

026

IMUNOREVELAÇÃO DE GLICOSILCERAMIDA EXTRAÍDA E PURIFICADA DE PLASMA SANGÜÍNEO DE PACIENTES COM DOENÇA DE GAUCHER. André Petry, Maria Viviane*Gomes Muller, Kristiane Michelin, Maria Luiza Saraiva Pereira, Janice Carneiro Coelho, Vera Maria Treis Trindade (orient.) (UFRGS).*

Doença de Gaucher (DG) é uma esfingolipidose causada por mutações no gene da b-glicosidase, ocasionando depósito lisossomal de glicosilceramida, principalmente nas células do sistema mononuclear fagocitário. O diagnóstico da DG é, normalmente, confirmado pela determinação enzimática e/ou pela caracterização molecular, cujos custos são elevados. O objetivo deste trabalho foi padronizar a detecção química e a imunorevelação de glicosilceramida, previamente, extraída e purificada de plasma de pacientes com DG. Uma alíquota de plasma foi tratada com clorofórmio:metanol. Este extrato lipídico foi submetido, seqüencialmente, a uma coluna de ácido silícico, à metanólise alcalina e a uma coluna Sep-Pak C18. Desta coluna resultaram os eluatos C:M:água (3:48:47) e (60:30:4, 5). A análise destes eluatos por cromatografia em camada delgada de alta resolução e com revelação química ($\text{CuSO}_4/\text{H}_3\text{PO}_4$) mostrou que ambos continham uma banda com velocidade de migração semelhante a do padrão de glicosilceramida, porém com intensidades diferentes. A confirmação da identidade destas bandas foi realizada por imunorevelação usando um anticorpo primário de coelho anti-glicosilceramida humana, seguido de um anticorpo secundário de cabra anti-IgG de coelho, conjugado com peroxidase. A visualização final foi realizada pela adição de peróxido de hidrogênio e alfa-naftol tamponado. Após ajustes na purificação de glicosilceramida numa única fração, esta metodologia poderá ser utilizada como diagnóstico complementar e como monitoramento do tratamento da DG.