



Determinação de parâmetros cinéticos da enzima N-Acetilgalactosamina-6-sulfatase deficiente no diagnóstico da mucopolissacaridose tipo IVA

Vitória da Costa Moraes, Janice Carneiro Coelho

Laboratório de Erros Inatos do Metabolismo - Doenças Lisossômicas de Depósito (LEIM-DLD), Laboratório 25- Departamento de Bioquímica do ICBS- UFRGS.

vitoriaufrgs@gmail.com

Introdução

A N-acetilgalactosamina-6-sulfatase é a enzima que se encontra deficiente na Mucopolissacaridose do tipo IV A, denominada Síndrome de Morquio. Esse erro inato do metabolismo é caracterizado bioquimicamente pelo acúmulo dos glicosaminoglicanos: queratan-sulfato e condroitin-6-sulfato nos lisossomos.

Objetivo

O objetivo desse trabalho foi determinar os parâmetros cinéticos de K_m e $V_{máx}$ da enzima N-acetilgalactosamina-6-sulfatase em leucócitos de indivíduos saudáveis visando o aprimoramento do diagnóstico da Mucopolissacaridose IV A.

Materiais e métodos

Foram separados leucócitos de amostras de 10mL de sangue heparinizado de indivíduos saudáveis (Skoog e Beck, 1956) para a realização da medida da atividade enzimática da N-acetilgalactosamina-6-sulfatase conforme técnica descrita por van Diggelen et al. (1990). A curva de Michaelis-Mentem (curva de substrato) foi obtida a partir de soluções do substrato MU- β Gal-6S em concentrações de 1 a 20mM. Conforme a linearidade observada, novos pontos de concentração de substrato foram estabelecidos para o cálculo dos parâmetros de K_m e da Velocidade Máxima da reação utilizando o gráfico de Lineweaver e Burk.

Resultados

O K_m e a $V_{máx}$ da N-acetilgalactosamina-6-sulfatase em leucócitos de indivíduos saudáveis foi de 7,16mM e 77,3nmol/17h/mg de proteína, respectivamente

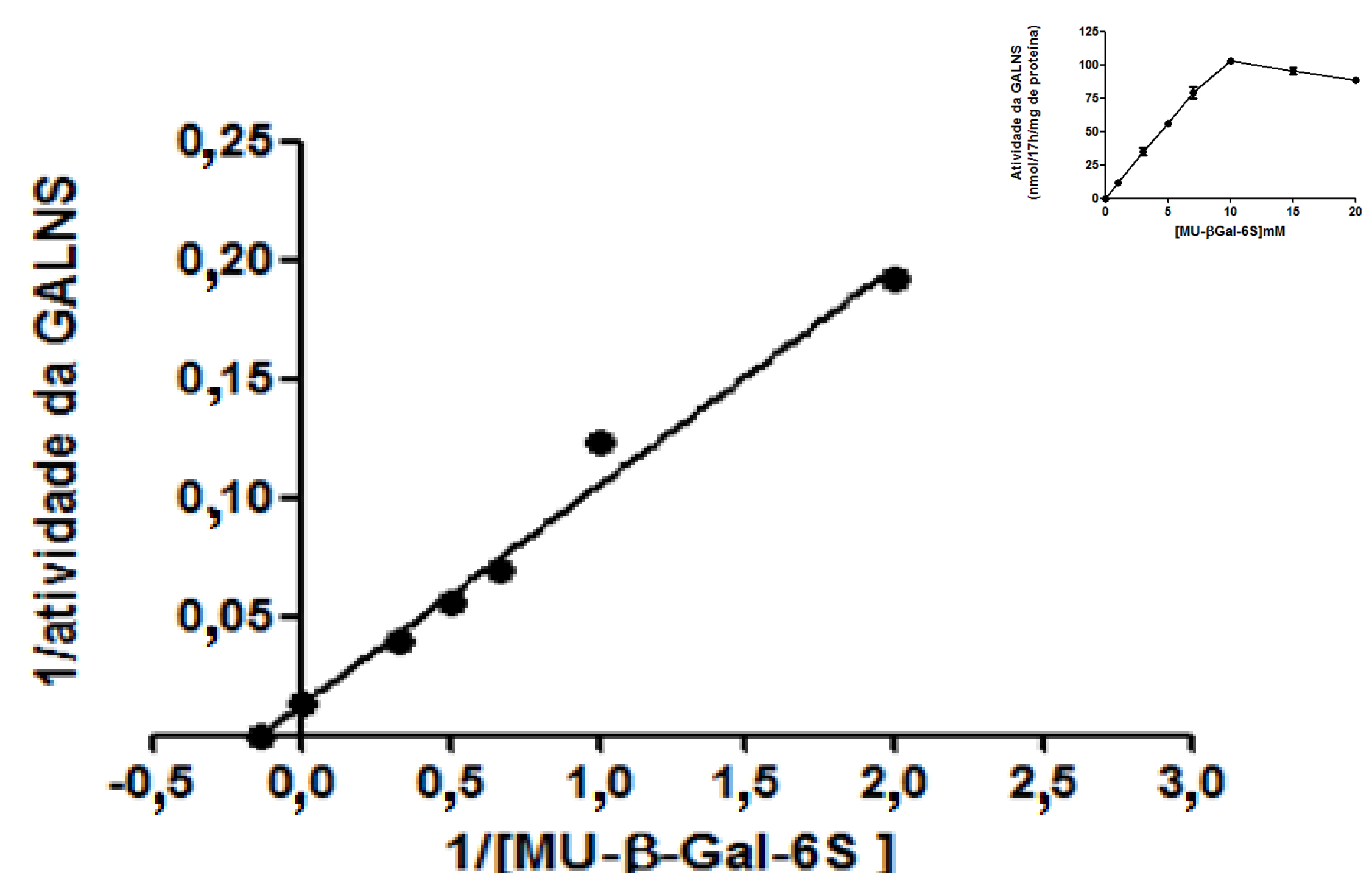


Figura 1: : K_m e determinação da velocidade máxima de GALNS em leucócitos de indivíduos saudáveis. A atividade enzimática está expressa em nmol /17h/mg de proteína e a concentração de substrato em mM.

Conclusão

A determinação de parâmetros cinéticos da enzima N-acetilgalactosamina-6-sulfatase é de grande importância para o aprimoramento de técnicas fluorimétricas no diagnóstico da Síndrome de Morquio. Esse conhecimento também é conveniente devido ao desenvolvimento da terapia de reposição enzimática para os indivíduos afetados com Mucopolissacaridose IV A e para o auxílio na distinção entre indivíduos saudáveis, afetados e heterozigotos.

Apoio: