



Propriedades bioquímicas da enzima Quitotriosidase de pacientes com Doença de Gaucher com e sem tratamento por reposição enzimática

GARCIA, Cristina da Silva¹; GOLDIM, Mariana Pereira de Souza¹; COELHO, Janice Carneiro¹

1) Laboratório de Erros Inatos do Metabolismo - Doenças Lisossômicas de Depósito, Departamento de Bioquímica, ICBS, UFRGS.

garcia.cs7@hotmail.com

Introdução

A quitotriosidase (QT), também conhecida como quitinase, é uma glicosilhidrolase secretada por ativação dos macrófagos, que hidroliza a quitina. A atividade da QT encontra-se aumentada no plasma de pacientes com doença de Gaucher (DG), Niemann-Pick, gangliosidose GM1 e doença de Krabbe. No entanto, não se sabe ainda porque a atividade desta enzima está aumentada nestas doenças. O tratamento para DG consiste na administração da enzima β -glicosidase que encontra-se deficiente e a eficácia deste tratamento pode ser acompanhada pela diminuição da atividade da QT. O objetivo deste trabalho foi estabelecer e comparar as propriedades bioquímicas e cinéticas como Km e velocidade máxima (V_{máx}) da QT em plasma de indivíduos normais, pacientes DG sem tratamento (STTM) e pacientes DG com tratamento (CTTM).

Materiais e Métodos

A medida da QT foi determinada usando o substrato artificial 4-metilumbeliferil- β -D-N'-N'-N'-triacetilquitotriosídeo em diferentes concentrações de substrato (1,25 - 7,25 μ M), este ensaio foi incubado por 15 minutos a 37°C e a reação foi interrompida com tampão glicina-NaOH pH 10,3. A fluorescência foi lida em espectrofluorímetro em 365 e 450nm.

Resultados

O Km da QT no plasma de pacientes STTM ($18,9 \pm 4,9$ μ M) foi significativamente maior ($p < 0,0001$), que aquele de pacientes CTTM ($2,76 \pm 0,93$ μ M) e dos controles ($4,68 \pm 1,18$ μ M). Já a V_{máx} dos pacientes STTM ($59.641,3 \pm 50.722,6$ nmol/h/mL) foi significativamente maior ($p < 0,03$) somente daquela dos controles ($72,2 \pm 46,2$ nmol/h/mL). Os pacientes CTTM apresentaram uma V_{máx} de $7308,7 \pm 3193,8$ nmol/h/mL.

Km

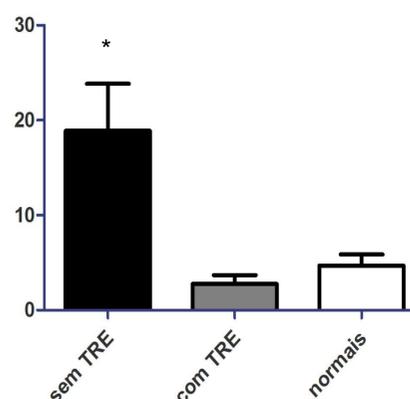


Fig.1. Constante de Michaelis (Km) da QT no plasma de pacientes sem TRE, com TRE e indivíduos normais. * Significativamente maior ($p < 0,0001$), que aquela de pacientes com TRE e indivíduos normais.

Vmax

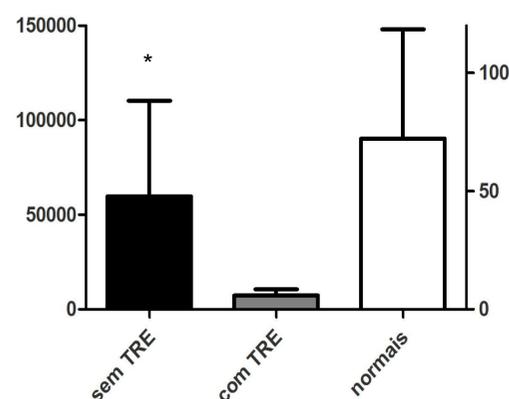


Fig.2. Velocidade Máxima (V_{máx}) da QT no plasma de pacientes sem TRE, com TRE e indivíduos normais. * Significativamente maior ($p < 0,03$), que aquela de indivíduos normais.

Conclusão

Baseado nos resultados bioquímicos encontrados, nossos resultados podem ser importantes na identificação dos pacientes com DG em uma população de alto risco além de auxiliar no tratamento da DG.