

CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DA ENZIMA QUITOTRIOSIDASE EM PLASMA DE INDIVÍDUOS NORMAIS ATRAVÉS DA DETERMINAÇÃO DO K_M , V_{MAX} , TERMOESTABILIDADE E pH ÓTIMO DA ENZIMA. *Alessandro Wajner, Kristiane Michelin, Maira G. Burin, Roberto Giugliani, Janice C. Coelho.* (Serviço de Genética Médica, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, UFRGS).

A quitotriosidase é uma quitinase secretada por macrófagos ativados do organismo. Esta enzima pode ter valores aumentados em algumas doenças lisossômicas de depósito (DLDs) principalmente na Doença de Gaucher, no qual é utilizada como auxiliar no diagnóstico e acompanhamento terapêutico dos pacientes. Nosso trabalho tem o intuito de estabelecer os valores normais da enzima quitotriosidase de plasma de indivíduos normais. Além disso, como não é descrito na literatura, caracterizamos bioquimicamente a quitotriosidase em plasma de indivíduos normais através da determinação do seu K_M , V_{max} , pH ótimo e termoestabilidade. Para a medida da atividade utilizou-se 50 μ L de plasma e o substrato artificial 4-metilumbelliferil- β -D-NN'N"-triacetilquitotrioside (Hollack et al, 1994). A média da atividade da enzima foi de 40,74 \pm 28,66nmol/h/mL, o pH ótimo foi 5,17 \pm 0,36nmol/h/mL e após 15 e 25 minutos a 60°C de incubação sua atividade residual foi de 46,89 \pm 11,19 e 42,32 \pm 11,68 respectivamente. O K_M e a V_{max} foram subdivididos em dois grupos: no grupo 1 (atividade da quitotriosidase menor que 50 nmol/h/mL) o K_M foi 4,1 \pm 1,5nM e a V_{max} de 46,31 \pm 29 e no grupo 2 (atividade da quitotriosidase maior que 50nmol/h/mL) o K_M foi 6,0 \pm 1,3nM e $V_{m\acute{a}x}$ de 144,5 \pm 54. A atividade da quitotriosidase varia muito dentro da população normal, o que pode ser devido a presença de isoenzimas. Continuaremos caracterizando a enzima de indivíduos com Doença de Gaucher ou Nieman-Pick o que poderá auxiliar no acompanhamento destas doenças. (Genzyme do Brasil, GPPG/HCPA)