

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

MESTRADO EM BIOQUÍMICA

**AVALIAÇÃO DO ÉSTER DE ACRIDINA COMO MARCADOR
CONJUGADO À LECTINA EM HISTOQUÍMICA**

LILIA DE MOURA CAMPOS

RECIFE, 2004

LILIA DE MOURA CAMPOS

**AVALIAÇÃO DO ÉSTER DE ACRIDINA COMO MARCADOR
CONJUGADO À LECTINA EM HISTOQUÍMICA**

**Dissertação apresentada ao Mestrado em
Bioquímica do Centro de Ciências Biológicas
da Universidade Federal de Pernambuco
como requisito parcial para obtenção do
título de Mestre em Bioquímica.**

ORIENTADOR: PROF. DR. LUIZ BEZERRA DE CARVALHO JÚNIOR

CO-ORIENTADOR: DR. EDUARDO ISIDORO CARNEIRO BELTRÃO

RECIFE, 2004

LÍLIA DE MOURA CAMPOS

**AVALIAÇÃO DO ÉSTER DE ACRIDINA COMO MARCADOR
CONJUGADO À LECTINA EM HISTOQUÍMICA**

Aprovado por:

Prof. Dr. Luiz Bezerra de Carvalho Júnior (orientador)

Profa. Dra. Maria Tereza Correia dos Santos, UFPE

Profa. Dra. Maria das Graça C. Cunha., UFPE

Profa. Dra. Socorro Cavalcante, UPE

Data da Defesa: 27/02/2004

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Doutor Luiz Bezerra de Carvalho, pela orientação científica e inspiração durante este caminhar.

Ao Prof. Doutor Eduardo Beltrão, por sua co-orientação e dedicação a visão científica do nosso trabalho.

A todos professores, alunos e funcionários do Departamento de Bioquímica da UFPE especialmente a Ian, Miron e Neide.

Ao Dr. Sérgio Magalhães do Laboratório Marcelo Magalhães que tornou possível a realização do experimento, com colaboração de Expedito Xenofonte Brito e Marileide P. Oliveira.

A Fernando Araripe de Macedo da Análise Produtos e Serviços para Laboratório, pelo apoio técnico.

A todos os que fazem o Setor de Patologia do LIKA em especial à Carmelita L.B. Cavalcanti.

À Sra. Silvana Tavares Paz, do Mestrado de Anatomia Patológica – Hospital das Clínicas, pela colaboração técnica.

SUMÁRIO

	PÁGINA
AGRADECIMENTOS	I
SUMÁRIO	II
RESUMO	III
ABSTRACT	IV
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 LECTINAS. GENERALIDADES	1
1.2 HISTOQUÍMICA COM LECTINAS	2
1.3 CÂNCER	3
1.4 ENSAIOS QUIMILUMINESCENTES	5
2 RELEVÂNCIA DO TRABALHO	7
3 OBJETIVOS	8
4 ARTIGO CIENTÍFICO	9
5 CONCLUSÕES	20
6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	21
7 ANEXO	29

RESUMO

Transformações neoplásicas apresentam modificações na composição e distribuição de oligossacarídeos da superfície celular de glicoproteínas e glicolipídeos, a partir desta característica, lectinas vêm sendo utilizadas como sondas no auxílio de diagnósticos histopatológicos de tecidos de mama, útero e cérebro, entre outros. Quimiluminescência é uma técnica que possui baixos limites de detecção e amplas faixas dinâmicas. O éster de acridina vem sendo utilizado em sistemas quimiluminescentes para imunodiagnóstico conjugado a anticorpos. Neste trabalho, o éster de acridina foi conjugado à Concanavalina A (Con A) e empregado como marcador histoquímico quimiluminescente. Foram utilizados tecidos mamários humanos normais e diagnosticados como carcinoma ductal infiltrante (CDI). Na metodologia utilizada a emissão de fótons, durante a hidrólise do éster de acridina conjugado à Con A, que foi quantificada, expressada em unidade relativas de luz (URL) e correlacionada com a marcação do tecido, normal ou transformado. Os resultados encontrados demonstraram uma proporcionalidade de URL com a intensidade de marcação dos tecidos estudados. Os valores de URL para o tecido mamário normal ($2,565 \times 10^3 \pm 0,247 \times 10^3$) foram inferiores aos obtidos para o CDI ($1.283,920 \times 10^3 \pm 220,621 \times 10^3$). A eficiência da conjugação da lectina ao éster de acridina, a marcação diferenciada do tecido normal e CDI, e a quantificação dos resultados obtidos contribuem para diminuir a subjetividade no diagnóstico histopatológico de rotina e possibilitam o emprego do éster de acridina como marcador de lectinas para uso em histoquímica.

ABSTRACT

Neoplastic cell transformations present differences in the composition and distribution of oligosaccharides in cell surface glycoproteins and glycolipids. Lectins have been used as auxiliary tools in histopathologic diagnosis to mammary, uterus and brain tissues, for example. Chemiluminescence is a technique with low detection threshold and large dynamic spectrum. Acridinium ester (AE) conjugated to antibodies has been employed in chemiluminescent systems to immunodiagnosis. The present work aimed to conjugate AE to Concanavalin A (Con A) and use it as chemiluminescent histochemistry tool. Biopsies of normal and transformed, infiltrating duct carcinoma (IDC), mammary tissues were used. Photon emission, observed during the breakage of the chemical bound between Con A and AE, was quantified, expressed in relative light units (RLU) and correlated to the labeling of the normal and transformed tissues. Results demonstrated that there is RLU proportionality with the labeling. RLU to normal tissue ($2,565 \times 10^3 \pm 0,247 \times 10^3$) were lower than to IDC ($1.283,920 \times 10^3 \pm 220,621 \times 10^3$). Con A-AE conjugation efficiency, differential staining of normal and IDC tissues, and quantification of results contribute to decrease the subjectivity in routine histopathologic diagnoses and indicate that acrydinium ester can join other lectin marker to be used in histochemistry.