

Espectroscopia Raman no Diagnóstico de Carcinomas Basocelulares

Benito Bodanese¹, Landulfo Silveira Junior²

¹Mestrando Engenharia Biomédica - Univap/Unochapecó, benitobodanese@uol.com.br

²Professor-Orientador do Mestrado de Engenharia Biomédica da Univap, land-jr@uol.com.br

Resumo- A Espectroscopia Raman é uma técnica analítica e não invasiva que fornece informações sobre a estrutura molecular da amostra investigada. As estruturas moleculares das proteínas e lipídios diferem entre tecidos normais e neoplásicos. Assim, a espectroscopia Raman tem sido considerada promissora no diagnóstico do câncer. O carcinoma basocelular é o tumor de pele mais comum e, embora de baixa letalidade, pode produzir deformidades físicas e ulcerações graves. Estudos concluíram que existem diferenças entre os picos de amido I e III, proteínas e lipídios entre pele normal, tumores malignos e benignos, e essas diferenças podem ser utilizadas para o diagnóstico óptico. Pesquisas devem ser implementadas para o desenvolvimento de novas ferramentas capazes de simplificar sua utilização.

Palavras-chave: Carcinoma Basocelular, Diagnóstico, Laser, Raman

Área do Conhecimento: Medicina, Engenharia Biomédica

Introdução

O Carcinoma Basocelular é o tumor de pele mais comum, correspondendo a 75% de todas as lesões malignas que acometem a pele. É mais prevalente em pacientes com pele branca e mais comum na face, couro cabeludo e pescoço. Alguns fatores de risco incluem: exposição solar, idade, sexo (homem tem risco aumentado), localização geográfica, pele clara e olhos claros.

O câncer de pele não melanoma continua sendo o mais incidente em nosso país em ambos os sexos. Embora de baixa letalidade, pode levar à deformidades físicas e ulcerações graves. O diagnóstico dos cânceres é realizada através de exames histopatológicos, que orientam a abordagem terapêutica adequada. Entretanto, esse diagnóstico depende da interpretação dos patologistas e baseia-se nas anormalidades morfológicas ao invés de análise das diferenças bioquímicas.

Muitas pesquisas vêm sendo realizadas no sentido de aprimorar o diagnóstico precoce do câncer e de seus fatores de risco, resultando no desenvolvimento de novas técnicas, como a tomografia computadorizada, dermatoscopia, ressonância magnética, espectroscopia por fluorescência, microscopia confocal a laser, Doppler a laser para avaliação de perfusão e a espectroscopia óptica (Fluorescência e Raman).

A Espectroscopia Raman apresenta um potencial promissor como ferramenta analítica para o diagnóstico de câncer porque pode diferenciar a composição química e estrutura molecular de tecidos normais e patológicos.

A diferenciação histopatológica dos tipos de CBC está baseada nos diferentes tipos de crescimento, que também são a base do atual sistema de classificação sugerido pela Organização Mundial da Saúde. Essa classificação tem mostrado relevância prática e distingue os tumores em nodulares, superficiais e infiltrativos. Adicionalmente, CBC micronodulares tem sido reconhecidos separadamente como subtipos de risco pela aumentada chance de recidiva. Raasch revisou uma série de casos na Austrália entre 1997 e 1999 e identificou os tipos mais freqüentes que são: Nodular (48%); Superficial (26%); Infiltrativo (14%) e Micronodular (8%).

CBC's são comumente classificados em agressivos e não agressivos. A maioria dos autores considera os tipos micronodular, infiltrativo e morfoiforme e misto com pelo menos um componente agressivo independente do tamanho do tumor, no grupo agressivo. Os tumores não agressivos incluem os tipos nodular e superficial. Apesar de a classificação do tipo superficial ainda ser motivo de debate, segundo a Classificação de Sexton, ele pertenceria ao grupo não-agressivo. Os tumores agressivos são caracterizados por uma variada combinação de potenciais problemas clínicos, incluindo aumento da probabilidade de extensão subclínica e/ou excisão incompleta e/ou invasão e recorrência local.

A confirmação precisa e satisfatória dos cânceres na maioria dos casos é realizada com exames histopatológicos. Esta técnica avalia o grau de diferenciação celular do tecido

Revisão Bibliográfica

neoformado e suas características citológicas, morfológicas e estruturais.

A histopatologia fornece informações muito valiosas na orientação da abordagem terapêutica do câncer e possui resultados confiáveis. Entretanto, esta técnica possui algumas desvantagens e limitações, pois a biópsia convencional envolve remoção do tecido, necessita a preparação das amostras e dependem da interpretação dos patologistas. Assim, muitas pesquisas vêm sendo realizadas no sentido de aprimorar o diagnóstico precoce do câncer e de seus fatores de risco, resultando no desenvolvimento de técnicas que vêm sendo empregadas experimentalmente no diagnóstico de patologias malignas em animais e humanos. Dentre essas técnicas, a espectroscopia óptica fornece a possibilidade de detectar e diagnosticar doenças precocemente e ainda modificar o tratamento baseado em informações bioquímicas. A Espectroscopia Raman tem se mostrado promissora na investigação dessas patologias.

O fenômeno de espalhamento Raman foi primeiramente descrito pelo físico indiano C. V. Raman em 1928. Na década de 60, com a descoberta do laser, passou a ser utilizada para a determinação da composição molecular de uma amostra (sólida, líquida ou gasosa). Através desta técnica é possível diferenciar materiais biológicos normais e patológicos com grande precisão. Pode-se analisar diferentes tipos de materiais sem danos à amostra, sendo que a técnica possibilita rápida identificação e pode ser utilizada sem preparação prévia do material, possibilitando um exame *in vivo* em tempo real [3,4].

Várias moléculas biológicas, como ácidos nucleicos, proteínas e lipídios apresentam distintos achados a Espectroscopia Raman proporcionando assim, informações sobre suas estruturas. As alterações moleculares e celulares que ocorrem no câncer podem resultar em diferentes espectros nos tecidos normais e cancerosos [3,5]. Recentemente, vários grupos de pesquisa vêm demonstrado o potencial da espectroscopia vibracional no diagnóstico de câncer em vários órgãos [18,24,25]. Estes grupos têm mostrado que diferentes achados no espectro vibracional podem estar relacionados a alterações moleculares e estruturais associadas com transformação neoplásica. A Espectroscopia Raman vem sendo utilizada para detectar cânceres de origem epitelial e mesenquimal, como mama, cérebro, cólon, bexiga e pele.

Por se apresentar como uma ferramenta muito útil na análise quantitativa de amostras biológicas, a Espectrometria Raman vem sendo utilizada no diagnóstico médico *"in situ"* e *"ex situ"* a fim de diminuir procedimentos invasivos e executar tanto o diagnóstico como o tratamento em apenas uma intervenção cirúrgica.

A espectroscopia Raman foi primariamente utilizada para investigação da pele por Edwards em 1992. Desde então vêm sendo utilizada como uma ferramenta para caracterizar a estrutura molecular da pele normal e com doença. Recentemente, o metabolismo dos protetores solares na pele foi elucidado pela espectroscopia Raman. Sua utilização também mostrou diferenças nas estruturas moleculares entre tumores benignos e malignos da pele.

Tecidos tumorais apresentam diferentes propriedades ópticas, que são causadas, principalmente, por mudanças nas estruturas moleculares das proteínas e lipídios.

Gniadecka comparou a estrutura molecular da pele normal com a pele com doenças benignas (dermatofibroma, ceratose seborréica, ceratose actínica, ceratoacantoma, nevos compostos, nevos displásicos) e malignas (CBC, CEC). Lesões histogeneticamente correlatas (ceratose actínica e CEC) apresentaram espectros similares, mas não idênticos. Cada lesão produziu um espectro único e reproduzível, concluindo que a espectroscopia Raman é uma ferramenta útil no diagnóstico de lesões cutâneas.

Nijssen conseguiu 100% de sensibilidade e 93% de seletividade na diferenciação do carcinoma basocelular do tecido normal adjacente. Pôde-se, assim, demarcar as bordas do tumor e suas margens.

Nijssen e Nunes analisaram pele normal e com carcinoma basocelular e concluíram que existem diferenças entre os picos de amido I e III, proteínas e lipídios.

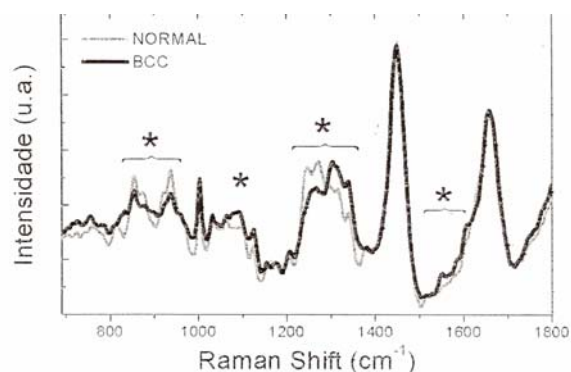


Figura 1 Espectro Raman de pele normal e CBC – NUNES e col, FT-Raman spectroscopy study for skin cancer diagnosis, *Spectroscopy* 17, 597-602, 2003[10].

Sigurdsson analisou 222 casos de cinco diferentes tipos de lesões cutâneas. Conseguiu 80,5% de classificação correta para melanoma (índice similar a dermatoscopia por um médico experiente) e 95,8% para carcinoma basocelular.

A maioria das alterações estavam em pequenas bandas do espectro de proteínas e lipídios.

Conclusão

A espectroscopia Raman é uma técnica analítica e não-destrutiva que produz informações sobre a estrutura molecular dos tecidos em investigação.

É capaz de diferenciar pele normal de doente, inclusive diagnosticando o tipo de patologia presente.

Sua aplicabilidade consiste em assistir o exame histopatológico, principalmente em situações em que a biópsia não é efetiva, por exemplo, em múltiplas lesões ou tumores incipientes (ainda sem manifestações clínicas). Também poderá ser utilizado na detecção dos limites do tumor em tempo real, evitando excisões amplas demais ou com margens comprometidas.

Infelizmente, o espectro Raman é muito complexo e necessita de ferramentas para sua análise. Atualmente, somente é identificado visualmente por especialistas, o que dificulta seu emprego mais amplo.

Novas tecnologias necessitam ser criadas para potencializar sua utilização.

Referências

-BIVENS, MM. et al. Nonmelanoma Skin Cancer: Is the Incidence Really Increasing among Patients Younger Than 40? A Reexamination Using 25 years of U.S. Outpatient Data. **Dermatologic Surgery**, 32:12, p. 1476 – 1479, 2006.

-BOULINGUEZ, S. et al. Histological evolution of recurrent basal cell carcinoma and therapeutic implications for incompletely excised lesions. **British Journal of Dermatology**, 151: 623–626, 2004.

-HANLON, EB et al. Prospects for *in vivo* Raman spectroscopy. **Phys. Med. Biol.** **45** R1–R59, 2000.

-GNIADACKA, M. Potential for high-frequency ultrasonography, nuclear magnetic resonance, and Raman spectroscopy for skin studies. **Skin Research and Technology**, 3: 139-146, 1997.

-GNIADACKA, M, Diagnosis of basal cell carcinoma by Raman spectroscopy. **Journal of Raman Spectroscopy**, 28:125-129, 1999.

-GRIFFITHS, RW et al. Basal cell carcinoma histological clearance margins: an analysis of 1539 conventionally excised tumours. Wider still and deeper? **Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery**, 60, 41-47, 2007.

-INCA, Instituto Nacional do Câncer, MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Estimativa da Incidência e Mortalidade por Câncer no Brasil**. Banco de dados de 2006. Disponível no site www.inca.gov.br

-MARTIN, AA et al. Principal Components Analysis of FT-Raman Spectra of *ex vivo* Basal Cell Carcinoma, **Biomedical Vibrational Spectroscopy/Biohazard Detection Technologies**, 2004.

-NCI – **National Cancer Institute**, US National Institutes of Health, 2007. Disponível no site www.cancer.gov

-NUNES, LO et al. FT-Raman spectroscopy study for skin cancer diagnosis, **Spectroscopy** 17, 597-602, 2003

-HAGE, R. Aplicação da Técnica de Espectroscopia de Fluorescência Induzida por Laser na Diferenciação entre Tecido Normal Neoplásico da Mama Humana Feminina. Dissertação Mestrado em Engenharia Biomédica, Universidade do Vale do Paraíba, 2001.

-ZONIOS, G et al. Spectral Pathology. **Ann N. Y. Academy of Science**, V.9, N838, P. 108-115, 1998.

-SALDANHA, G. et al. Basal cell carcinoma: a dermatopathological and molecular biological update. **British Journal of Dermatology**, 148: 195–202, 2003.

-RAASCH, BA et al. Basal cell carcinoma: histological classification and body-site distribution. **British Journal of Dermatology**, 155, pp401–407, 2006.

-SEXTON M, et al. Histologic pattern analysis of basal cell carcinoma. **J Am Acad Dermatol**; 23: 1118–26, 1990

-ZUANG, Z et al. Raman Spectroscopy in Combination with Background Near-infrared Autofluorescence Enhances the *In Vivo* Assessment of Malignant Tissues. **Photochemistry and Photobiology**, 81: 1219–1226, 2005.

-CHWRIOT, B.W. et al. Detection of melanomas by digital imaging of spectrally resolved ultraviolet light-*induce* auto fluorescence of human skin. **European Journal of Cancer**, v.34, n11, p. 1730-34, 1998.

-GROSSMAN, N. et al. Fluorescence spectroscopy for detection of malignancy: H-ras overspreading

fibroblasts as a model. **Journal of Biochemical and Biophysical Methods**, v10, n.2, p.107-110, 2001.

-HELFAND, M. et al. Screening for Skin Cancer. **American Journal of Preventive Medicine**, v. 20, n. 3S, p. 47-58, 2001.

-SIGURDSSON, S. et al. Detection of Skin Cancer by classification of Raman Spectra. **IEEE Trans Biomed Eng.**, 51(10), p. 1784-93, 2004.

-NIJSSSEN, A. Discriminating basal cell carcinoma from its surrounding tissue by Raman spretroscopy. **J. Invest. Dermatol.**, 119(1), p. 64-9, 2002.

-GNIADACKA, M. Distinctive molecular abnormalities in benign and malignant skin lesions: estudies by Raman Spectroscopy. **Photochem Photobiol.**, 66(4), p. 418-23, 1997.

-PANJEHPOUR, M. et al. Laser-induced fluorescence spectroscopy for in vivo diagnosis of non-melanoma skin cancers. **Lasers Surg Med**, 31(5), p. 357-73, 2002.

-YAN, X-L.et al, Raman spectra of single cell from gastrointestinal cancer patients. **World Gastroenterol**, 11(21), p. 3290-92, 2005.

-STONE, N. et al, Raman spectroscopy for early detection of laryngeal malignancy: preliminary results. **Laryngoscope**, 110(10pt1), p. 1156-63, 2000.

-MAHDEVAN-JANSEN, A. Raman spectroscopy for the detection of cancers and precancers. **Journal of Biomedical Optics**, v. 1 n. 1, p 31-70, 1996.

-BAARY, BW; EDWARDS, HGM; WILLIAMS, AC. Fourier transform Raman and infrared vibrational study of human skin: assignment of spectral bands. **J Raman Spectrosc**, v. 23, p. 641-645, 1992.