

## BIOSSENSORES 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 – [Raianeanaитassilva@gmail.com](mailto:Raianeanaитassilva@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 exâme 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 biosensor 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抗ígenos 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 CD Tec. 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 potenciómetro Autolab realizando voltametrias cíclicas e de pulso diferencial utilizando como teste padrão do sistema.

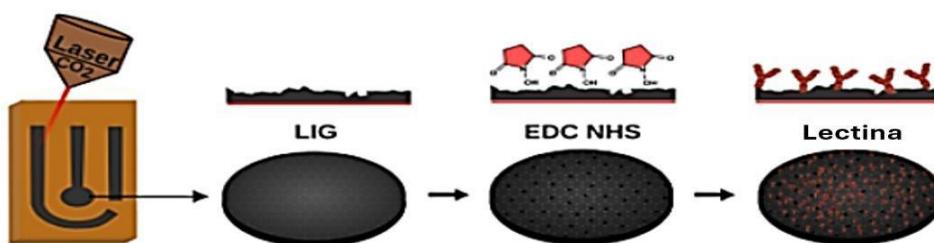


Figura 1- Esquema resumido da preparação e funcionalização do Biosensor para a detecção de câncer de Bexiga.

### 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 voltametria 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.

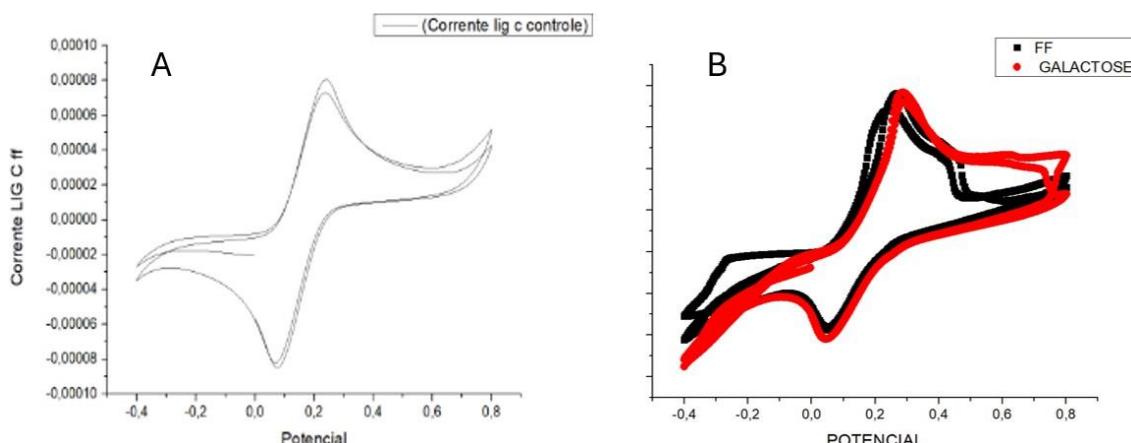
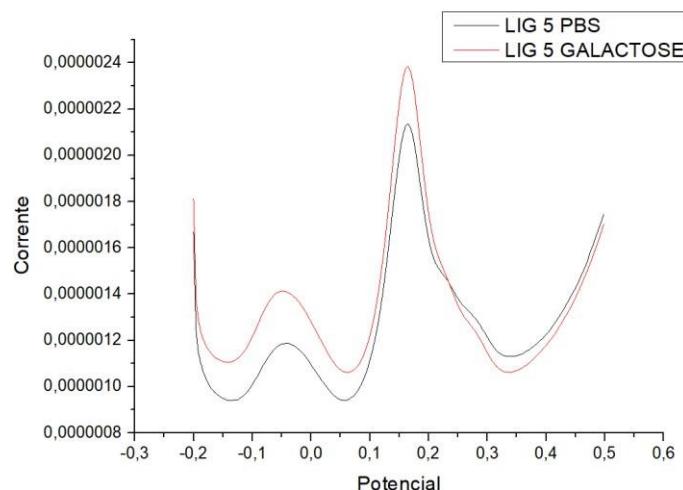


Figura 2- Voltametria cíclica em eletrodo controle e eletrodo modificado com lectina. Foram feitas duas análises de voltametria cíclica.

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 voltamentria 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. BIOSENSOR: 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>