

DIAGNÓSTICO LASER DO CÂNCER DE PRÓSTATA, UMA POSSIBILIDADE!

Silva M.A.S.R.¹, L. Silveira Jr², Aimbire F. S.C.³, Pacheco M. T. T.⁴

^{1,2,3,4} *Laboratory of Biomolecular Spectroscopy, Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento (IP&D),
Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos, SP, Brazil
marcosaugusto_sjc@yahoo.com.br*

Resumo- O câncer de próstata se tornou um dos maiores problemas de saúde mundial. A Espectroscopia Raman está sendo utilizada para diferenciar espectralmente amostras de tecido humano prostático normal, neoplásico e hiperplásico in vitro. Neste estudo, pesquisamos e descobrimos que a técnica Raman se apresentou como uma futura ferramenta quando comparada ao diagnóstico padrão ouro, a histopatologia do câncer de próstata. A pesquisa mostra que, podemos utilizar num futuro próximo, a espectroscopia Raman na identificação de alterações bioquímicas que ocorrem no processo de carcinogênese desta patologia.

Palavras-chave: Diagnóstico, Laser, Câncer, Próstata

Área do Conhecimento: III-Engenharias

Introdução

O espalhamento elástico de fótons pela matéria é chamado de Rayleigh, enquanto o inelástico, é chamado de Raman. (NUNES, et al., 2003)

O efeito Raman foi previsto por Smekal em 1923 e confirmado por Chandrasekhara Venkata Raman em 1928.

Essencialmente, Raman constatou a possibilidade da radiação visível interagir com a matéria, de modo tal que, houvesse a variação na energia do fóton incidente, sendo que essa transferência de energia seria dependente da massa e do tipo de ligações das moléculas (FARIA; SANTOS, 1997).

A Espectroscopia Raman tem sido utilizada em biologia e bioquímica para estudar as estruturas e dinâmicas funcionais de importantes moléculas.

A aplicação da espectroscopia Raman no estudo de tecidos biológicos, objetiva a detecção precoce de doenças e o aumento da eficácia na aquisição dos dados. O espectro Raman é obtido de um modo minimamente invasivo e analisado rapidamente para facilitar diagnóstico. (SCHRADER, et al., 1997)

A Espectroscopia Raman ou "Biópsia Óptica", é utilizada para analisar regiões teciduais suspeitas, sem longa preparação das amostras e com resultados em tempo real, sendo assim, uma promissora técnica para diferenciação dos vários estados patológicos do câncer. (KLINE et al., 1998)

Mudanças na estrutura da célula associada à doença são geralmente aparentes no Espectro Raman, permitindo sua identificação em fase inicial (CROW et al., 2004).

Os traumas físicos e psicológicos associados aos exames, o alto custo de detecção e a freqüente exposição a radiações têm motivado o desenvolvimento de técnicas ópticas para vários diagnósticos. (LIMA, C. J., et al., 2000) Por essas razões, muitas técnicas ópticas têm sido freqüentemente exploradas. (SILVEIRA JR, et al., 2003)

A utilização da espectroscopia Raman permitiu um potencial avanço em diagnósticos, onde sua maior vantagem esta na precisão. (LIMA, C. J. ; SATHAIAH, S. ; PACHECO, M. T. T., 2004)

Como as bandas são sensíveis à variação da estrutura molecular, diferenças no grupo molecular analisado podendo ser facilmente identificadas, visto que cada molécula possui massa e constante de força características, o espectro Raman de uma dada amostra consistirá em picos característicos dessa determinada molécula e sua composição correspondente. O espectro Raman é, portanto, a impressão digital da molécula, demonstrando assim, suas informações bioquímicas específicas. (SILVEIRA JR, 2002)

Bodanese e Silveira Jr. (2007) representaram as imagens químicas de lipídios e proteínas distribuídos no tecido de câncer de pele.

As posições e intensidades das diversas bandas do espectro Raman podem ser usadas para identificar grande parte das estruturas biológicas moleculares.

Com o advento da tecnologia e detectores apropriados, a Espectroscopia Raman vem se tornando a técnica espectroscópica de escolha no estudo do câncer de próstata, devido a sua alta especificidade e sensibilidade (CROW et al., 2004).

Próstata

A próstata é um pequeno órgão situado logo abaixo da bexiga, em forma de uma castanha portuguesa, atravessada pela uretra. Seu desenvolvimento é estimulado pela testosterona.

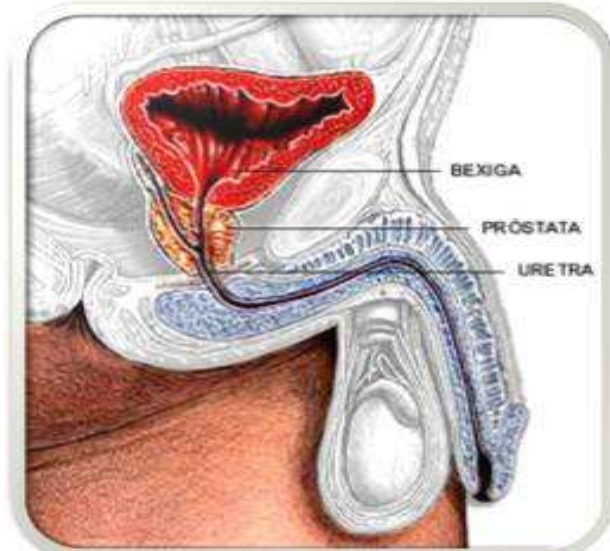


Figura 1. Posição anômica da próstata. (GUYTON AC, HALL JE, 2006)

Sendo um órgão glandular produz uma substância que, juntamente com a secreção da vesícula seminal e os espermatozoides produzidos nos testículos, vai formar o líquido seminal. Além de conferir proteção, contém nutrientes para o espermatozoide, na sua longa caminhada até o encontro do óvulo. (SBU, 1999)

A próstata pode ser acometida por tumores benignos, malignos primários e secundários, de vários tipos e linhagens. Porém, o tumor maligno de importância clínica por sua alta frequência é o Adenocarcinoma da Próstata. Nos estágios iniciais, limita-se à próstata. Sem tratamento, invade órgãos adjacentes como vesículas seminais, uretra e bexiga, bem como dissemina-se para órgãos distantes como ossos, fígado e pulmões, quando torna-se incurável. (CROW, et al., 2003)

O câncer de próstata apresenta duas características bem peculiares: sua incidência aumenta com a idade, atingindo quase 50% dos indivíduos com 80 anos; este tumor, provavelmente, terá incidência muito alta nos homens que viverem até 100 anos. Além disto, o câncer de próstata é encontrado em um número elevado de indivíduos, sem lhes causar qualquer mal.

Ao examinar a próstata de qualquer homem com idade entre 60 e 70 anos e que faleceram sem doença prostática aparente, encontrar-se-á focos cancerosos em 24% deles. Contudo, apenas 11% dos indivíduos nesta faixa etária apresentam, em vida, problemas com

câncer de próstata. Em outras palavras, 13% dos tumores neste grupo têm um caráter indolente, não se manifestam clinicamente e os seus portadores morrem, por outros motivos, com o câncer, mas não pelo câncer. (SROUGI, 2006)

De acordo com o Instituto Nacional de Câncer – INCA (2008), o câncer de próstata é uma doença que pode surgir a partir dos 40 anos. À medida que o homem vai envelhecendo, a incidência dessa doença vai aumentando. Quanto mais cedo essa doença atinge o indivíduo, mais grave ela será, quanto mais tarde se fizer o diagnóstico, mais difícil será a cura.

O INCA estima em 2008, 49.530 novos casos. A taxa bruta de incidência fez com que o câncer de próstata assumisse nos últimos tempos, o primeiro lugar como neoplasia mais incidente nos países desenvolvidos.

O câncer de próstata é a neoplasia mais frequente no sexo masculino (Figura 2).

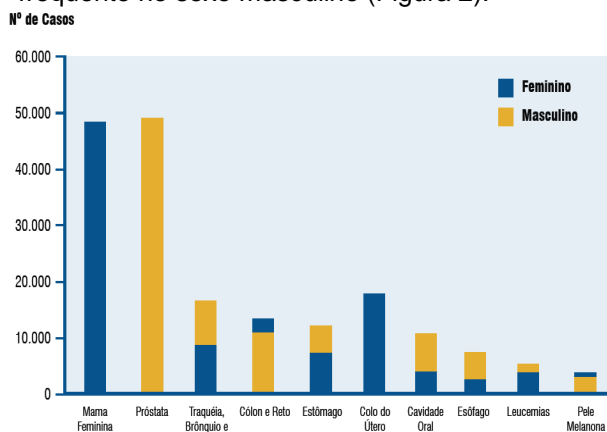


Figura 2. Tipos de câncer mais incidentes, estimados para 2008, exceto pele não melanoma, na população brasileira. Fonte: MS/Instituto Nacional de Câncer – INCA – 2008.

Metodologia

As amostras de tecido da próstata normal foram obtidas “post mortem” através de peça anômica (cadáver). Amostras de tecido da próstata neoplásica oriundas de pacientes homens, submetidos a exames de biópsia (coleta de fragmentos do tecido prostático - através de punção transretal) da próstata.

As amostras foram armazenadas em tubos Nalgene® e conservadas em nitrogênio líquido (-196°C) até o momento do registro do Espectro Raman.

Para caracterização do espectrômetro Raman, foi usado o laser de diodo em 830nm como fonte de excitação. A potência do laser utilizada foi de 100mW e os dados foram obtidos com 50s de acumulação numa resolução inicialmente de 8cm⁻¹. Os sinais Raman foram coletados por um detector de silício do tipo CCD resfriado por nitrogênio líquido.

Para coleta de dados do Raman, as amostras congeladas foram levadas à uma sala térmica, postas em um porta amostra com solução fisiológica a 0,9% (nove por cento) para preservar suas características estruturais durante o descongelamento. Os espectros foram coletados no Laboratório de Espectroscopia Biomolecular, localizado no Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento (IP&D), Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP), Av. Shishima Hifumi, 2911, Urbanova, São José dos Campos, CEP 12244-000, SP, Brasil.

Imediatamente após a coleta do espectro Raman, as amostras foram imersas numa solução de formaldeído a 10% onde foram submetidas à análise histopatológica no Laboratório de Patologia e Histologia do Hospital Sírio Libanês em São Paulo-SP.

Resultados preliminares

Foram retirados dois espectros com CaP, quatorze normais e quarenta e quatro hiperplásicos do tecido da próstata.

O resultado histológico foi confirmado pelo Laboratório de Patologia e Histologia do Hospital Sírio Libanês em São Paulo-SP.

Através do programa Excel® foram obtidas as medias e realizado as plotagens dos gráficos, observando-se as alterações em cada grupo pesquisado.

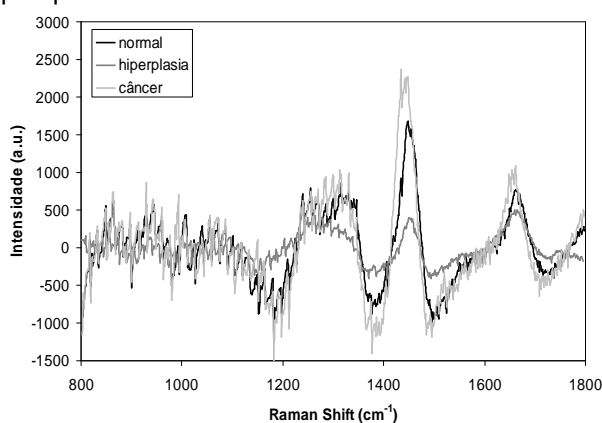


Figura 3. Espectros obtidos de tecido normal, hiperplásico e com câncer de próstata.

A visualização de componentes bioquímicos da próstata é o próximo passo, sendo essencial para o desenvolvimento de uma análise quantitativa de biópsia óptica, baseada na técnica Raman compatível para classificação das diversas patologias prostáticas.

A caracterização dos picos e a análise quantitativa com a utilização da PCA (*Análise dos Componentes Principais*). Todavia cabe ressaltar que, a presente pesquisa permanece em processo de conclusão.

Discussão

Na busca por soluções que fortaleçam o diagnóstico e tratamento do câncer prostático, várias áreas de estudo têm somado forças no que tange ao alcance de novas propostas eficazes.

Na interação entre Ciências Biológicas e Exatas, a Espectroscopia Raman se torna uma ferramenta potencialmente importante na análise química na área médica, permitindo futuramente a detecção, o monitoramento e o estudo das patologias humanas *in vivo* promovendo diagnóstico em tempo real. (STONE et al., 2004).

Fruto desta interação, estudos recentes têm investigado a praticabilidade do diagnóstico baseado na Espectroscopia Raman. A maioria destes estudos comparam o espectro de tecido normal e patológico *ex vivo*. Devido ao intervalo de tempo entre a excisão do tecido e o exame espectroscópico, estas amostras devem ser congeladas adequadamente para manter seu estado bioquímico nativo.

Algumas vertentes dialogam entre si, mantendo em comum no método Raman. Crow et al. (2003), utilizaram como diferencial em seu estudo, a quantidade de água na próstata cancerígena e próstata normal humana, utilizando tecidos *in vitro*, por meio da Espectroscopia Raman no Infravermelho (NIR). Suas medidas mostram que uma menor quantidade de água está contida em tecidos cancerígenos do que em tecidos normais.

As técnicas espectroscópicas, de uma maneira geral, fornecem informações detalhadas sobre os níveis de energia dos espécimes em estudo. Em nível molecular, a radiação pode interagir com a matéria por processos de absorção ou de espalhamento, e este último pode ser elástico ou inelástico. (SILVEIRA JR, L., et. al., 2002)

Dentre as vertentes, ora vigentes, de diagnóstico, defende-se a relevância da aplicação da Espectroscopia Raman, que segundo vários apontamentos segue se destacando por sua eficiência. Como a afirmação de que a técnica oferece uma vantagem significativa sobre as outras técnicas de análise pelo fato da água ter um sinal Raman extremamente fraco (CROW et al., 2004).

Tratando do processo em termos práticos e laboratoriais, tanto os tecidos normais quanto os cancerosos estão sob influência de processos bioquímicos. Portanto, possuem fatores particulares ou marcadores que podem ser usados para diferenciá-los. Podemos entender marcadores bioquímicos como sendo alguns componentes teciduais importantes que fazem parte do metabolismo e/ou constituição celular, como o citrato e o glicogênio, fosfolípidios, glicose e até mesmo o DNA.

Uma das mudanças mais significativas que ocorrem na transformação neoplásica é o aumento do conteúdo celular de ácidos nucleicos; extensivos estudos de Espectroscopia indicam a possibilidade de identificação de alterações no DNA através das vibrações moleculares.

Stone e colaboradores (2004) avaliaram o potencial da espectroscopia Raman para construção de livrarias espectrais de diversos tipos de tecido humano, como: cólon, mama e próstata para classificação dos tecidos e patologias. Neste estudo, seguiram um rigoroso protocolo de coleta espectral seguida de análise histopatológica auxiliados por especialistas em patologia e constataram a eficácia do método.

Conclusão

Esta técnica está baseada nas propriedades ópticas dos tecidos e se mostra vantajosa, pois permitem ser acessada por enfermeiros e médicos, não oferecendo riscos de radiação ionizante ao médico e ao paciente, além de promover diagnóstico diferencial em tempo real.

Referências

- BODANESE B, SILVEIRA JR L., Espectroscopia Raman no Diagnóstico de Carcinoma Basocelular. XI INIC Congresso de Iniciação Científica, Univap, 2007.
- CROW P, STONE N, KENDALL CA, UFF JS, FARMER JA, BARR H, The use of Raman spectroscopy to identify and grade prostatic adenocarcinoma in vitro. *Br J Cancer* 2003;89:106-8.
- CROW, P. et al. The use of Raman spectroscopy to identify and characterize transitional cell carcinoma in vitro. *Bju International*, n.93, v.9, p.1232-6, 2004.
- FARIA, D. L. A.; SANTOS, L. G C. A demonstração sobre o espalhamento inelástico da luz: repetindo o experimento de Raman. *Química Nova*, n.20, v.3, p.319-23, 1997.
- GUYTON AC, HALL JE. **Tratado de fisiologia médica**. 11ª ed., Elsevier, 2006.
- INCA, Ministério da Saúde. Secretaria de Assistência à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. **Câncer no Brasil: dados dos registros de base populacional**. Rio de Janeiro: BRASIL, 2008.
- KLINE, N. J.; TREADO, P. J. Raman Chemical Imaging of Breast Tissue. *Journal of Raman Spectroscopy*, v.28, n.2-3, p.119-24, 1998.
- LIMA, C. J. ; SATHAIAH, S. ; PACHECO, M. T. T. . Side-viewing fiberoptic catheter for biospectroscopy applications. *Lasers in Medical Science*, v. 19, n. 1, p. 15-20,2004.
- LIMA, C. J. ; SATHAIAH, S. ; SILVEIRA JR, L. ; ZÂNGARO, R. A. ; PACHECO, M. T. T. . Development of Catheters with Low Fiber Background Signals for Raman Spectroscopic Diagnosis Applications. *Artificial Organs*, v. 24, n. 3, p. 231-234, 2000.
- MADSEN, J. et al. Diving physiology and pathophysiology. *Clin. Physiol.*, v.14, n.1, p.597, 1994.
- NUNES, L. O.; MARTIN, A. A.; SILVEIRA JUNIOR, L.; Biochemical changes between normal and BCC tissue: a FT-Raman study. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.*, Estados Unidos, v. 4955, p. 546-551, 2003.
- SCHRADER, B. et al. NIR FT Raman spectroscopy - a new tool i medical diagnosis. *J. Mol Struct.*, n.408, v.1, p.23-31, 1997.
- SILVEIRA JR, L. ; SATHAIAH, S. ; ZÂNGARO, R. A. ; PACHECO, M. T. T. ; CHAVANTES, M. C. ; PASQUALUCCI, C. A. . Near-infrared Raman spectroscopy of human coronary arteries: histopathological classification based on Mahalanobis distance. *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery*, v. 21, n. 4, p. 203-208, 2003.
- SILVEIRA JR, L. ; SATHAIAH, S. ; ZÂNGARO, R. A. ; PACHECO, M. T. T. ; CHAVANTES, M. C. ; PASQUALUCCI, C. A. . Correlation Between Near-Infrared Raman Spectroscopy and the Histopathological Analysis of Atherosclerosis in Human Coronary Arteries. *Lasers In Surgery And Medicine*, Estados Unidos, v. 30, p. 290-297, 2002.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE UROLOGIA - (SBU), Guia prático de urologia / editores Donard Augusto Bendhack, Ronaldo Damião. -- 1. ed. -- Rio de Janeiro : SBU – Sociedade Brasileira de Urologia ; São Paulo : BG Cultural, 1999.
- STONE, N. et al. Raman spectroscopy for identification of epithelial cancers. *Faraday Discussions*,n.126, p141-57, 2004.
- SROUGI, M; SIMON, S. D. Câncer de próstata: câncer urológico. São Paulo: Platina, 2006.