



**Universidade:
presente!**

UFRGS
PROPEAQ



XXXI SIC

21. 25. OUTUBRO • CAMPUS DO VALE

Evento	Salão UFRGS 2019: SIC - XXXI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2019
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	Identificação de biomarcadores urinários para o diagnóstico do câncer de próstata
Autor	RAIANE MEDEIROS PINHEIRO
Orientador	KARINA MARIANTE MONTEIRO

IDENTIFICAÇÃO DE BIOMARCADORES URINÁRIOS PARA O DIAGNÓSTICO DO CÂNCER DE PRÓSTATA

Raiane Medeiros Pinheiro, Karina Mariante Monteiro
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

O câncer de próstata (CaP) é o segundo tipo de câncer mais comum em homens e a sexta causa de mortes relacionadas ao câncer na população masculina mundial. O CaP é classificado como um tumor de bom prognóstico se diagnosticado precocemente, porém os exames utilizados atualmente apresentam limitações importantes. O teste sorológico do Antígeno Prostático Específico (PSA, do inglês Prostate-Specific Antigen) possui baixa especificidade, enquanto a biópsia do tecido prostático pode resultar em diagnóstico falso negativo. Sendo assim, surge a necessidade de identificar novos biomarcadores que possam diagnosticar o CaP precocemente de maneira precisa e não invasiva. Alguns estudos apontam que a urina é uma fonte mais interessante do que o sangue para a detecção de biomarcadores de tumores urológicos, pois pode ser obtida de forma não invasiva e em grandes volumes. Além disso, sua composição reflete o estado fisiológico/patológico dos principais tecidos urológicos. Dessa forma, esse trabalho propõe a análise em larga-escala de peptídeos e miRNAs circulantes na urina de pacientes com CaP, hiperplasia prostática benigna (HPB) e indivíduos saudáveis para a identificação de potenciais biomarcadores para o CaP. Amostras de urina de pacientes com suspeita de CaP/HPB foram coletadas antes do exame de biópsia e serão divididas nos grupos de estudo de interesse de acordo com o resultado do exame histopatológico. As amostras coletadas foram centrifugadas para a eliminação de restos celulares e armazenadas a -80°C . Para o isolamento de peptídeos urinários foram utilizados diferentes protocolos, incluindo precipitação de proteínas com solventes e ácidos orgânicos, bem como protocolos de ultrafiltração em condições desnaturantes e não-desnaturantes. Os peptídeos isolados pelas diferentes abordagens serão analisados por espectrometria de massas para determinação da condição com melhor rendimento. Exossomos foram isolados a partir de diferentes volumes de urina a partir de precipitação com reagente específico e sua purificação foi confirmada por *western blot* utilizando anticorpo anti-CD63, proteína marcadora de vesículas extracelulares. Além disso, a morfologia e tamanho das vesículas foram avaliados por microscopia eletrônica de transmissão (MET). Até o momento, foram coletadas 30 amostras controle (indivíduos saudáveis) e 115 amostras de pacientes com suspeita de CaP ou HPB. Os níveis séricos de PSA observados nos indivíduos controle foram de 0,02 ng/mL a 3,64 ng/mL, enquanto entre os pacientes com suspeita de CaP ou HPB os valores mínimos foram de 1,96 ng/mL e o máximo foi de 40,18 ng/mL. O isolamento de exossomos urinários a partir de diferentes volumes de urina (3, 5 e 10 mL) foi confirmado por *western blot* a partir da detecção da proteína CD63 nas diferentes preparações. O isolamento se mostrou igualmente eficiente, demonstrando a viabilidade do protocolo utilizado mesmo para pequenos volumes de amostra. Através de MET foi possível caracterizar as vesículas extracelulares isoladas das amostras de urina, demonstrando que as mesmas possuem características típicas de exossomos, como o diâmetro em torno de 100 nm. Na sequência, exossomos serão isolados de todas as amostras coletadas e o seu conteúdo de miRNAs será extraído e avaliado por RT-qPCR. Além disso, após a determinação do melhor método para o isolamento dos peptídeos urinários, o mesmo será aplicado nas amostras contidas em nosso biorrepositório e os peptídeos serão analisados por LC-MS/MS. Dessa forma, serão definidos e comparados os perfis qualitativos e quantitativos de peptídeos e miRNAs presentes na urina de pacientes com CaP e HPB e indivíduos saudáveis, permitindo a identificação de potenciais biomarcadores para o CaP.

Financiamento: PPSUS, DECIT/SCTIE/MS, CNPq, FAPERGS, SES-RS, BIC/UFRGS