

LysoGI1 e LysoGb3: Biomarcadores para o diagnóstico e follow-up da Doença de Gaucher e Fabry

Introdução

As Doenças Lisossomais de Sobrecarga (DLSs), conjunto de patologias crónicas, multissistémicas, com modo de apresentação e gravidade muito variáveis, afetam 1:5000 nados vivos. As esfingolipidoses, é o sub-grupo mais prevalente das DLSs, onde se encontra incluída a Doença de Gaucher (DG) e a Doença de Fabry (DF). Na DG, ocorre a acumulação de glucosilceramida devido à deficiência enzimática em β -glucocerebrosidase e no caso de DF, devido a um défice enzimático em α -galactosidase A, ocorre a acumulação em globotriosilceramida. No entanto, em ambos os casos, parte do produto primário de acumulação, é convertido na respectiva base esfingoide, que se encontra bastante elevada: glucosilefingosina (LysoGI1) e globotriosilefingosina (LysoGb3), no caso de DG e DF, respectivamente. Estes liso-lípidos, igualmente envolvidos na evolução da patologia, por vezes já se encontram aumentados, mesmo antes do aparecimento dos primeiros sintomas. Pela primeira vez em Portugal, é disponibilizado o estudo pioneiro destes biomarcadores para as DLSs, para melhor estudo e compreensão destas patologias.

Métodos

A quantificação dos biomarcadores faz-se de através da tecnologia de espectrometria de massa em tandem (MS/MS). Resumidamente, o internal standart (IS), Liso-Lactosilceramida é adicionado a todas as amostras para posterior quantificação dos liso-lípidos. Após precipitação da proteína com clorofórmio:metanol, são realizados um passo de extração e dois de lavagem, com a mistura de clorofórmio:metanol:água. Uma vez que os liso-lípidos são hidrofílicos, os diferentes sobrenadantes são colectados para o mesmo eppendorf e posteriormente secos sob corrente de azoto. O pellet seco é reconstituído em metanol e analisado no MS\MS Qtrap 4000. A quantificação dos dois-lisolípidos é feita com recurso ao IS adicionado no início,

Resultados

As bases esfingoides, os denominados liso-lípidos, são compostos biológico residuais na população em geral. O seu aparecimento ocorre quando se verifica uma interrupção na cadeia catabólica de um determinado lípido. No caso da Doença de Fabry, verifica-se a acumulação de Liso-globotriosilceramida, proveniente da de-acilação da globotriosilceramida (Figura 1A). No entanto, como se trata de uma doença de transmissão ligada ao cromossoma X, as mulheres podem apresentar desde valores elevados a valores perfeitamente normais, tal como acontece com a actividade enzimática da enzima responsável pela patologia, a α -galactosidase A. Os homens afectados, apresentam valores aumentados de LisoGb3. No Figura 1A, os doentes apresentados, usados para validação da técnica, já se encontram em terapia, tendo valores ligeiramente aumentados, sendo um bom indicador da eficácia da terapia, se no seu estado "naive" apresenta-se valores superiores. No caso da Doença de Gaucher, a acumulação da glucosilceramida, conduz a um aumento do LisoGI1 (Figura 1B). Em ambos os casos, a presença de estes biomarcadores na circulação sanguínea, tem um papel preponderante no curso e evolução da patologia.

Conclusão

O estudo pioneiro destes biomarcadores para as referidas doenças, através da tecnologia de espectrometria de massa em tandem (MS/MS), permite um estudo mais aprofundado e uma melhor compreensão da patologia em questão. A disponibilização desta metodologia permitirá um diagnóstico atempado, uma melhor compreensão da evolução da doença e monitorização da eficácia do respetivo tratamento. A importância e especificidade destes biomarcadores biológicos, conduzirá ao uso de outros liso-lípidos para estudo e compreensão de outras patologias lisossomais, nomeadamente Niemann-Pick, Krabbe e Lipase Ácida.