

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
MESTRADO EM BIOQUÍMICA



ATIVIDADE ANTITUMORAL DE LECTINA DE
Cratylia mollis ENCAPSULADA EM
LIPOSSOMAS

CÉSAR AUGUSTO SOUZA DE ANDRADE

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Nereide Stela Santos Magalhães

RECIFE

2003

César Augusto Souza de Andrade

**ATIVIDADE ANTITUMORAL DE LECTINA DE
Cratylia mollis ENCAPSULADA EM LIPOSSOMAS**

Dissertação apresentada para o
cumprimento parcial das exigências
para obtenção do título de Mestre em
Bioquímica pela Universidade Federal
de Pernambuco

Aprovado por:

Prof. Dra. Nereide Stela Santos Magalhães (Presidente)

Prof. Dr. Luiz Bezerra de Carvalho, UFPE

Prof. Dr. José Luiz de Lima Filho, UFPE

Prof. Dr. Eryvaldo Sócrates Tabosa do Egito, UFRN

Data: 27 / 02 / 2003.

ÍNDICE ANALÍTICO

	Página
AGRADECIMENTOS	III
LISTA DE FIGURAS	IV
LISTA DE TABELAS	IV
RESUMO	V
ABSTRACT	VI
INTRODUÇÃO	1
FOSFOLIPÍDIOS	1
LIPOSSOMAS	4
LECTINAS	14
OBJETIVOS	21
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22
ARTIGO	28
CONCLUSÕES	55

Ao meu pai, *In memoriam*, José Augusto, dedico a minha vitória.

AGRADECIMENTOS

Durante o caminho de um curso encontramos diversas dificuldades. É nesses momentos que recorremos a ajuda de amigos, colegas e familiares. A estas pessoas que admiro, prezo e tenho carinho, só tenho a agradecer por ter tido o privilégio de ter contato com elas...

A Deus, por sua presença forte em alguns momentos de fraqueza, cobrindo-me com seu manto de amor...

À Profa. Dra. Nereide Magalhães que me apoiou, estando excepcionalmente em todos os momentos me orientando. Palavras não são suficientes para expressar minha sincera gratidão.

Às Profas. Dras. Tereza Correia e Luana Coelho agradeço as suas construtivas discussões.

À minha mãe, que me encaminhou desde os primeiros passos de minha vida, conduzindo-me com amor e coragem, mostrando que devemos perseguir os sonhos.

A Luciana, minha irmã, psicóloga, por fazer parte dos que me encorajaram e incentivaram nesta minha estrada, juntamente com meus dois sobrinhos Camillinha e Marcellinho que animaram meus estudos.

À minha tia Rita pelo carinho e pelo enorme apoio.

À minha avó Lúcia, que inúmeras vezes rezou pela minha paz e perseverança.

A Danielly, minha namorada, pela sua compreensão e participação, apoiando-me e sempre me incentivando a continuar.

Às Profas. Noêmia Santos e Silene Nascimento, que sem elas não seria possível a realização dos testes tumorais.

A Carmelita Cavalcanti e Mario Melo Júnior pela sua amizade e ajuda nas análises histopatológicas.

Aos estagiários Robson da Silva e Ricardo Cordeiro que muito me ajudaram nesta pesquisa.

Ao Prof. Samuel Daniel pelas fotos concedidas em seu laboratório.

Aos amigos do LIKA Roseane, Simone, Hercília, Jaqueline, Dayse, Agenor, Marcela, Daniele, Givanildo, Luciana, Raquel, Ian e Alexandre.

Aos meus amigos da turma de mestrado Val, Graça, Flávia, Heberly, Sérgio, Nadejda, Janaína, Sílvia, Kid pela amizade e por todo apoio e incentivo.

Aos funcionários do Departamento de Bioquímica, em especial Maria Reis, Miron e Neide.

Ao CNPq e CAPES-COFECUB pelo apoio e suporte para realização desta tese.

LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1 – ESTRUTURAS LIPÍDICAS	2
FIGURA 2 – MEMBRANA PLASMÁTICA	3
FIGURA 3 – MÉTODO DE PREPARAÇÃO	9
FIGURA 4 – FOTOGRAFIA DO FEIJÃO CAMARATU	16
FIGURA 5 – MODELO DE MONÔMERO	16
FIGURA 6 – LIGAÇÃO DE CARBOIDRATOS	19

LISTA DE TABELAS

	Página
TABELA 1 – PRINCIPAIS FOSFOLIPÍDIOS	1
TABELA 2 – VARIEDADES DE LIPOSSOMAS	5
TABELA 3 – MÉTODOS DE PREPARAÇÃO	10

RESUMO

O presente trabalho investiga o perfil de cinética de liberação *in vitro* e atividade antitumoral *in vivo* dos lipossomas contendo lectina de *Cratylia mollis* (Cra). Os lipossomas foram preparados de acordo com o método de formação de filmes finos. Um estudo prévio foi realizado para avaliar o efeito das condições de preparação dos lipossomas na atividade hemaglutinante da Cra. A caracterização físico-química e estabilidade a longo-prazo de lipossomas contendo Cra foram também realizados. Os lipossomas selecionados foram compostos de fosfatidilcolina, colesterol e estearilamina na proporção molar de 7:2:1. Os ensaios da cinética *in vitro* da Cra encapsulada em lipossomas foram realizados pela técnica de ultrafiltração-ultracentrifugação. A atividade antitumoral de Cra-lipossomas foi investigada contra o Sarcoma-180. Os animais foram tratados com lipossomas contendo Cra e as análises histopatológicas do tumor, fígado e rins foram avaliados após o tratamento. Os resultados demonstraram que lipossomas contendo Cra conseguiram uma taxa de encapsulação de 84% e uma inibição do tumor de 71%. A análise histopatológica revelou que a encapsulação da Cra em lipossomas protege o fígado e os rins do infiltrado linfocitário e reduz as áreas de necrose nos tumores tratados. A encapsulação da Cra-lectina em lipossomas é, portanto, oferecida como uma possibilidade para reduzir a toxicidade tecidual e aumentar a atividade antitumoral da proteína.

ABSTRACT

The present work investigates the *in vitro* kinetic profile and the *in vivo* antitumoral activity of liposomes containing *Cratylia mollis* lectin (Cra). Liposomes were prepared according to the thin film formed method. A previous study was undertaken to evaluate the effect of liposomes preparation conditions on Cra hemmaglutinating activity. Physicochemical characterization and long-term stability of Cra-loaded liposomes were also carried out. Liposomes selected were composed of phosphatidylcholine , cholesterol and stearylamine in the molar ratio of 7:2:1. *In vitro* kinetics assays of encapsulated Cra were performed by ultrafiltration-ultracentrifugation technique. Cra antitumoral activity was investigated against Sarcoma-180. Animals were treated with Cra-loaded liposomes and histopatological analysis of tumor, liver and kidneys were carried out after treatment. Results demonstrated that Cra-loaded liposomes achieve 84% encapsulation ratio and 71% tumor inhibition. Histopathological analysis revealed that encapsulation of Cra into liposomes protects liver and kidney from limphocitary infiltration and reduces necrosis areas on treated tumors. Encapsulation of Cra lectin into liposomes is, therefore, offered as an issue to reduce tissue toxicity and improve antitumoral activity of such protein.