

Análise de amostras urinárias de pacientes com câncer de próstata, por espectroscopia raman

Beatriz Miqulino Neto e Maria Helena Bellini
Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN

INTRODUÇÃO

O câncer de próstata (CaP) é um dos tumores malignos mais comuns no sexo masculino. A American Cancer Society estimou que, em 2020, 191.930 casos de CaP foram diagnosticados acarretando 33.330 mortes. [1]. Amostras urinárias apresentam uma fonte importante e promissora de biomarcadores para câncer pois as abordagens de diagnóstico baseadas na urina não são invasivas. [2].

A espectroscopia Raman é uma técnica poderosa e não invasiva usada para estudar uma variedade de amostras, incluindo amostras biológicas. Essa técnica é baseada no fenômeno chamado espalhamento Raman, no qual a luz interage com as moléculas de uma amostra, resultando em um espectro que fornece informações sobre as vibrações moleculares e a estrutura química da amostra. No contexto de amostras biológicas, a espectroscopia Raman pode ser bastante valiosa pois permite a análise moléculas sem a necessidade de extensa preparação de amostras. [3]

OBJETIVO

Analisar amostras de urina de pacientes com Câncer de Próstata (CaP) por meio de espectroscopia RAMAN.

METODOLOGIA

As amostras urinárias foram descongeladas naturalmente em temperatura ambiente e separadas em 500 uL de cada amostra para centrifugação (Eppendorf) a 4000 rpm por 10min a 4°C. Após esse processo foram separados mais 500 uL de cada amostra

pura e sem centrifugação para verificar a possível interferência de debris no espectro a ser gerado.

O equipamento *Raman* modelo Xplora (Horiba Scientific) é equipado com um monocromador Czerny-Turner, um detector CCD e um microscópio Olympus BX41 com objetivas de 05x, 10x, 50x e 100x, sendo a de 100x usada apenas para a calibração utilizando amostra de silício.

Foi usado o laser 785nm com potência de 100 mW posicionadas no ponto desejado da amostra. Os espectros serão analisados em espaço de comprimento de onda de 600 a 1800 cm^{-1} com amostras aplicadas no *Alum pans & covers* com 20uL de cada uma sendo secas e úmidas.

RESULTADOS

Nos primeiros ensaios as amostras não centrifugadas foram excitadas com o laser 750nm e analisadas de entre 200 a 600 cm^{-1} . O espectro gerado pode ser visualizado na figura 1. Observa-se a ausência de linha de base e picos específicos.

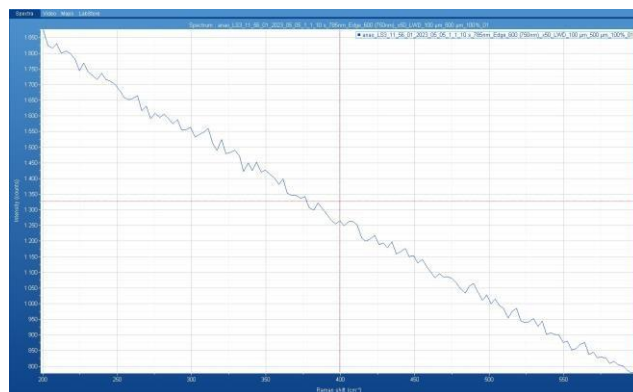


Figura 1. Condição da amostra: líquida não diluída. Espectro adquirido no comprimento de onda de 200 a 600 cm^{-1} com tempo de aquisição de 10s em quantidade de 10uL sob as *Alum pans*.

Nos seguintes ensaios buscamos nos aprofundar nos conhecimentos da calibração da máquina e em mudar o modo de uso da amostra para seca sob as *Alum pans*. Com isso, obtivemos uma melhora no espectro, mas ainda enfrentando o desafio de ajustar a linha de base. (Figura 2)

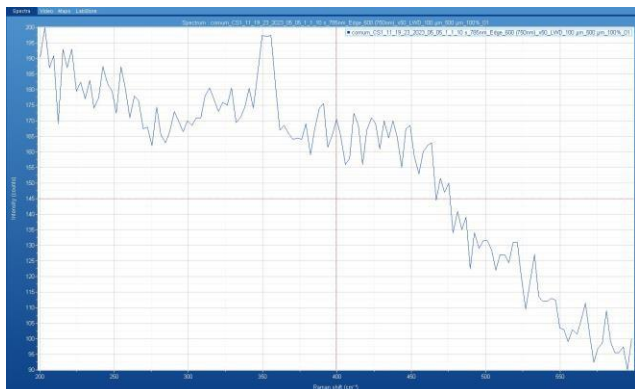


Figura 2. Condição da amostra: seca não diluída. Espectro adquirido no comprimento de onda de 200 a 600 cm^{-1} com tempo de aquisição de 10s em quantidade de 10uL sob as *Alum pans*.

Nos ensaios que se seguem, fizemos o uso de amostras secas com condições de centrifugação ou não, e a linha de base mais bem ajustada. Com isso, obtivemos picos mais visíveis e mais precisos para o estudo. (Figuras 3 e 4)

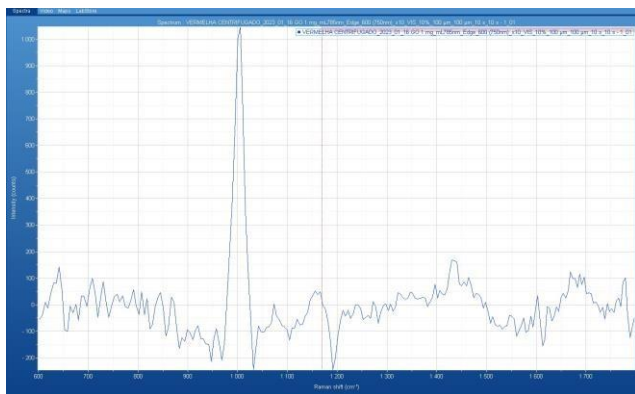


Figura 3. Condição da amostra: seca centrifugada. Espectro adquirido no comprimento de onda de 600 a 1800 cm^{-1} com tempo de aquisição de 20s em quantidade de 20uL sob as *Alum pans*.

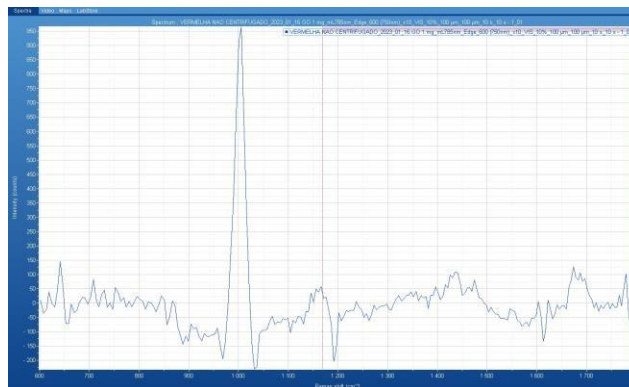


Figura 4. Condição da amostra: seca centrifugada. Espectro adquirido no comprimento de onda de 600 a 1800 cm^{-1} com tempo de aquisição de 20s em quantidade de 20uL sob as *Alum pans*.

CONCLUSÕES

Foram vistas semelhanças nos picos próximos ao comprimento de onda de 1000 cm^{-1} em ambos os espectros de condições diferentes, o que nos leva a pensar que os debrís não influenciam o espectro. Apesar dos avanços obtidos ainda estamos no processo de padronização da técnica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer Statistics, 2020. *CA Cancer J Clin* (2020) 70(1):7–30.doi: 10.3322/caac.21590
- [2] M. Truong, B. Yang, and D. F. Jarrard, "Toward the detection of prostate cancer in urine: a critical analysis," *Journal of Urology*, vol. 189, no. 2, pp. 422–429, 2013.
- [3] CHEN, S.; ZHANG, H.; YANG, X. et al., "Raman Spectroscopy Reveals Abnormal Changes in the Urine Composition of Prostate Cancer: An Application of an Intelligent Diagnostic Model with a Deep Learning Algorithm," *Wiley Online Library*, [s. l.], 2021.

APOIO FINANCEIRO AO PROJETO

IPEN/CNEN