



Caracterização bioquímica da enzima alfa-glicosidase ácida em leucócitos de indivíduos saudáveis e pacientes com Doença de Pompe.

Introdução

A enzima alfa-glicosidase ácida (GAA) é uma hidrolase lisossômica que degrada a molécula de glicogênio. Quando a atividade da GAA é deficiente, ocorre um acúmulo intralisossomal de glicogênio em numerosos tecidos, especialmente cardíaco e esquelético. A deficiência da GAA, associada aos sinais clínicos decorrentes do depósito de glicogênio, caracteriza a Doença de Pompe (PD).

O diagnóstico para PD é realizado através da medida da atividade da GAA usando o substrato sintético fluorimétrico 4-metilumbeliferil- α -D-glicopiranosídeo (4-MUG) em células sanguíneas e tecidos ou por análise da mutação gênica.

Sabendo-se da necessidade de diagnóstico precoce da PD a fim de tornar o tratamento mais eficaz e melhorar a qualidade de vida do paciente, da importância e dificuldade do diagnóstico bioquímico da PD, o objetivo deste trabalho foi caracterizar as propriedades bioquímicas e cinéticas da enzima α -glicosidase ácida em amostras de leucócitos totais e determinar a precisão da técnica através dos coeficientes de variação.

Objetivo

O objetivo deste trabalho foi caracterizar as propriedades bioquímicas e cinéticas da enzima α -glicosidase ácida em amostras de leucócitos totais e determinar a precisão da técnica através dos coeficientes de variação.

Metodologia

Foram utilizadas amostras de leucócitos, de controles saudáveis e pacientes com DP, nas quais realizamos a medida da atividade da enzima alfa-glicosidase ácida segundo Li *et al*, 2004. Comparamos a atividade da GAA entre controles saudáveis e pacientes com doença de Pompe e caracterizamos seu comportamento em termos de pH ótimo, Km e Vmax. Além disso, estabelecemos valores de coeficiente de variação (CV) para a GAA em leucócitos.

Resultados

Os resultados mostraram algumas diferenças significativas no comportamento da GAA entre os dois grupos. O Km e a Vmax da enzima (Fig. 1) em indivíduos normais (Km=5,6mM e Vmax=11,4nmol/h/mgprot) foram significativamente maior ($p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente) que aquele do grupo PD (Km=1,5mM e Vmax=0,4nmol/h/mgprot). O pH ótimo da GAA (Fig. 2) de indivíduos normais (pH=4,0) foi semelhante aquele dos PD (pH=4,4). Os CV observados foram: interensaio (9%), intraensaio (5%) e interpessoal (7%).

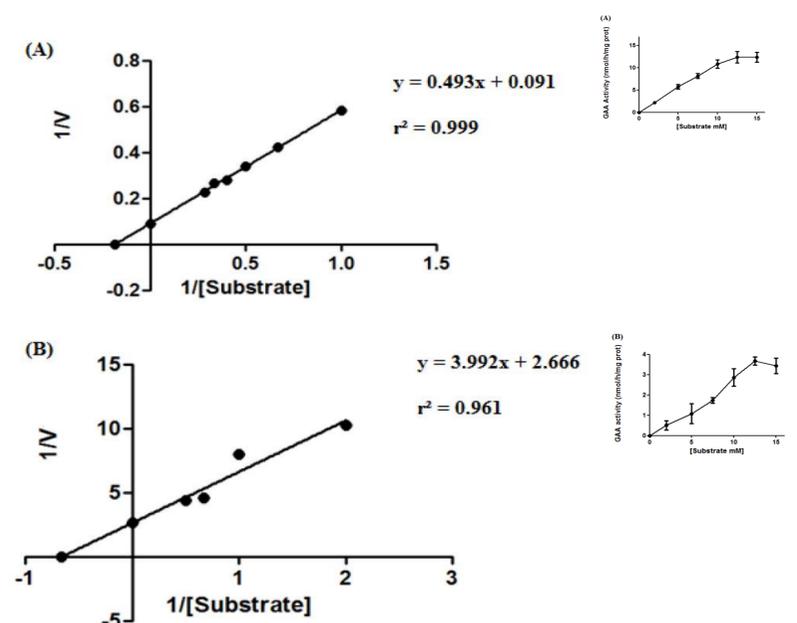


Figura 1 – Plot de Lineweaver-Burk da enzima GAA em leucócitos de controles saudáveis (A) e pacientes com Doença de Pompe (B), para determinação do Km e Vmax. S = substrato (mM); V = velocidade (nmol/h/mgprot).

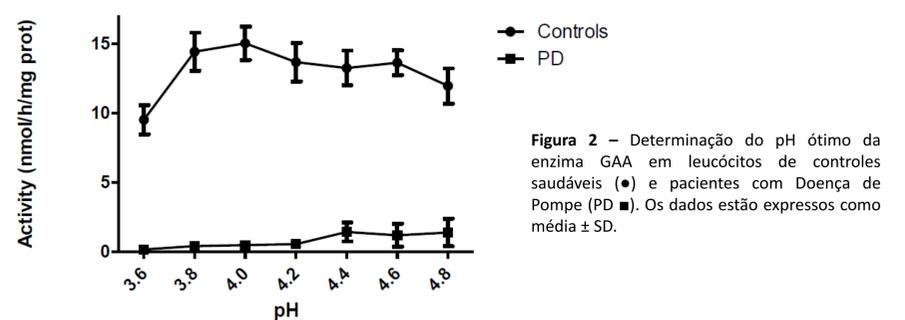


Figura 2 – Determinação do pH ótimo da enzima GAA em leucócitos de controles saudáveis (●) e pacientes com Doença de Pompe (PD ■). Os dados estão expressos como média \pm SD.

Conclusão

Nossos resultados demonstram que os parâmetros analisados podem ser úteis na diferenciação entre indivíduos normais e pacientes com doença de Pompe, principalmente nos casos em que somente a medida da atividade da GAA não é confiável para o estabelecimento do diagnóstico da doença.