pele, leucócitos totais ou linfócitos purificados de sangue. O diagnóstico precoce da DP, assim como das demais DLDs, é uma etapa essencial para que os tratamentos em desenvolvimento sejam mais eficazes. Para isso, tem-se desenvolvido métodos de triagem onde a medida da atividade das enzimas lisossomais é realizada de forma direta em amostras de sangue impregnado em papel filtro (SPF). O uso de leucócitos totais também é utilizado para o diagnóstico de deficiência enzimática devido a rapidez do método e da obtenção das amostras de sangue. Fibroblastos são usados como diagnóstico confirmatório para DP. Neste trabalho, tivemos por objetivo determinar parâmetros bioquímicos ( $K_m$ ,  $V_{max}$  e pH ótimo) em amostras de SPF de indivíduos saudáveis para posterior comparação com amostras de pacientes com DP em diferentes amostras biológicas. Foram utilizadas 10 amostras de controles saudáveis, nas quais realizamos a medida da atividade enzimática conforme Castilhos et al (2011), em placas de 96 poços. Para determinar o pH ótimo, utilizamos tampões para preparação do substrato com pH variando de 4,0 a 6.  $K_m$  e  $V_{max}$  foram estimados usando uma curva de concentração de substrato, com concentrações que variaram de 2mM a 15mM. Através deste trabalho, podemos estabelecer o pH ótimo da enzima em 4,5. Este pH ótimo foi usado nos ensaios e determinou valores estimados pra  $K_m$  e  $V_{max}$  de, 4,85mM e 7,72nmol/20h/mL. Estes resultados são importantes para a caracterização desta enzima em diferentes tipos de amostras e podem ser úteis para o diagnóstico da Doença de Pompe.