

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

Garcia, C.S.; Goldim, M.; Coelho, J.C.

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  $\beta$ -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  $K_m$  e velocidade máxima ( $V_{m\acute{a}x}$ ) da QT em plasma de indivíduos normais, pacientes DG sem tratamento (STTM) e pacientes DG com tratamento (CTTM). A medida da QT foi determinada usando o substrato artificial 4-metilumbeliferil- $\beta$ -D-N-N'-N'-N'-triacetilquitotriosídeo em diferentes concentrações de substrato (1,25- 7,25 $\mu$ 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 espectofluorímetro. O  $K_m$  da QT no plasma de pacientes STTM ( $18,9 \pm 4,9$  uM) foi significativamente maior ( $p < 0,0001$ ), que aquele de pacientes CTTM ( $2,76 \pm 0,93$  uM) e dos controles ( $4,68 \pm 1,18$  uM). Já a  $V_{m\acute{a}x}$  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  $V_{m\acute{a}x}$  de  $7308,7 \pm 3193,8$  nmol/h/mL. 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 desta doença.