

Detecção eletroquímica da Proteína C Reativa para a estratificação de risco cardiovascular

Vinícius de R. Rodovalho¹, Anderson J. G. Lemos², João Marcos Madurro³, Ana Graci Brito Madurro⁴.

1. Estudante de Mestrado em Genética e Bioquímica - Universidade Federal de Uberlândia – UFU * rodovalhovr@yahoo.com

2. Mestre em Genética e Bioquímica - Universidade Federal de Uberlândia – UFU

3. Pesquisador – Instituto de Química - Universidade Federal de Uberlândia – UFU

4. Pesquisadora – Instituto de Genética e Bioquímica - Universidade Federal de Uberlândia – UFU

Palavras Chave: *biossensor, aterosclerose, CRP.*

Introdução

A aterosclerose é uma doença inflamatória da parede arterial, caracterizada pela disfunção do endotélio, acúmulo de lipídeos e inflamação vascular, podendo resultar em complicações que incluem o infarto agudo do miocárdio [1]. No Brasil, as doenças cardiovasculares ainda são a principal causa de morte [2]. A proteína C reativa (CRP) é uma pentraxina expressa por hepatócitos em processos inflamatórios. Estudos epidemiológicos demonstraram uma associação entre concentrações crescentes de tal proteína e o risco de eventos cardiovasculares [3, 4]. A CRP é detectada no sangue pelo ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA), imunonefelometria e imunoturbidimetria. Os biossensores apresentam-se como alternativas às tecnologias analíticas tradicionais, por apresentarem vantagens como a especificidade, sensibilidade, rapidez, portabilidade e baixo custo [5]. Neste trabalho, um anticorpo específico para a CRP foi imobilizado sobre a superfície de um eletrodo de grafite modificado com um polímero derivado de 3-aminotiofenol (3-ATF), para o desenvolvimento de um dispositivo de diagnóstico molecular e estratificação de risco cardíaco. Em seguida, foi realizada a detecção do alvo (CRP), após sua aplicação sobre esta superfície.

Resultados e Discussão

Após a modificação dos eletrodos de grafite com o polímero derivado de 3-ATF, o anticorpo (anti-CRP, sonda) foi gotejado sobre esta superfície. Em seguida, para a sua detecção, o antígeno (CRP, alvo) foi adicionado ao sistema. O imunossensor foi investigado utilizando a 4-aminoantipirina (4-AAP) e o par redox ferrocianeto/ferricianeto de potássio [$K_4(Fe(CN)_6)$ / $K_3(Fe(CN)_6)$] como indicadores, na ausência ou presença de CRP (Figuras 1 e 2).

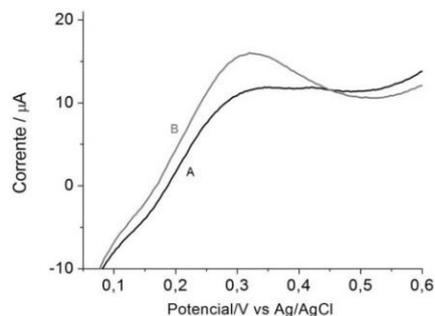


Figura 1. Voltamogramas de pulso diferencial em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ dos eletrodos de grafite modificados com filme polimérico/anticorpo (A) e filme polimérico/anticorpo/antígeno (B).

Na figura 1, os voltamogramas em que foi monitorado o pico de oxidação da 4-AAP (+0,3 V) comprovam a imobilização do anticorpo e posterior

detecção do alvo. A comparação entre os resultados do sistema contendo anticorpo e do sistema contendo anticorpo+antígeno mostra que o pico de oxidação da 4-AAP é maior para o segundo caso, em que o indicador interage com os grupos fenólicos de ambas as biomoléculas.

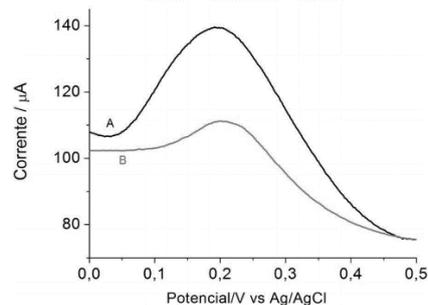


Figura 2. Voltamogramas de pulso diferencial em solução do par redox $K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6$ dos eletrodos modificados com filme polimérico/anticorpo (A) e filme polimérico/anticorpo/antígeno (B).

Na figura 2, os voltamogramas de pulso diferencial foram obtidos a partir do monitoramento do pico de oxidação do indicador redox ferrocianeto/ferricianeto de potássio (+0,2 V). A adição de sucessivas camadas de material biológico (anticorpo e antígeno) dificulta a transferência de elétrons do indicador para o eletrodo modificado, o que resulta em uma menor resposta de corrente e deslocamento para valor de potencial mais anódico. Tais resultados estão de acordo com a literatura científica [6].

Conclusões

Os experimentos realizados comprovam que é possível desenvolver um sistema de detecção de CRP a partir da modificação de eletrodos de grafite com o polímero derivado de 3-aminotiofenol e imobilização do anticorpo anti-CRP (sonda) sobre essa superfície. Os resultados são promissores para o desenvolvimento de dispositivos de diagnóstico e estratificação de risco cardiovascular.

Agradecimentos

Agradecemos à PROPP-UFU, FAPEMIG e CNPq.

[1] LOBATTO, M. E. et al. *Nature Reviews. Drug Discovery*, v. 10, p. 835–852, 2011.

[2] MANSUR, A. de P. e FAVARATO, D. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, v. 99, n. 2, p. 755–761, 2012.

[3] GILSTRAP, L. G. e WANG, T. J. *Clinical Chemistry*, v. 58, n. 1, p. 72–82, 2012.

[4] MONTGOMERY, J. E. e BROWN, J. R. *Vascular Health and Risk Management*, v. 9, p. 37–45, 2013.

[5] WANG, J. *Biosensors & Bioelectronics*, v. 21, n. 10, p. 1887–92, 2006.

[6] HENNESSEY, H. et al. *Analytica Chimica Acta*, v. 643, n. 1-2, p. 45–53, 2009.