

## BIOSENSORES MODIFICADOS COM LECTINA PARA DETECÇÃO DE CÂNCER DE BEXIGA

RAIANE ANITA DOS SANTOS SILVA<sup>1</sup>; BRUNO VASCONCELLOS LOPES<sup>2</sup>;  
CAMILA GARCIA DE SOUZA<sup>3</sup>; GUILHERME FEIJÓ DE SOUSA<sup>4</sup>; NEFTALI  
LENIN VILLARREAL CARRENO<sup>5</sup>; LUCIANO DA SILVA PINTO<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Pelotas – [Raianeanitassilva@gmail.com](mailto:Raianeanitassilva@gmail.com)

<sup>2</sup> Universidade Federal de Pelotas – [brunovlopes13@outlook.com](mailto:brunovlopes13@outlook.com)

<sup>3</sup> Universidade Federal de Pelotas – [kaka.garcia.2010@outlook.com](mailto:kaka.garcia.2010@outlook.com)

<sup>4</sup> Universidade Federal de Pelotas – [guima.sousa07@gmail.com](mailto:guima.sousa07@gmail.com)

<sup>5</sup> Universidade Federal de Pelotas – [nlv.carreno@gmail.com](mailto:nlv.carreno@gmail.com)

<sup>6</sup> Universidade Federal de Pelotas – [ls\\_pinto@hotmail.com](mailto:ls_pinto@hotmail.com)

### 1. INTRODUÇÃO

O carcinoma urotelial é nono tipo de câncer que mais ocorre no mundo, e é diagnosticado como uma doença superficial, porém o câncer de bexiga tem alta taxa de reincidência e de progressão da doença (CONTE, 2021). O diagnóstico da doença é realizado através de exame por cistoscopia, considerado definitivo para isso, mas que é usado também para o monitoramento da doença e sua evolução, porém, este método é altamente invasivo.

Assim, a tecnologia de testes não invasivos com alta especificidade e sensibilidade é urgentemente necessária. Tanto a combinação de técnicas ópticas quanto de novos sistemas de imagem aumentam a precisão do diagnóstico e reduzem o risco. Além disso, os testes de rastreio não invasivos baseados na urina tornaram-se o foco da investigação atual nos últimos anos (WU et al., 2022). Tendo em vista a necessidade de um diagnóstico rápido, não invasivo e eficiente os biossensores modificados com lectinas são uma excelente estratégia para o diagnóstico do câncer de bexiga.

Um biossensor pode ser definido como um equipamento bioanalítico que está relacionado ao reconhecimento molecular de biomarcadores e incorporado com um transdutor físico-químico que é o responsável por traduzir o sinal biológico em um sinal elétrico (NAZARETH et al., 2021).

Os biossensores eletroquímicos baseados em lectinas são atrativos como ferramentas analíticas de glicanos e sua aplicação na busca de patógenos e no diagnóstico de doenças relatadas através da detecção de biomarcadores. As lectinas são proteínas que se ligam a carboidratos de maneira reversível. Carboidratos aberrantes, exclusivos de células tumorais em mamíferos são facilmente detectados por lectinas ligadoras de manose (Alta manose) ou antígenos Tn (Galactose), sendo uma estratégia eficaz para a detecção dos biomarcadores de cancer de bexiga (LI et al., 2011; RAHMAN et al., 2021)

### 2. METODOLOGIA

Para a produção dos biossensores uma lectina ligadora de manose foi obtida por expressão heteróloga em bactéria (*Escherichia coli*) pelo grupo do Laboratório de Bioinformática e Proteômica do CDTEC. A produção dos eletrodos de LIG (laser induced graphene) é preparo com máquina laser de diodo que faz a queima dos eletrodos. A proteína recombinante foi então biofuncionalizada no eletrodo de trabalho para obter um Bioeletrodo. Para isto, inicialmente, 3,0 µL de uma solução contendo 20 mmol de N-Hidroxissuccinimida (NHS) (Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA) e 5 mmol de 1etil-3-[3-dimetilaminopropil] carbodiimida (EDC) (Sigma-Aldrich, St.

Louis, EUA) dissolvidos em uma solução salina tamponada com fosfato (PBS, 0,1 mol·L<sup>-1</sup> a pH 7,4) foram depositados na superfície do eletrodo e deixados em repouso por 1 h a uma temperatura de 4 °C. Posteriormente, 3,0 µL de uma solução contendo a lectina (concentração variando de 20 a 100 µg·mL<sup>-1</sup>) dissolvido em solução de PBS foi depositado no eletrodo, seguido de 1 h de secagem a uma temperatura de 4 °C. Finalmente, o eletrodo foi lavado com a solução tampão para remover resíduos (ABRANTES-COUTINHO et al. 2021; YANG et al. 2020). Uma ilustração da fabricação do biossensor é apresentada na Figura 1. Para verificar a eficiência do sistema, os eletrodos foram testados contra soluções seriadas de manose e galactose (0-20mM). Os testes foram realizados no potenciostato Autolab realizando voltametrias cíclicas e de pulso diferencial utilizando como teste padrão do sistema.

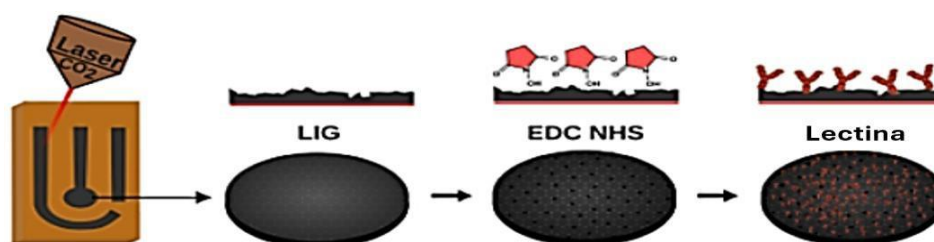


Figura 1- Esquema resumido da preparação e funcionalização do Biossensor para a detecção de câncer de Bexiga.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste primeiro momento testamos um biossensor funcionalizado com duas lectinas diferentes. O primeiro, funcionalizado com uma lectina galactose específica e o segundo com uma lectina capaz de reconhecer resíduos de alta manose (9 resíduos – **Não mostrado**). Estes glicanos são os mais persistentes em células tumorais e não são apresentados na superfície de células normais. A primeira etapa referente a padronização dos eletrodos foi realizada com sucesso já que os biossensores foram capazes de reconhecer de forma diferencial os carboidratos em solução. A verificação por voltmetria cíclica, por exemplo, apresentou alteração quando a lectina funcionalizada ao eletrodo reconheceu o glicano galactose (Figura 2B). Nesta análise podemos observar o padrão eletroquímico onde é formado um padrão gráfico devido a utilização da solução de ferri/ferro cianeto de potássio. Podemos observar os picos de oxidação e redução sem nenhuma alteração.

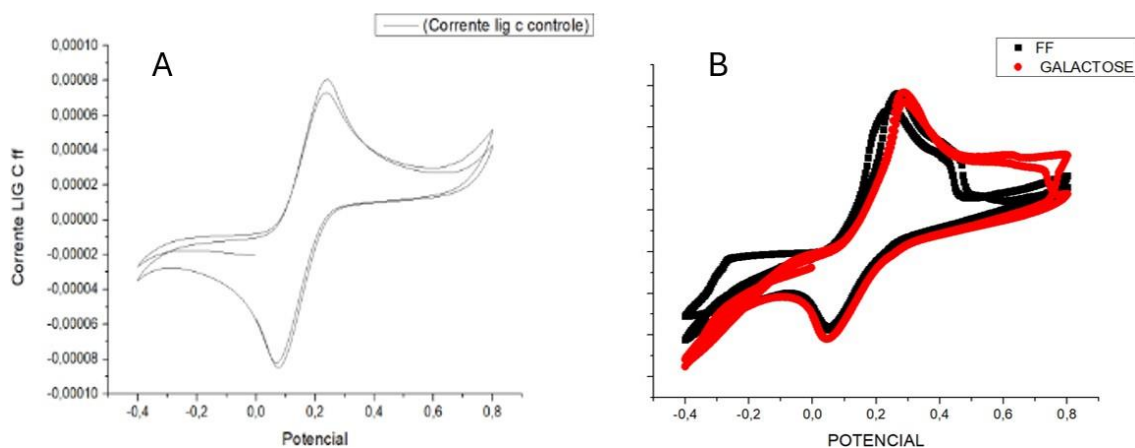
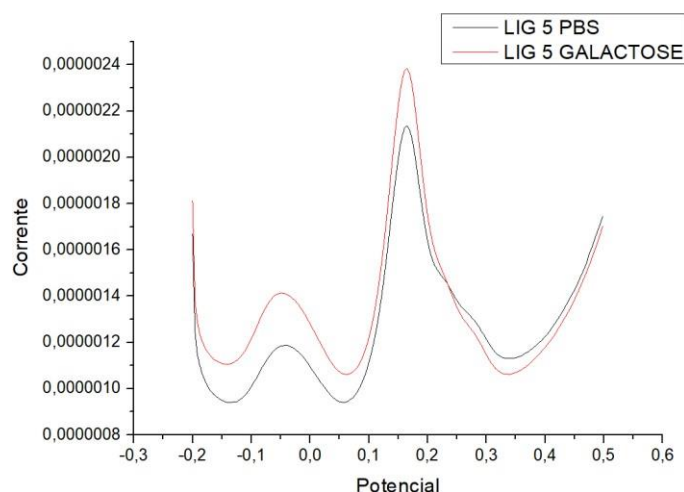


Figura 2- Voltametria cíclica em eletrodo controle e eletrodo modificado com lectina. Foram feitas duas análises de voltametria cíclica.

Na Figura 2B podemos observar a diferença do perfil voltamétrico no eletrodo modificado com a lectina, entre o resultado em preto que consiste apenas em ferri/ferro cianeto de potássio (Controle) e no resultado em vermelho que é com o ferri/ferro cianeto de potássio com galactose, o que demonstra o reconhecimento do açúcar através da lectina.

Na análise por voltametria de pulso diferencial, podemos observar picos diferentes e com maior amplitude, o teste foi feito com pbs (resultado em preto) e com pbs com galactose (resultado Vermelho) e podemos ver que com a galactose aumentou os picos mostrando uma maior resistência de corrente devido a presença da lectina.



A expectativa com estes ensaios é que possamos no futuro detectar células ou partes da célula tumoral (membrana) em fluídos corporais como a urina. É possível que o biossensor seja capaz de detectar outros tipos de cancer, incluindo o de próstata.

#### 4. CONCLUSÕES

Nossos ensaios iniciais usando soluções padrões indicam que o eletrodo funcionalizado com lectinas tem potencial para ser usado na detecção de glicanos aberrantes encontrados na maioria das células tumorais e não nas células normais. Apesar disso, ainda é preciso testar os biossensores na detecção de células livres em fluídos corporais como a urina.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRANTES-COUTINHO, V.E.; Santos, A.O.; Moura, R.B.; Pereira-Junior, F.N.; Mascaro, L.H.; Morais, S.; Oliveira, T.M.B.F. Systematic Review on Lectin-Based Electrochemical Biosensors for Clinically Relevant Carbohydrates and Glycoconjugates. **Colloids Surf B Biointerfaces** 2021, 208.

CONTE, D. Riscos prevalentes para câncer de bexiga: uma revisão da literatura. **Revista brasileira de análises clínicas**. 2021 DOI: 10.21877/2448-3877.202101991

NARESH, V, LEE, N. A Review on Biosensors and Recent Development of Nanostructured Materials-Enabled Biosensors. **Sensors**. 2021; 21(4):1109. <https://doi.org/10.3390/s21041109>

DORNAS DE OLIVEIRA NAZARETH, JOÃO JÚLIO et al. BIOSSENSOR: UMA EVOLUÇÃO BIOTECNOLÓGICA NO DIAGNÓSTICO PRECOCE DO CÂNCER. **Brazilian Journal of Surgery & Clinical Research**, v. 34, n. 1, 2021.

RAHMAN, S. F. A., M. K. Md Arshad, S. Gopinath, M. F. Mohamad Fathil , F. Sarry and C. Ibau, **Chem. Commun.**, 2021, DOI: 10.1039/D1CC03080A.

LI, Feng et al. A selective novel non-enzyme glucose amperometric biosensor based on lectin–sugar binding on thionine modified electrode. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 26, n. 5, p. 2489-2494, 2011.

WU, S., CHEN, X., PAN, J., DONG, W., DIAO X. et al., An Artificial Intelligence System for the Detection of Bladder Cancer via Cystoscopy: A Multicenter Diagnostic Study, **JNCI: Journal of the National Cancer Institute**, V. 114, February 2022, P. 220–227, <https://doi.org/10.1093/jnci/djab179>