XXXII Encontro Anual de Iniciação Científica
IX Encontro Anual de Iniciação Científica Jr.
EAIC 2023

DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA ELETROQUÍMICO PARA DETECÇÃO DA PROTEÍNA PPT1 PARA DIAGNÓSTICO DE LIPOFUSCINOSE CERÓIDE NEURONAL DO TIPO 1 (LCN1)

Jhenifer Bueno C. da Rosa (PIBIC/FA)[1], Tayna P. Jacinto[1], Felipe Zahrebelnei[2], Karen Wohnrath[2], Juliana Inaba[2] (Orientador), e-mail: jhenifer.bcr@gmail.com; jinaba@uepg.br.

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Farmácia[1], Departamento de Química[2].

Área: Ciências Exatas e da Terra; e subárea do conhecimento: Química.

Palavras-Chave: *Imunossensor, PPT1, LCN1.*

Resumo

A LCN1 é um distúrbio degenerativo genético de característica progressiva e irreversível, devido a deficiência enzimática de PPT1 funcional. É um distúrbio raro, com baixa incidência, e de difícil diagnóstico. Os imunossensores eletroquímicos surgem como alternativa diagnóstica para a detecção da enzima PPT1, de forma quantitativa, precisa, rápida e de baixo custo.

Introdução

Lipofuscinose ceroide neural (LCNs) é um grupo de distúrbios caracterizados pelo acúmulo de lipopigmentos em lisossomos, causando neurodegeneração. A LCN infantil se caracteriza pela mutação no gene CLN1;1p32, o qual codifica a enzima Palmitoil Tioesterase 1 (PPT1), levando a uma expressão de uma enzima inativa, e acúmulo de seu substrato. Como consequência, ocorre a degeneração tecidual. A detecção dos portadores da mutação é essencial para o planejamento familiar e intervenção medica precoce, no sentido de retardar os efeitos clínicos observados. Uma alternativa diagnóstica, visando um diagnóstico precoce, é a utilização de imunossensores eletroquímicos, capazes de detectar a interação antígeno-anticorpo (Ag, Ac), e com esta interação, variações de sinais eletroquímicos do sistema são registradas, identificando a presença do analito. Esse sistema é vantajoso dado ao baixo custo, a sua eficiência e sensibilidade.[1,2]

Materiais e Métodos

A construção do imunossensor foi baseada na modificação de eletrodos de carbono, oxidados por voltametria cíclica em meio de H_2SO_4 0,5molL-1, tratados com EDC 100 mmolL-1 e NHS 50 mmol L-1, modificados com moléculas de proteína A 1:500, seguida da imobilização de anticorpos monoclonais IgG anti-PPT1 1:750 e BSA 0,05%. Para os ensaios de detecção, foi utilizado o seu antígeno PPT1 em diferentes concentrações e a interação Ag/Ac avaliadas por Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIE) na presença de 5,0 mmolL-1 $K_4[Fe(CN)]_6/K_3[Fe(CN)]_6$.

Resultados e Discussão

O diagrama de Nyquist, (Figura 1) obtidos através de EIE, evidenciaram a detecção de PPT1 pelo imunossensor construído, sendo observado um aumento da resistência de transferência de carga (Rct) conforme o aumento da concentração de PPT1. Com os valores de ΔRct, foi construída uma curva analítica, de equação da reta Y = 11,724x+101,89 e um R^2 = 0,9979, indicando linearidade em relação ao ΔRct e à concentração de PPT1. Os resultados mostram que o imunossensor pode ser utilizado para a quantificação das concentrações de PPT1.

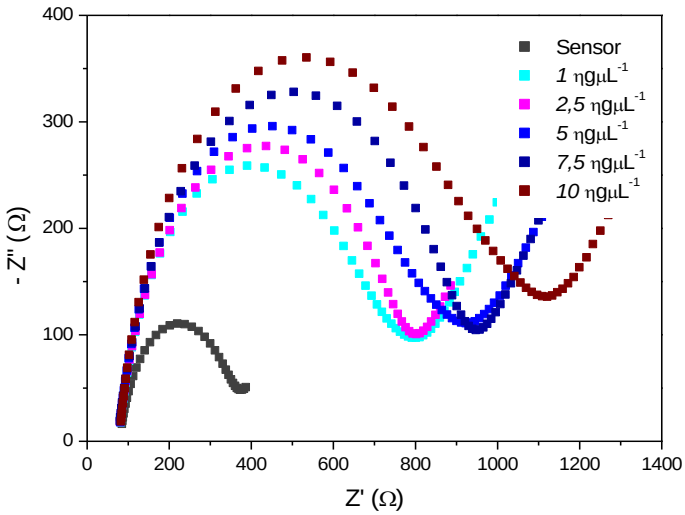


Figura 1. Diagrama de Nyquist obtidos em meio de $K_4[Fe(CN)]_6/K_3[Fe(CN)]_6$ 5,0 $mmolL^{-1}$, em um potenciostato /gasvanostato Metrohm Autolab® M204 controlado pelo software Nova® 2.1.

Conclusão ou Conclusões

O imunossensor apresentou alta sensibilidade e uma resposta dose-dependente, possuindo resultados promissores para a sua aplicação para o diagnóstico da LCN1.

Agradecimentos

A FA, a UEPG, ao GDEM, e a *Collaborations Pharmaceuticals*.

[1] GAMA, Rômulo et al. Lipofuscinose ceróide neural: Achados clínicos e neurorradiológicos. **Arq. Neuropsiquiatr**, p. 320-326, 2007.

[2] SANTANA, Luana Kelly Lima; RICARDO, Philipi Cavalcante; SERUDO, Ricardo Lima; LASMAR, Michella Lima; SANTOS, Maria Cristina dos. Imunossesnsores eletroquimicos e suas aplicações. *Scientia Amazonia*, v. 6, ed. 1, p. 31-37, 2017.