



## **CARACTERIZAÇÃO ESPECTRAL RAMAN EM AMOSTRAS DE SORO SANGUÍNEO HUMANO NORMAL VISANDO DIAGNÓSTICO ONCOLÓGICO**

Raíssa Monteiro de Siqueira<sup>1</sup>; Dra. Ana Mara Ferreira Lima<sup>2</sup>;  
Prof. Dr. Pedro Luiz de Brito<sup>3</sup>; Prof. Dr. Landulfo Silveira Jr.<sup>4</sup>  
(orientador)

### **RESUMO**

O diagnóstico das neoplasias pediátricas representa um desafio clínico, devido os sintomas inespecíficos e à limitação de métodos diagnósticos convencionais quanto à sensibilidade e rapidez. Nesse contexto, a espectroscopia Raman surge como uma técnica promissora no diagnóstico e monitoramento de doenças, devido seu caráter não destrutivo, sua rapidez, e sua capacidade de fornecer informações moleculares detalhadas. Este estudo teve como objetivo caracterizar espectros Raman de amostras de soro sanguíneo humano normal, estabelecendo uma referência espectral para estudos futuros na área oncológica pediátrica. Foram analisadas 72 amostras de pacientes pediátricos não oncológicos (0 a 17 anos e 11 meses) por espectroscopia Raman (830 nm, 350 mW, 3 s X 10 acumulações por espectro). Os resultados evidenciaram picos predominantes associadas a proteínas (albumina e globulinas), aminoácidos, lipídios e sacarídeos. O pequeno desvio padrão demonstrou uniformidade entre as amostras analisadas. A espectroscopia Raman apresenta potencial para identificação de biomarcadores séricos, possibilitando a distinção e a comparação entre amostras oncológicas e saudáveis em pesquisas futuras.

Palavras-Chave: espectroscopia Raman; soro sanguíneo; diagnóstico.

### **INTRODUÇÃO**

O diagnóstico das neoplasias em crianças e adolescentes tem aumentado significativamente, tornando-se uma das principais causas de mortalidade nessa faixa etária (OLIVEIRA, 2021). Os tumores pediátricos geralmente possuem origem embrionária e curto período de latência, apresentando

sintomas inespecíficos, e consequentemente, dificultando o diagnóstico precoce, a identificação dos casos de recidiva, bem como a individualização do tratamento.

Para enfrentar esses desafios, têm sido cada vez mais utilizadas técnicas moleculares, histopatológicas, genéticas e de imagem, como imunohistoquímica (IQH), reação em cadeia da polimerase (PCR), biópsia, tomografia computadorizada (TC), tomografia por emissão de pósitrons (PET) (ELUMALAI, 2020), entre outros. No entanto, essas abordagens apresentam limitações quanto à especificidade, sensibilidade, e rapidez, tornando o diagnóstico mais demorado e impactando negativamente no prognóstico dos pacientes (ELUMALAI, 2020). Dessa forma, a busca por novas técnicas permanece sendo atual e relevante.

Nos últimos anos, a espectroscopia Raman tem se destacado por sua versatilidade, rapidez, e caráter não destrutivo aplicada à medicina, particularmente na análise de tecidos biológicos e no sangue periférico, auxiliando no diagnóstico e tratamento de neoplasias (SILVA, 2018; LIU, 2024). A técnica baseia-se no espalhamento inelástico da luz proveniente de um laser na região do infravermelho próximo e que incide sobre os materiais, gerando informações sobre os modos vibracionais moleculares. A espectroscopia Raman fornece dados moleculares em tempo real de forma não destrutiva, sem necessidade de reagentes, distinguindo-se de outras técnicas diagnósticas, cuja aplicação e translação clínica são restritas por questões logísticas e financeiras (KARNACHORITI, 2025; HE, 2025).

No entanto, a implementação de qualquer método diagnóstico por espectroscopia Raman exige o estabelecimento rigoroso de um espectro de referência do soro sanguíneo em condições não patológicas. O soro humano, sendo uma matriz complexa com alta concentração de proteínas, água e lipídios, requer a otimização metodológica e a caracterização espectral detalhada do seu perfil vibracional normal para que as variações espectrais induzidas pela neoplasia possam ser identificadas de forma inequívoca (LIMA, 2021; XIA, 2021).



Diante da necessidade da obtenção de métodos diagnósticos que aprimorem o monitoramento e o tratamento de crianças e adolescentes com câncer, o presente estudo propõe o uso da espectroscopia Raman para caracterizar amostras de soro sanguíneo de pacientes pediátricos não oncológicos, visando estabelecer uma referência espectral que auxiliará na comparação e na identificação de biomarcadores específicos para futuros estudos na área da oncologia pediátrica.

## **METODOLOGIA**

O presente estudo foi submetido ao Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) da Universidade Anhembi Morumbi (UAM) (Processo CAAE No. 23457019.9.0000.5492) visando atender a legislação do Ministério da Saúde (MS) no que se refere a pesquisas envolvendo seres humanos (Lei No. 466/2012). Todos os pacientes e responsáveis assinaram o Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (TALE), que informava todo o procedimento a ser realizado, bem como os riscos e benefícios da pesquisa.

Foram recrutados pacientes (0 a 17 anos e 11 meses) submetidos a tratamento oncológico no Hospital Centro de Tratamento Infantojuvenil Fabiana Macedo de Moraes (CFTM) associado à instituição filantrópica Grupo de Assistência à Criança com Câncer (GACC), e um grupo controle composto por pacientes com patologia cirúrgica não oncológica. Foram excluídos pacientes do grupo controle que cursem com patologias pré-existentes ou diagnosticadas no momento da internação. Neste estudo, foram selecionados apenas as amostras do grupo controle, sendo coletados 5 mL de sangue periférico em um tubo com ativador de coágulo e gel no momento da indução da anestesia, totalizando 72 amostras. Após a coleta, as amostras foram centrifugadas a 3000 rpm por 15 minutos e o soro obtido foi armazenado em *freezer* até a análise.

A determinação do espectro Raman foi realizada em uma gota do soro descongelado, utilizando um espectrômetro Raman dispersivo no infravermelho próximo (modelo Dimension P1, Lambda Solutions Inc., MA, EUA) que utiliza laser de diodo em 830 nm como fonte de excitação. O tempo de exposição



para a obtenção dos espectros foi de 3 s com 10 acumulações por espectro, e cada amostra foi analisada entre três e cinco vezes visando aumentar o número de espectros no modelo de diagnóstico.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O soro sanguíneo é uma matriz biológica extremamente complexa que abrange uma ampla gama de biomoléculas, como lipoproteínas, aminoácidos, vitaminas, glicose, proteínas, sais inorgânicos e água. A análise molecular do soro é fundamental para a avaliação do estado metabólico do organismo humano, sendo crucial para o diagnóstico clínico de disfunções em órgãos e tecidos, bem como desequilíbrios metabólicos, havendo um grande interesse no uso da espectroscopia Raman para desenvolver marcadores específicos relacionados a biomoléculas do soro humano visando diagnóstico.

Na Figura 1, é possível observar o espectro Raman médio normalizado das amostras do soro normal, que apresentou picos característicos, principalmente, associados às proteínas séricas, como albumina e globulina, que representam a maior parte do soro, tornando difícil a visualização das características espectrais de compostos menos abundantes e pequenas moléculas que podem atuar como biomarcadores de doenças.

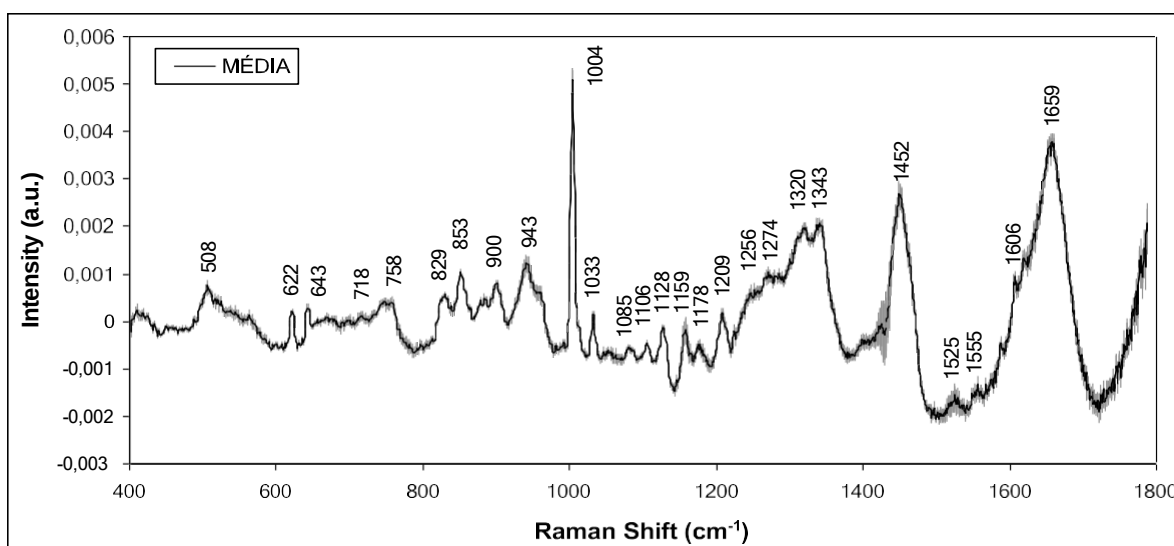


Figura 1 - Espectro Raman médio normalizado do soro sanguíneo de pacientes saudáveis e o desvio padrão (sombra cinza)

Os picos da albumina são também comuns a outras proteínas séricas (como por exemplo as globulinas), e encontram-se nas seguintes posições: 829 e 853  $\text{cm}^{-1}$  (duplete da tirosina), 1004  $\text{cm}^{-1}$  (anel aromático – fenilalanina), 1320  $\text{cm}^{-1}$  (triptofano – deformação  $\text{CH}_2$ ), 1452  $\text{cm}^{-1}$  (proteína – deformação  $\text{CH}_2$ ) e 1659  $\text{cm}^{-1}$  (amida I – conformação de  $\alpha$ -hélice); essas bandas evidenciam a estrutura da albumina e sua intensidade no soro. Além da albumina e globulina, também foram observadas bandas intensas em 1159 e 1526  $\text{cm}^{-1}$  atribuídas ao  $\beta$ - caroteno, que está associado a uma ação antioxidante fisiológica (JARCZEWSKA, 2025). As globulinas, por sua vez, apresentam picos semelhantes às da albumina, reforçando a predominância das proteínas na amostra saudável. A Tabela 1 apresenta as posições dos principais picos Raman do soro, sua constituição bioquímica e as atribuições baseadas na literatura (BAI, 2020; GONZÁLEZ, 2014; SILVA, 2018; SJOBERG, 2014).

*Tabela 1 - Posições dos picos das bandas Raman evidentes do soro sanguíneo saudável, atribuições conforme a literatura publicada*

| Posições dos picos ( $\text{cm}^{-1}$ ) | Atribuições                                                                                      | Referências     |
|-----------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| 508                                     | Triptofano/tirosina (anel aromático); cisteína/metionina [ $\nu$ (S–S)]                          | SILVA (2028)    |
| 622                                     | Fenilalanina [ $\tau$ (C–C)]                                                                     | BAI (2020)      |
| 643                                     | Tirosina [ $\delta$ (anel aromático)]                                                            | GONZÁLEZ (2014) |
| 718                                     | Polissacarídeos (C–H)                                                                            | GONZÁLEZ (2014) |
| 758                                     | Triptofano [ $\delta$ (anéis aromáticos)], [ $\delta$ (esqueleto)]                               | SILVA (2018)    |
| 829                                     | Triptofano/tirosina (anel aromático); glutathione [ $\gamma$ (CmH)]                              | SILVA (2018)    |
| 853                                     | Prolina [ $\nu$ (C–C)]                                                                           | BAI (2020)      |
| 900                                     | Triptofano/tirosina (anel aromático); glutathione [ $\nu$ (C–C)]                                 | SJOBERG (2014)  |
| 943                                     | Lípido [ $\nu$ (C–C)]                                                                            | SILVA (2018)    |
| 1004                                    | Fenilalanina (respiração do anel); beta-caroteno [ $\nu_{45}$ (C $\beta$ –alongamento vinílico)] | GONZÁLEZ (2014) |
| 1033                                    | Fenilalanina [ $\gamma$ (C $\beta$ –metil)]; triptofano/tirosina (anel aromático)                | GONZÁLEZ (2014) |
| 1106                                    | Fenilalanina (respiração do anel, $\nu_{45}$ ); triptofano/tirosina (anel aromático)             | GONZÁLEZ (2014) |
| 1128                                    | Proteínas (estiramento C–C)                                                                      | SILVA (2018)    |
| 1159                                    | Beta-caroteno [ $\delta$ (C–C–H)]                                                                | BAI (2020)      |



|      |                                                                                                                |                                           |
|------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|
| 1178 | Tirosina (anel aromático); fenilalanina (respiração do anel), [v (anel de pirrol, semi-anel) assimétrico]      | GONZÁLEZ (2014)                           |
| 1209 | Triptofano/tirosina (anel aromático); fenilalanina (respiração do anel); Metionina [ $\tau$ ( $\text{CH}_2$ )] |                                           |
| 1256 | Amida I                                                                                                        | KUHAR (2021)                              |
| 1274 | Amida III [ $\delta$ (NH)]; proteína [v (C–N)]                                                                 | BAI (2020)                                |
| 1320 | Triptofano (anel aromático);                                                                                   | BAI (2020); GOZÁLEZ (2014)                |
| 1343 | Proteínas; lipídios: $\text{CH}_3/\text{CH}_2$                                                                 | BAI (2020)                                |
| 1452 | Proteína [ $\delta$ ( $\text{CH}_2$ )]; aminoácidos [ $\delta$ (C–N–H)]                                        | SILVA (2018); SJOBERG (2014)              |
| 1526 | Beta-caroteno [v (C–N)]                                                                                        | BAI (2020)                                |
| 1555 | Triptofano (anel aromático); amida II [v (C–N)], [ $\beta$ (N–H)]                                              | GONZÁLEZ (2014)                           |
| 1606 | Ligações do anel fenílico – vibrações de estiramento (em fase)                                                 | KUHAR (2021)                              |
| 1659 | amida I [v (C=O)]; $\alpha$ -hélice [ $\delta$ (anéis)]                                                        | BAI (2020); GONZÁLEZ (2014); SILVA (2018) |

Esses achados corroboram com estudos prévios, como os de Silva et al. (2018) e Lima et al. (2023) que relataram perfil semelhante em amostras séricas/plasmáticas de indivíduos saudáveis, distinguindo-se significativamente dos espectros analisados de amostras de pacientes com câncer/leucemia. Em casos patológicos, há diminuição relativa nas bandas de  $\beta$ -caroteno e em bandas de proteínas, indicando alterações metabólicas e oxidativas relacionadas ao câncer.

## CONCLUSÃO

A caracterização espectral das amostras de soro analisadas nesse estudo permitiu definir um padrão espectral do soro sanguíneo normal, com predominância de bandas atribuídas a proteínas, aminoácidos, lipídios e sacarídeos, refletindo a composição bioquímica de um soro saudável. Os resultados obtidos estabelecem um padrão espectral de soro normal que servirá como base para comparações futuras com soro humano de pacientes oncológicos, contribuindo para a identificação de possíveis biomarcadores e para o desenvolvimento de métodos diagnósticos não invasivos e de alta sensibilidade por meio da espectroscopia Raman.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAI, Y. et al. Raman spectroscopy-based biomarker screening by studying the fingerprint characteristics of chronic lymphocytic leukemia and diffuse large B-cell lymphoma. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 190, p. 133514, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2020.113514>.

ELUMALAI, S.; MANAGÓ, S.; DE LUCA, A. C. Raman Microscopy: Progress in Research on Cancer Cell Sensing. **Sensors (Basel)**, v. 20, n. 19, p. 5525, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/s20195525>.

GONZÁLEZ-SOLÍS, J. L. et al. Monitoring of chemotherapy leukemia treatment using Raman spectroscopy and principal component analysis. **Lasers in Medical Science**, v. 29, n. 3, p. 1241-1249, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10103-013-1515-y>.

HE, Q. et al. Clinical study of the diagnosis of thyroid tumours using Raman spectroscopy. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, v. 91, n. 3, p. 101568, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bjorl.2025.101568>.

JARCZEWSKA K. et al. Raman spectroscopy and imaging reveal the effect of  $\beta$ -carotene supplementation on brain cancer cells. **Biochemistry**, v. 64, n.17, p. 3745-3759, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.5c00231>.

KUHAR, N.; SIL, S.; UMAPATHY, S. Potential of Raman spectroscopic techniques to study proteins. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 258, p. 119712, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2021.119712>.

KARNACHORITI, M. et al. Raman spectroscopy for colorectal tumor margin assessment: A promising tool for real-time surgical delimitation. **Talanta**, v. 290, p. 127787, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2025.127787>.



LIU, J. et al. Current research status of Raman spectroscopy in glioma detection. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 50, p. 104388, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2024.104388>.

OLIVEIRA CAVALCANTI, H. G. et al. Evaluation of the usability of a mobile application in early detection of pediatric cancer. **Revista Gaúcha de Enfermagem**, v. 42, e20190384, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1983-1447.2021.20190384>.

SILVA, A. M. et al. Spectral model for diagnosis of acute leukemias in whole blood and plasma through Raman spectroscopy. **Journal of Biomedical Optics**, v. 23, n. 10, p. 1-11, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1117/1.jbo.23.10.107002>.

SJÖBERG, B. et al. An experimental and theoretical study of the amino acid side chain Raman bands in proteins. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 128, p. 300-311, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2014.02.080>.

## FOMENTO

Raíssa Monteiro de Siqueira agradece ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) pela concessão de bolsa para a realização deste trabalho.

