



DOENÇA DE GAUCHER: MINIATURIZAÇÃO DA TÉCNICA DA MEDIDA DA ATIVIDADE DA BETA-GLICOSIDASE E QUITOTRIOSIDADE PADRÃO OURO EM LEUCÓCITOS/PLASMA E SANGUE IMPREGNADO EM PAPEL FILTRO COMO FORMA DE TRIAGEM

GARCIA, Cristina da Silva¹; GOLDIM, Mariana Pereira de Souza¹; COELHO, Janice Carneiro¹

1) Laboratório de Erros Inatos do Metabolismo - Doenças Lisossômicas de Depósito, Departamento de Bioquímica, ICBS, UFRGS.
garcia.cs7@gmail.com

Introdução

A Doença de Gaucher (DG) é a Doença Lisossômica de Depósito mais comum com prevalência mundial de 1:50000 indivíduos. A Doença de Gaucher é causada pela deficiência de beta-glicosidase (GBA), gerando o acúmulo de glicosilceramidas nos lisossomos, que causa vários sintomas aos pacientes como anormalidades esqueléticas, comprometimento do sistema nervoso, acúmulo de lipídeos complexos nos tecidos e disfunções orgânicas como hepatoesplenomegalia, anemia progressiva, trombocitopenia e leucopenia. Outra enzima relacionada a DG é a quitotriosidase (QT), cuja atividade está aumentada. Atualmente o diagnóstico padrão ouro é feito através da medida da atividade da GBA em leucócitos e da QT em plasma. Neste trabalho propomos a miniaturização das técnicas em sangue impregnado em papel filtro (SPF) da GBA e QT como forma de triagem e a miniaturização da GBA em leucócitos como forma de confirmação do diagnóstico. Estabelecemos também, novos valores de referência e ponto de corte para estas técnicas.

Materiais e Métodos

As técnicas miniaturizadas foram realizadas e lidas em placas de 96-poços e foi mantida a relação entre os reagentes. As técnicas em SPF foram miniaturizadas de Civallero et al (2006) e em leucócitos de Peters et al (1976).

Conclusão

Este estudo mostrou que a miniaturização das técnicas em SPF e leucócitos se mostraram eficientes para a detecção de novos pacientes para DG em população de alto-risco, assim reduzindo os custos e a quantidade de amostra para o diagnóstico.

Resultados

As miniaturizações foram consideradas válidas, com $r > 0,70$ e $p < 0,001$, por correlação de Pearson com as técnicas originais.

Os novos valores de referência e ponto de corte para as técnicas miniaturizadas estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Valores de Referência das Técnicas em SPF e leucócitos

| Enzima | Amostra | Atividade Enzimática | Ponto de Corte |
|--------------------|---------------------|----------------------|----------------|
| GBA* (SPF) | Pacientes com DG | 0 – 2,5 | 2,77 |
| | Controles Saudáveis | 3,04 – 7,09 | |
| QT* (SPF) | Pacientes com DG | 38,04 - 2249 | 46,10 |
| | Controles Saudáveis | 0 – 44,51 | |
| GBA** (Leucócitos) | Pacientes com DG | 0 – 5,03 | 6,52 |
| | Controles Saudáveis | 8,01 – 35,63 | |

* Atividade enzimática expressa em nmol/h/mL.

** Atividade enzimática expressa em nmol/h/mg de proteína.

Após padronizadas as miniaturizações, uma amostra de 274 indivíduos de alto risco para DG foi triada com estas técnicas. 13,5% desta amostra foi confirmada com DG (Figura 1).

Triagem de população de alto-risco

