

## **ANÁLISE DA SALIVA COMO BIOMARCADOR POTENCIAL NA DOENÇA DE PARKINSON E SEU CORRELATO COM ALFA-SINUCLÉINA ATRAVÉS DA ESPECTROSCOPIA RAMAN**

Msc. Samuel Quinto Feitosa<sup>1</sup>; Dr. Marcos Tadeu Tavares Pacheco<sup>1</sup>; Dr. Osmar Pinto Neto<sup>1</sup> (orientador)

1- Departamento de Engenharia Biomédica, Universidade Anhembi Morumbi, São José dos Campos, Brasil.

### **RESUMO:**

A doença de Parkinson (DP) é uma desordem neurodegenerativa progressiva que afeta milhões de pessoas em todo o mundo. O diagnóstico precoce é crucial para a eficácia do tratamento e a qualidade de vida dos pacientes. A pesquisa de biomarcadores tem sido um foco importante na busca por métodos não invasivos e acessíveis para a detecção e monitoramento da DP. A saliva emergiu como um meio promissor devido à sua acessibilidade e à presença de biomoléculas relacionadas à DP, como a proteína alfa-sinucleína. Este trabalho visa explorar a viabilidade da saliva como um biomarcador na DP e investigar a relação entre a concentração de alfa-sinucleína na saliva e a progressão da doença<sup>3</sup>. Neste contexto, a espectroscopia Raman é aplicada para caracterizar a composição molecular da saliva de pacientes com DP e indivíduos saudáveis, com foco especial na detecção da alfa-sinucleína.

### **INTRODUÇÃO:**

A doença de Parkinson (DP) é uma condição neurodegenerativa progressiva que afeta milhões de pessoas em todo o mundo. Uma característica central da DP é a acumulação anormal da proteína alfa-sinucleína no sistema nervoso central, resultando em disfunções motoras e cognitivas. A detecção precoce e o monitoramento da DP são fundamentais para a implementação de intervenções terapêuticas eficazes. A saliva, um fluido biológico acessível e de fácil coleta, tem se destacado como um meio promissor para a pesquisa de biomarcadores relacionados à DP, e a espectroscopia Raman tem sido uma técnica analítica valiosa nesse contexto, tendo como objetivo fazer um levantamento bibliográfico sobre a relação entre a alfa-sinucleína, a saliva e a DP visando um diagnóstico precoce da doença.



**PALAVRAS-CHAVE:** Parkinson, espectroscopia Raman, saliva.

## MÉTODO:

Foi feito um levantamento bibliográfico nos sites Frontiers in Neuroscience, Journal of Biological Chemistry e Pubmed utilizando as palavras-chave Parkinson, Raman e salivar fingerprint. Os espectros Raman observados em literatura foram adquiridos utilizando o microscópio Raman Aramis (Horiba Jobin-Yvon, França), equipado com uma fonte de laser a 785 nm com potência de emissão de 512 mW. A análise foi realizada após calibração do instrumento com a banda de referência do silício em 520,7  $\text{cm}^{-1}$ , utilizando um tempo de aquisição de 30s. A análise Raman encontrada na literatura foi realizada utilizando um mapa quadrado (80 mm 60 mm) próximo ao centro da gota, com aquisição de pelo menos 30 pontos para cada sujeito. A faixa de aquisição foi definida entre 400 e 1600  $\text{cm}^{-1}$ . Todas as análises foram realizadas utilizando uma 50 objetiva (Olympus, Japão) e com resolução espectral de 0,8  $\text{cm}^{-1}$ . A grade do laser foi ajustada em 600 enquanto o furo foi mantido em 400  $\mu\text{m}$ .

### Seleção de Pacientes

\* Para este estudo, foram selecionados 23 PD (n = 23), 10 AD (n = 10) e 33 CTRL (n = 33) para coleta de saliva.

PD – Parkinson disease  
AD – Alzheimer disease  
CTRL – grupo controle

**TABLE 1** | Number, age, male sex percentages, Hoehn and Yahr (H&Y), Unified Parkinson's Disease Rating Scale motor part III (UPDRS III), levodopa equivalent daily doses (LEDD) of subjects affected by Parkinson's disease (PD), by Alzheimer's disease (AD), and healthy subjects (CTRL).

	PD	AD	CTRL
Number	23	10	33
Age ( $p = 0.246$ )	69.9 $\pm$ 8.8	78.6 $\pm$ 7.9	63.5 $\pm$ 8
Male sex ( $p = 0.14$ )	74%	80%	66.6%
H&Y	2.19 $\pm$ 0.7	–	–
UPDRS III	31.7 $\pm$ 14.5	–	–
LEDD	466 $\pm$ 220	–	–

Subject's age in different groups was compared through ANOVA two-tailed t-test. Sex percentage was tested through Chi-square test. Values are followed by standard deviations ( $\pm$ SD) or by the relative percentage (%).

Imagem: <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.704963>

## Correlação com alfa-sinucleína:

A alfa-sinucleína é uma proteína central na patogênese da DP, uma vez que sua agregação anormal contribui para a formação de corpos de Lewy, marcadores patológicos da doença. Estudos utilizando espectroscopia Raman têm se concentrado na análise da conformação e estrutura da alfa-sinucleína na saliva de pacientes com DP. Essas investigações revelaram diferenças espectrais que podem estar relacionadas

à presença de formas anômalas da proteína, potencialmente correlacionando-se com a progressão da doença.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Para este estudo, foram encontrados 3 trabalhos, destes apenas um trabalho relevante para o tema proposto, descritos nos estudos de CARLOMAGNO et al. (2021), em que relataram que pacientes eram selecionados, 23 PD (n = 23), 10 AD (n = 10) e 33 CTRL (n = 33), para a coleta de saliva. Na metodologia descrita por CARLOMAGNO et al. 2021 para limitar a variabilidade dos resultados, o horário de coleta salivar foi fixado em um período adequado a partir da última refeição (2 horas) e da escovação dentária (2 horas) pela manhã, mantendo o mesmo horário de coleta para todos os participantes. Foram registrados tempo e temperatura de armazenamento (4° C)<sup>1</sup>. Espera-se obter com estes resultados um potencial biomarcador para diagnóstico precoce da DP concordando assim com os autores.

### Biomarcadores na saliva:

Estudos utilizando a espectroscopia Raman têm se concentrado na análise de componentes moleculares da saliva, como proteínas, lipídios e metabólitos<sup>4</sup>. A pesquisa identificou diferenças espectrais distintas entre a saliva de pacientes com DP e indivíduos saudáveis. Em particular, variações na composição de proteínas e lipídios têm sido observadas, sugerindo que esses biomarcadores podem desempenhar um papel na caracterização da DP.

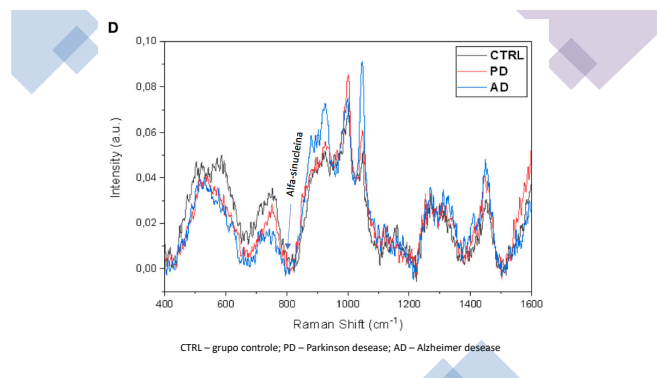


Imagem: <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.704963>

## **CONCLUSÕES:**

A análise da saliva como um biomarcador potencial na DP, em associação com a alfa-sinucleína, por meio da espectroscopia Raman, representa uma abordagem promissora na pesquisa sobre essa doença neurodegenerativa. Essa técnica oferece uma visão única da composição molecular da saliva, abrindo portas para o desenvolvimento de métodos diagnósticos não invasivos e o aprofundamento da compreensão da DP em níveis moleculares. Ainda temos poucos resultados correlacionados entre saliva, doença de Parkinson e alfa-sinucleína, por isso é necessário continuar a pesquisa para confirmar a validade e a utilidade clínica desses achados, visando, assim, melhorar a detecção precoce e o manejo da doença de Parkinson.

## **REFERÊNCIAS:**

CARLOMAGNO C; BERTAZIOLI D; GUALERZI A; PICCIOLINI S; ANDRICO M; RODÀ F; MELONI M; BANFI PI; VERDE F; TICOZZI N; SILANI V; MESSINA E; BEDONI M (2021) Identification of the Raman Salivary Fingerprint of Parkinson's Disease Through the Spectroscopic – Computational Combinatory Approach. *Front. Neurosci.* 15:704963. doi: 10.3389/fnins.2021.704963

EL-AGNAF O.M.; SALEM S.A.; PALEOLOGOU K.E.; COOPER L.J. et al. "Alpha-Synuclein Implicated in Parkinson's Disease is Present in Extracellular Biological Fluids, Including Human Plasma". *FASEB J.* 2003. 17(13): 1-16.

PARASKEVAIDI M.; MORAIS C.L.M.; HALLIWELL D.E.; MANN D.M.A., et al. "Raman Spectroscopy to Diagnose Alzheimers Disease and Dementia with Lewy Bodies in Blood". *ACS Chem. Neurosci.* 2018. 9(11): 2786-2794.

RODRÍGUEZ-LEYEVA I.; CALDERÓN-GARCIDUENAS A.L.; JIMÉNEZ-CAPDEVILLE M.E.; RENTERÍA-PALOMO A.A.; et al. "α-Synuclein Inclusions in the Skin of Parkinson's Disease and Parkinsonism". *Ann. Clin. Transl. Neurol.* 2014. 1(7): 471-478.





SINGH S.; JOSHI N. “Alpha Synuclein and Parkinson’s Disease”. In: Singh S., Joshi N., editors. Pathology, Prevention, and Therapeutics of Neurodegenerative Disease. Singapore: Springer, 2019. Chap. 1, Pp. 1–14.

### **FOMENTO**

O trabalho teve a concessão de Bolsa pelo Programa Institucional de Bolsas do SINPRO/MG e Ânima Educação.

