

099

PADRONIZAÇÃO DA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA ENZIMA 5A-REDUTASE EM BIÓPSIAS DE PRÓSTATA HUMANA. Francine Muraro, Walter José Koff, Vera Maria Treis Trindade (orient.) (UFRGS).

A testosterona (T) é reduzida, através da enzima 5a-redutase (EC 1.3.99.5), a diidrotestosterona (DHT), um dos principais andrógenos com ação na próstata. Duas isoformas da 5a-redutase foram identificadas: a 5a-red1 (pH 6-8, 5) presente, principalmente, na pele e no fígado e a 5a-red2 (pH=5), encontrada nas células prostáticas. Este estudo visa a padronização da metodologia de dosagem da enzima 5a-redutase em biópsias prostáticas humanas. As estruturas são pesadas e homogeneizadas. A atividade enzimática é determinada num sistema de incubação contendo tampão pH 7, 0 (isoenzima 5a-red1), e tampão pH 5, 0 (isoenzima 5a-red2), NADPH, [4-¹⁴C] Testosterona. A reação inicia com a adição do homogeneizado, ocorrendo por um período determinado, a 37°C, sendo interrompida com acetato de etila. A fase orgânica é evaporada sob atmosfera de nitrogênio. O resíduo é suspenso em acetato de etila e seus componentes separados por cromatografia em camada delgada (silica gel 60F₂₅₄ Merck), usando como fase móvel, acetato de etila:benzeno (2:1). Os componentes radioativos são revelados por autorradiografia e os padrões identificados através de lâmpada UV. As bandas associadas a T e a DHT são raspadas da placa e a radiatividade avaliada por cintilação líquida. A quantidade de proteína enzimática e a concentração de substrato para a avaliação da atividade das isoformas da 5a-redutase consideradas ideais foram 100 mg e 1, 4 mM, respectivamente. A 5a-red2 apresentou uma certa linearidade com o tempo de incubação. Uma vez estabelecida a técnica, pretende-se utilizar a atividade desta enzima como um possível parâmetro que aumente a sensibilidade do diagnóstico das patologias de próstata como o câncer e a hiperplasia benigna, permitindo a antecipação dos seus tratamentos. (PIBIC).