



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



**FACULDADE DE MEDICINA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E
DESENVOLVIMENTO NA REGIÃO CENTRO-OESTE**

ÉRICA DE MORAES SANTOS CORRÊA

**DETECÇÃO DE MOLÉCULAS BIOMARCADORAS DA DOENÇA DE PARKINSON
POR MEIO DE CROMATOGRAFIA GASOSA HIFENADA A ESPECTROMETRIA
DE MASSAS**

CAMPO GRANDE

2024

**FACULDADE DE MEDICINA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E
DESENVOLVIMENTO NA REGIÃO CENTRO-OESTE**

ÉRICA DE MORAES SANTOS CORRÊA

**LINHA DE PESQUISA: RADIAÇÕES E PROCEDIMENTOS FÍSICOS DIAGNÓSTICOS E
TERAPÊUTICOS EM SAÚDE.**

**DETECÇÃO DE MOLÉCULAS BIOMARCADORAS DA DOENÇA DE PARKINSON
POR MEIO DE CROMATOGRAFIA GASOSA HIFENADA A ESPECTROMETRIA DE
MASSAS**

Tese apresentada como requisito para a obtenção do
título de Doutora pela Faculdade de Medicina da
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, sob a
orientação do Prof. Dr. Albert Schiaveto de Souza.

CAMPO GRANDE

2024



Ata de Defesa de Tese
Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste
Doutorado

Aos dez dias do mês de dezembro do ano de dois mil e vinte e quatro, às oito horas, na Sala 103 - Bloco 10 (FAMED), da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos membros: Albert Schiaveto de Souza (UFMS), Carlos Eduardo Domingues Nazario (UFMS), Gustavo Christofoletti (UFMS), Karla de Toledo Candido Muller (UCDB) e Paulo Roberto Haidamus de Oliveira Bastos (UFMS), sob a presidência do primeiro, para julgar o trabalho da aluna: ÉRICA DE MORAES SANTOS CORRÊA, CPF ***.577.191-**, Área de concentração em Tecnologia e Saúde, do Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, Curso de Doutorado, da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, apresentado sob o título "DETECÇÃO DE MOLÉCULAS BIOMARCADORAS DA DOENÇA DE PARKINSON POR MEIO DE CROMATOGRÁFIA GASOSA HIFENADA A ESPECTROMETRIA DE MASSAS" e orientação de Albert Schiaveto de Souza. O presidente da Banca Examinadora declarou abertos os trabalhos e agradeceu a presença de todos os Membros. A seguir, concedeu a palavra à aluna que expôs sua Tese. Terminada a exposição, os senhores membros da Banca Examinadora iniciaram as arguições. Terminadas as arguições, o presidente da Banca Examinadora fez suas considerações. A seguir, a Banca Examinadora reuniu-se para avaliação, e após, emitiu parecer expresso conforme segue:

EXAMINADOR(A)	ASSINATURA	AVALIAÇÃO
Dr. Albert Schiaveto de Souza (Interno) Presidente da Banca Examinadora	 Documento assinado digitalmente ALBERT SCHIAVETO DE SOUZA Data: 10/12/2024 13:25:03-0300 Verifique em https://validar.it.gov.br	☒ Aprovação ☐ Aprovação c/ revisão ☐ Reprovação
Dr. Carlos Eduardo Domingues Nazario (Externo)	 Documento assinado digitalmente CARLOS EDUARDO DOMINGUES NAZARIO Data: 10/12/2024 15:20:22-0300 Verifique em https://validar.it.gov.br	☒ Aprovação ☐ Aprovação c/ revisão ☐ Reprovação
Dr. Gustavo Christofoletti (Interno)	 Documento assinado digitalmente GUSTAVO CHRISTOFOLETTI Data: 10/12/2024 13:36:01-0300 Verifique em https://validar.it.gov.br	☒ Aprovação ☐ Aprovação c/ revisão ☐ Reprovação
Dra. Karla de Toledo Candido Muller (Externo)	 Documento assinado digitalmente KARLA DE TOLEDO CANDIDO MULLER Data: 10/12/2024 18:45:36-0300 Verifique em https://validar.it.gov.br	☒ Aprovação ☐ Aprovação c/ revisão ☐ Reprovação
Dr. Paulo Roberto Haidamus de Oliveira Bastos (Interno)	 Documento assinado digitalmente PAULO ROBERTO HAIDAMUS DE OLIVEIRA BASTOS Data: 10/12/2024 18:55:49-0300 Verifique em https://validar.it.gov.br	☒ Aprovação ☐ Aprovação c/ revisão ☐ Reprovação
Dr. Valter Aragao do Nascimento (Interno) (Suplente)		☐ Aprovação ☐ Aprovação c/ revisão ☐ Reprovação

RESULTADO FINAL: ☒ APROVAÇÃO ☐ APROVAÇÃO COM REVISÃO ☐ REPROVAÇÃO

OBSERVAÇÕES: A aluna Érica apresentou seu trabalho no tempo regulamentar e respondeu satisfatoriamente a todos os questionamentos feitos pelos membros da banca examinadora.

Documento assinado digitalmente
ERICA DE MORAES SANTOS CORREA
Data: 10/12/2024 19:54:05-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Assinatura do(a) Aluno(a)

Nada mais havendo a ser tratado, o(a) Presidente declarou a sessão encerrada e agradeceu a todos pela presença.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por me permitir chegar até aqui. Após seis anos na pós-graduação, entre o mestrado e o doutorado, vivi momentos de superação que resultaram em valiosos aprendizados e crescimento tanto profissional quanto pessoal. Essas experiências serão levadas por toda a vida.

Agradeço à minha família pelo apoio e incentivo incondicional; vocês são o meu tesouro mais precioso. Sou muito grata ao meu esposo, Jefferson Corrêa, por sempre investir nos meus sonhos e por estar ao meu lado, apoiando minhas escolhas, inclusive quando aceitou a aventura de morar fora do Brasil por um semestre, para que eu pudesse estudar em outro país durante uma parte do doutorado. Seu apoio, tanto emocional quanto financeiro, foi fundamental para que eu pudesse seguir meus objetivos e crescer. Sou também grata aos meus filhos, Jéssica e Matheus, que me enchem de orgulho e alegria, fazendo com que cada esforço valha a pena. Ver a jornada de vocês e o sucesso que conquistaram me enche de orgulho e me inspira a continuar seguindo em frente.

Gostaria de expressar um agradecimento especial ao Prof. Dr. Albert Schiaveto, cujos ensinamentos continuam a ser uma grande fonte de inspiração para mim. Tenho imensa alegria em ver o crescimento profissional do senhor, que, ao longo dos anos, trilhou com dedicação a caminhada na docência, na gestão e hoje é vice-reitor da nossa Universidade. O senhor é um verdadeiro modelo, não apenas como professor, mas também como ser humano. Em momentos desafiadores na docência, frequentemente me pergunto: 'O que o Prof. Albert faria?' Isso me traz calma e me lembra da importância de ser gentil e generosa com todos. Agradeço imensamente pela confiança e paciência ao longo de toda essa jornada.

A conclusão dessa pesquisa só foi possível graças à contribuição de muitas pessoas incríveis. Agradeço ao Prof. Dr. Gustavo Christofolletti por abrir as portas da Clínica Escola da UFMS e confiar seus pacientes à minha pesquisa. Aprendi muito com o senhor; seu profissionalismo, dedicação e generosidade são verdadeiramente admiráveis. Gostaria de expressar minha profunda gratidão a todas as pessoas que, de maneira gentil, aceitaram o convite e contribuíram para a formação das amostras desta pesquisa. A colaboração de cada um de vocês foi fundamental para o sucesso deste trabalho.

Sou grata a todas as pessoas extraordinárias que conheci no Instituto de Química da UFMS. Agradeço ao Prof. Dr. Carlos Eduardo Domingues Nazario por disponibilizar os recursos necessários para as análises cromatográficas. Quero expressar minha admiração e carinho por duas mulheres inspiradoras: minha querida amiga e doutoranda Marciéli Rodrigues, que merece um agradecimento especial pela execução brilhante das análises. Sou grata pelo tempo, dedicação e empenho dela, que foram essenciais para o sucesso deste trabalho. Também sou profundamente grata à Profa. Dra. Glaucia Braz Alcântara pela contribuição significativa e por compartilhar generosamente seu tempo e conhecimento, que foram fundamentais para os resultados desta pesquisa. A UFMS é feita de pessoas como vocês, que com seu exemplo e dedicação tornam a instituição um lugar ainda melhor.

A pós-graduação *Stricto Sensu* não se resume apenas à pesquisa, mas também ao aprendizado na docência. Durante esses seis anos, tive a oportunidade de me desenvolver e adquirir experiências como professora voluntária e substituta no Instituto de Biociências da UFMS. Nesse contexto, gostaria de expressar minha sincera gratidão à Profa. Dra. Maria Inês Lenz, que tanto me ensinou sobre o que significa ser uma professora excepcional de fisiologia. Agradeço de coração pelo apoio, pela amizade e pelos valiosos ensinamentos.

Reconheço ainda o trabalho dos professores e técnicos do PPGSD, que constroem um programa cada vez melhor. Agradeço à PROPP pela promoção da divulgação científica e à CAPES pela concessão de bolsas que auxiliam ao longo da pós-graduação.

Chego ao fim dessa jornada com muito mais do que o conhecimento adquirido: levo comigo a gratidão por todos que fizeram parte dessa caminhada. Cada passo, cada desafio, só foi possível graças ao apoio e ao carinho de todos. A todos, meu mais sincero agradecimento.

“Mas o Mestre não se contém e procura, nas costas do seu discípulo, prenúncios de asas – asas que ele imaginara haver visto como sonho, dentro dos seus olhos. O Mestre sabe que todos os homens são seres alados por nascimento, e que só se esquecem da vocação pelas alturas quando enfeitiçados pelo conhecimento das coisas já sabidas. Ensinou o que sabia. Agora chegou a hora de ensinar o que não sabe: o desconhecido”.

Rubem Alves – A Alegria de Ensinar

RESUMO

A doença de Parkinson (DP) é uma doença neurodegenerativa progressiva caracterizada por hipocinesia, rigidez, tremor em repouso e instabilidade postural. Esses sintomas decorrem da degeneração progressiva dos neurônios dopaminérgicos na substância negra compacta mesencefálica, levando a uma deficiência dopaminérgica. O diagnóstico precoce da doença é fundamental para permitir intervenções terapêuticas que preservem a função neuronal remanescente, retardem a progressão dos sintomas e promovam uma melhor qualidade de vida. Nesse contexto, identificar biomarcadores da DP é crucial para diagnóstico precoce, monitoramento da progressão e desenvolvimento de tratamentos específicos. Além disso, facilita a participação em ensaios clínicos e impulsiona o desenvolvimento de tratamentos mais eficazes, promovendo avanços científicos no entendimento e no combate à neurodegeneração. O objetivo deste estudo foi identificar biomarcadores da DP em compostos orgânicos voláteis presentes no sebo e suor humano, utilizando cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. Foram analisados dois grupos experimentais, compostos por 7 indivíduos no grupo DP e 7 indivíduos sem a doença no grupo controle. A análise cromatográfica utilizou a técnica de *headspace* (HS) para amostras de sebo e suor. As amostras foram incubadas a 76 °C por 5 minutos com agitação controlada, e o HS coletado (500 µL) foi injetado no CG-MS para análise. Os resultados obtidos foram os seguintes: (1) Foram desenvolvidos os critérios para a coleta de amostras dos biofluidos sebo e suor; (2) Foram estabelecidos os parâmetros de análise por cromatografia gasosa; (3) Diversas substâncias foram identificadas nas amostras de ambos os grupos; e (4) Foram observadas diferenças substanciais na composição do sebo e do suor entre os grupos controle e DP, sugerindo como possíveis biomarcadores o ácido eicosanoico, o ácido *cis*-vacênico, o ácido *cis*-10-heptadecenoico, o ácido erúcico e o ácido ascórbico 2,6-dihexadecanoato. Este estudo identificou potenciais biomarcadores da DP no sebo e suor humano, contribuindo para o avanço no entendimento da doença.

Palavras-chave: Doença de Parkinson; Doença Neurodegenerativa; Biomarcadores; Sebo; Suor.

ABSTRACT

Parkinson's disease (PD) is a progressive neurodegenerative disease characterized by hypokinesia, rigidity, resting tremor and postural instability. These symptoms result from the progressive degeneration of dopaminergic neurons in the mesencephalic substantia nigra compacta, leading to a dopaminergic deficiency. Early diagnosis of the disease is essential to enable therapeutic interventions that preserve the remaining neuronal function, slow down the progression of symptoms and promote a better quality of life. In this context, identifying PD biomarkers is crucial for early diagnosis, monitoring progression and developing specific treatments. It also facilitates participation in clinical trials and drives the development of more effective treatments, promoting scientific advances in understanding and combating neurodegeneration. The aim of this study was to identify PD biomarkers in volatile organic compounds present in human sebum and sweat, using gas chromatography coupled with mass spectrometry. Two experimental groups were analyzed, consisting of 7 individuals in the PD group and 7 individuals without the disease in the control group. The chromatographic analysis used the headspace (HS) technique for sebum and sweat samples. The samples were incubated at 76 °C for 5 minutes with controlled stirring, and the HS collected (500 µL) was injected into the GC-MS for analysis. The results obtained were as follows: (1) Criteria were developed for the collection of samples of the sebum and sweat biofluids; (2) Gas chromatography analysis parameters were established; (3) Various substances were identified in the samples from both groups; (4) Substantial differences were observed in the composition of sebum and sweat between the control and PD groups, suggesting eicosanoic acid, cis-vaccenic acid, cis-10-heptadecenoic acid, erucic acid and 2,6-dihexadecanoate ascorbic acid as possible biomarkers. This study identified potential PD biomarkers in human sebum and sweat, contributing to advances in understanding the disease.

Keywords: Parkinson's disease; Neurodegenerative disease; Biomarkers; Sebum; Sweat.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Resumo simplificado do papel dos núcleos da base no movimento.....	21
Figura 2: Esquema representativo dos núcleos da base, mostrando as projeções da via direta e da via indireta com áreas motoras do córtex cerebral e o tálamo e as alterações causadas pela DP.....	21
Figura 3: Representação esquemática do modelo clássico da via direta/indireta nas condições fisiológicas e na DP.....	23
Figura 4: Foto da senhora Joy Milne e seu falecido marido Les, publicada pelo <i>The Guardian Journal</i> em 2022	33
Figura 5: Foto ilustrativa dos instrumentos utilizados para coletas de sebo e suor, no LABCOM/UFMS.....	41
Figura 6: Foto ilustrativa do alicate para fixação manual de lacres do tipo CRIMP.....	41
Figura 7: Esquema ilustrativo dos procedimentos de coleta e análise de sebo e suor	42
Figura 8: Foto ilustrativa da seringa modelo Hamilton 1 mL, <i>samplelock</i> , utilizada para injeção de amostras no CGMS.....	44
Figura 9: Foto ilustrativa do aparelho cromatógrafo gasoso acoplado a espectrometria de massas, do LABCOM/UFMS.....	44

Figura 10: Foto ilustrativa do sistema de injeção de amostras de GC.....	45
Figura 11: Foto ilustrativa do cromatograma demonstrando os picos registrados durante análise de uma amostra de sebo.....	45
Figura 12: Escores e <i>loadings</i> obtidos por PCA e escores e VIP-scores obtidos por PLS-DA, respectivamente, para os compostos identificados a partir dos dados de GC-MS para as amostras de sebo.....	56
Figura 13: Escores e <i>loadings</i> obtidos por PCA e escores e VIP scores obtidos por PLS-DA, para as proporções relativas dos picos cromatográficos correspondentes.....	57
Figura 14: Proporção relativa das áreas dos picos cromatográficos correspondentes aos compostos destacados por PLS-DA	58
Figura 15: Escores e <i>loadings</i> obtidos por PCA e escores e VIP scores obtidos por PLS-DA, para os compostos identificados a partir dos dados de GC-MS para as amostras de suor.....	59
Figura 16: Escores e <i>loadings</i> obtidos por PCA e escores e VIP-scores obtidos por PLS-DA, para as proporções relativas dos picos cromatográficos correspondentes aos compostos do suor.....	60
Figura 17: Proporção relativa das áreas dos picos cromatográficos correspondentes aos compostos destacados por PLS-DA	61

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro1: Classificação das Faixas Etárias para a DP.....32

Quadro 2: Características demográficas dos participantes: Idade, gênero e média $\pm$ desvio
Padrão 39

Quadro 3: Estudo piloto para avaliação de diferentes métodos de coleta e acondicionamento de amostras biológicas de sebo e suor para análise por CG-MS..... 41

Tabela 1: Parâmetros utilizados na cromatografia gasosa hifenada a espectrometria de massas (CG-MS), nas análises de branco, sebo e suor..... 49

Tabela 2: Substâncias voláteis identificadas pela CG-MS no suor de participantes do grupo controle e DP.....51

Tabela 3: Substâncias voláteis identificadas pela CG-MS no sebo de participantes do grupo controle e DP52

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C – graus célsius

CEI – Clínica Escola Integrada

CEP - Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos

CG-MS - Cromatografia gasosa hifenada a espectrometria de massas

COVs - compostos orgânicos voláteis

DALYs - Anos de vida ajustados por incapacidade

DP – Doença de Parkinson

DPIP - Doença de Parkinson de Início Precoce

DS – Dermatite seborreica

D₁-R - Receptor dopaminérgico do tipo 1

D₂-R - Receptor dopaminérgico do tipo 2

EI – Impacto de elétrons

HS - *headspace*

INQUI - Instituto de Química

LABCOM - Laboratório de Combustíveis

NMI – Neurônio motor inferior

NIST - *National Institute of Standards and Technology*

NPP – Núcleo pedunculo pontino

OMS - Organização Mundial da Saúde

SNC - Sistema nervoso central

UFMS – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	18
2.1 Doença de Parkinson	18
2.2 Núcleos da base	21
2.3 Substância negra	23
2.4 Neurofisiopatologia da doença de Parkinson	25
2.5 Doença de Parkinson e alterações dermatológicas	32
2.6 Linhas de pesquisa sobre a doença de Parkinson	27
2.7 Diagnóstico da doença de Parkinson.....	30
2.7.1 Testes de diagnóstico de imagem.....	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.
2.7.2 Classificação da doença de Parkinson quanto ao início dos sintomas	31
2.7.3 Possíveis diagnósticos	33
2.8 Cromatografia gasosa.....	35
3 OBJETIVOS	37
3.1 Objetivo geral:	37
3.2 Objetivos específicos.....	37
4 MÉTODOS.....	38

4.1 Tipo, período e local da coleta de amostras.....	38
4.2 Local e período de análises de amostras	38
4.3 Critérios de inclusão	38
4.4 Critérios de não inclusão.....	39
4.5 Procedimentos metodológicos.....	39
4.5.1 Seleção dos participantes.....	39
4.5.2 Grupos experimentais.....	39
4.5.3 Método de coleta de amostras para CG-MS	40
4.5.4 Método de análise de sebo e suor por GC-MS	45
5 RESULTADOS	49
5.1 Resultados do objetivo I – metodologia de coleta de amostras de sebo e suor	49
5.2 Resultados do objetivo II – Estabelecimento de protocolo de análise de moléculas secretadas no sebo e suor	51
5.3 Resultados do objetivo III - Separação de moléculas secretadas no sebo e suor	53
5.4 Resultados do objetivo IV – Análises quimiométricas para diferenciação no padrão de secreção de moléculas	57
6 DISCUSSÃO	66
7 CONCLUSÃO.....	72

REFERÊNCIAS.....	73
------------------	----

1. INTRODUÇÃO

O aumento da expectativa de vida tem sido uma conquista notável da sociedade contemporânea. No entanto, este avanço não vem isento de desafios significativos, especialmente no que diz respeito à saúde na terceira idade (Dias-Carvalho *et al.*, 2024). Com o envelhecimento da população, observa-se um crescimento expressivo nas doenças associadas à idade, destacando-se a doença de Parkinson (DP) como uma das condições de grande relevância (Rocca, 2018; Nasrolahi *et al.*, 2019). À medida que as pessoas vivem mais, torna-se essencial compreender a complexa interação entre o envelhecimento e as patologias neurodegenerativas, como a DP (Coleman; Martin, 2022). Este fenômeno não apenas demanda uma abordagem integrada na pesquisa e no desenvolvimento de estratégias preventivas e terapêuticas, mas também destaca a urgência de políticas de saúde pública voltadas para o envelhecimento saudável e a melhoria da qualidade de vida na terceira idade (De Miranda *et al.*, 2022; Vollset *et al.*, 2024).

A DP é uma condição neurodegenerativa progressiva que afeta o sistema nervoso central (SNC) e tem sido objeto de intensa pesquisa e atenção médica nas últimas décadas (Dorcey; Bloem, 2018). Caracterizada, clinicamente por sintomas motores como tremores, rigidez muscular e dificuldades de coordenação, a DP não apenas impacta a qualidade de vida dos indivíduos acometidos, mas também representa um desafio significativo para os profissionais de saúde que buscam compreender sua etiologia, desenvolver métodos de diagnóstico precoce, tratamentos eficazes e aprimorar estratégias de manejo (Sveinbjornsdottir, 2016; Charvin *et al.*, 2018).

No panorama atual da DP, podemos destacar os avanços recentes na compreensão da fisiopatologia, abordagens terapêuticas farmacológicas e não farmacológicas, tratamentos cirúrgicos, mas o diagnóstico precoce parece ser ainda uma área desafiadora para ciência e para os profissionais que atuam diretamente com as pessoas com DP (Ghamgosha *et al.*, 2018; Almikhlafi, 2023; Alanazi, 2024). Além disso, os desafios associados ao diagnóstico precoce da DP ressaltam a importância de se buscar métodos inovadores e biomarcadores emergentes que têm o potencial de revolucionar a detecção precoce e, por conseguinte, abrir portas para intervenções mais eficazes. Nesse contexto, as discussões sobre as implicações sociais e econômicas do diagnóstico tardio e a falta de iniciativas voltadas para a sensibilização e educação pública sobre os sinais precoces da doença, são insuficientes (Agnello *et al.*, 2024).

No que diz respeito às opções terapêuticas, os tratamentos convencionais, como a administração de medicamentos dopaminérgicos, bem como as inovações terapêuticas recentes, incluindo abordagens baseadas em terapia genética e células-tronco, apresentam seus benefícios e suas limitações, destacando a importância de estratégias multidisciplinares e personalizadas no manejo da DP (Ghamgosha *et al.*, 2018; Abad-García *et al.*, 2022). Por fim, as perspectivas futuras e as pesquisas em andamento que visam não apenas aprimorar as opções terapêuticas existentes, mas também identificar potenciais marcadores preditivos e alvos moleculares para intervenções mais direcionadas (Agnello *et al.*, 2024). Ao compreendermos o panorama atual da DP, poderemos delinear caminhos promissores para melhorar o diagnóstico, o tratamento e, em última análise, a qualidade de vida daqueles que enfrentam essa condição desafiadora.

Atualmente, as intervenções terapêuticas disponíveis não são capazes de reduzir ou impedir a progressão da doença. Isso se deve ao fato de que os danos provavelmente progrediram ao longo de anos ou décadas, resultando em uma perda neuronal dopaminérgica nigral antes mesmo da manifestação de qualquer tipo de sintoma motor (Branchi *et al.*, 2010). A falta de um marcador biológico definitivo, amplamente reconhecido para a DP, é evidente. Assim, surge a summa necessidade de desenvolver métodos que sejam capazes identificar marcadores biológicos que sejam úteis no diagnóstico precoce da doença (Pathak *et al.*, 2022). Biomarcadores são indicadores biológicos mensuráveis que refletem processos fisiológicos, patológicos ou respostas a intervenções terapêuticas (Strimbu; Tavel, 2011). No contexto da DP, biomarcadores podem auxiliar na detecção precoce, monitoramento da progressão da doença e avaliação da eficácia de tratamentos, desempenhando um papel fundamental no avanço do diagnóstico e manejo clínico. Isso é impulsionado por alguns fatores cruciais, que poderiam viabilizar intervenções no início do curso da doença, minimizando perdas neuronais tão expressivas, mesmo antes do indivíduo notar qualquer sintoma, bem como, um biomarcador também permitiria uma melhor avaliação do progresso das terapias destinadas a retardar ou interromper a progressão da DP (Trivedi *et al.*, 2019)

O objetivo central deste estudo foi identificar moléculas indicativas da presença da DP, utilizando a técnica de cromatografia gasosa hifenada à espectrometria de massas (GC-MS). Inicialmente, foi necessário desenvolver uma metodologia eficaz para a coleta de sebo e suor em seres humanos, garantindo quantidades suficientes para as análises. Posteriormente, estabeleceu-se um protocolo detalhado para a análise das moléculas presentes no sebo e suor

humano, utilizando a cromatografia gasosa como ferramenta principal. O próximo passo envolveu o isolamento das principais moléculas presentes no sebo e suor dos indivíduos, considerando tanto aqueles diagnosticados com a DP quanto aqueles sem a condição. Finalmente, o estudo visou diferenciar as moléculas secretadas no sebo e suor de indivíduos diagnosticados com a DP daquelas secretadas por pessoas não acometidas pela doença.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Doença de Parkinson

Em Londres no ano de 1871, foi originalmente publicado um texto intitulado “*Essay on the Shaking Palsy*” (ensaio sobre a paralisia trêmula). No texto, o cirurgião inglês, James Parkinson, relatou alguns casos que descreviam as características de uma condição clínica desconhecida até o momento.

“Movimento trêmulo involuntário, com diminuição da potência muscular, em partes que não estão em ação e mesmo quando apoiadas; com tendência a inclinar o tronco para a frente e a passar do ritmo de caminhada para o de corrida: os sentidos e o intelecto permanecem ilesos” (Parkinson, 2002, p. 223-236).

Neste texto, o Dr. Parkinson expressou otimismo ao sugerir que em breve poderíamos encontrar um método de correção capaz de interromper o avanço da doença (Parkinson, 2002). Contudo, mesmo após mais de 200 anos, ainda não conseguimos desenvolver uma terapia neuroprotetora definitiva para a DP. Apesar disso, nas últimas décadas, avançamos significativamente na compreensão molecular da neurodegeneração na DP, o que nos aproxima da possibilidade de alcançar terapias efetivas para modificar a doença (Simon *et al.*, 2020).

Posteriormente, os achados de James Parkinson foram aprimorados pelo pai da neurologia moderna, o francês Jean-Martin Charcot, que, em meados do século XIX, adicionou à descrição de James Parkinson uma condição que apresentava lentidão de movimentos, o que

dificultava o ato motor dos pacientes em questão. A este aspecto deu o nome de 'bradicinesia' (Goetz, 2011).

No Brasil, no ano de 1900, foi documentado um dos primeiros registros conhecidos da DP, em São Paulo. Nesse sentido, o médico Dias Martins publicou um artigo na Revista Médica de São Paulo intitulado 'Moléstia de Parkinson'. No referido artigo, ele descreve o caso de um agricultor de 70 anos que, cinco anos antes, começou a manifestar progressivamente uma condição caracterizada por mudanças na força muscular (Martins, 1900; Meneses; Teive, 2003).

Segundo a Organização Mundial da Saúde – OMS (2023) a prevalência da DP dobrou nos últimos 25 anos, com estimativas globais de 2019 indicando que mais de 8,5 milhões de pessoas viviam com a doença. Esse aumento é refletido também nos indicadores de carga da doença, como os Anos de Vida Ajustados por Incapacidade (*DALYs*), que em 2019 somaram 5,8 milhões, um aumento de 81% desde o ano 2000. Os *DALYs* combinam a perda de anos de vida devido à morte prematura e a perda de qualidade de vida associada à incapacidade, indicando que a DP tem causado um impacto crescente não só no número de casos, mas também na saúde e bem-estar das pessoas acometidas. Além disso, a DP resultou em 329.000 mortes em 2019, um aumento superior a 100% em relação ao ano 2000. Esse crescimento nas mortes e na carga da doença pode ser atribuído ao envelhecimento da população mundial, já que a DP é mais comum em idades avançadas, e também ao maior reconhecimento da doença e à melhoria nos diagnósticos. Esses dados ressaltam a importância da DP como uma preocupação crescente de saúde pública global, com um impacto cada vez maior em termos de qualidade de vida e mortalidade (*World Health Organization*, 2023).

A DP é o principal distúrbio de movimento apresentado pela população acima dos 60 anos, sendo a segunda doença neurodegenerativa que mais acomete as pessoas idosas em todo o mundo, perdendo apenas para a doença de Alzheimer (Poewe; Mahlke, 2009; Taura *et al.*, 2018), transformando esse distúrbio em uma das principais fontes de incapacidade neurológica (Tolosa *et al.*, 2021). Para além do processo de envelhecimento, a condição também está ligada a outros elementos de risco, incluindo antecedentes familiares, contato com pesticidas e substâncias químicas presentes no meio ambiente, como, por exemplo, o uso de opiáceos sintéticos. Contudo, sua origem exata permanece sem esclarecimento (Beitz, 2014; Vasconcellos, 2020; De Miranda *et al.*, 2022).

A DP é caracterizada como uma síndrome motora que se manifesta pela associação de seis sintomas básicos: (1) tremor em repouso; (2) rigidez; (3) bradicinesia/hipocinesia; (4)

postura flexionada; (5) perda de reflexos posturais e (6) fenômeno de congelamento. Para o diagnóstico clínico da DP, pelo menos dois sintomas devem estar combinados, sendo que um deles deve ser tremor em repouso ou bradicinesia (Rowland, 2007; Postuma *et al.*, 2015a; Tolosa *et al.*, 2021). Assim, os distúrbios motores conduzem a uma progressiva perda funcional, impactando negativamente as atividades de vida diária e a qualidade de vida dos indivíduos. Embora os sintomas motores clássicos geralmente se manifestem precocemente e sirvam como base para os critérios de diagnóstico atuais, a evolução da instabilidade postural, agravada pela dificuldade de locomoção, hipotensão ortostática, disfagia, sialorreia e disartria, desempenham um papel significativo na progressão da disfunção motora (Fanciulli *et al.*, 2020; Tolosa *et al.*, 2021).

A DP não é caracterizada apenas por alterações motoras complexas, também é considerada uma doença sistêmica, pois seus sintomas não motores geralmente precedem os sinais motores clínicos (Miller; Callaghan, 2015). Ao longo dos anos, há evidências que indicam que os sinais da DP são abrangentes e apresentam uma "fase pré-motora" (Pinto *et al.*, 2019; Elkouzi *et al.*, 2019). Estes sinais, não relacionados ao movimento, envolvem uma infinidade de funções e podem surgir muitos anos antes dos sintomas motores. Eles incluem declínio cognitivo (incluindo disfunção executiva frontal, déficits de memória, demência e alucinozes), distúrbios do humor e afeto, disfunção autonômica (principalmente hipotensão ortostática, disfunção urogenital, constipação e hiperidrose), sintomas sensoriais (mais proeminentemente hiposmia), dor, depressão, ansiedade, perturbações no ciclo de sono-vigília, bem como modificações em outras áreas do corpo, como a pele (Zurkovsky *et al.*, 2013; Bonito-Oliva; Masini; Fisone, 2014; Ubeda-Bañon *et al.*, 2014; ; Planken *et al.*, 2017;). De acordo com Poewe (2017), os sintomas não motores tornam-se cada vez mais prevalentes ao longo do curso da doença e são um dos principais determinantes da qualidade de vida, progressão da incapacidade geral e da internação hospitalar.

2.2 Núcleos da Base

Devido ao envolvimento dos núcleos da base em ambas as ações voluntárias e automáticas, ocorre uma falha em seu funcionamento, podendo levar a condições caracterizadas pela redução ou aumento da motricidade, conhecidos como distúrbios hipocinéticos e hiperkinéticos, respectivamente. Entre os distúrbios hipocinéticos, os sinais associados à DP são principalmente atribuídos à degeneração de neurônios dopaminérgicos na substância negra compacta, resultando em deficiência de dopamina (Armentero *et al.*, 2011; Meoni *et al.*, 2020).

Os núcleos da base são um conjunto de núcleos subcorticais que desempenham um papel crucial no planejamento e início dos movimentos. Eles são organizados morfofisiologicamente em redes paralelas que processam diversos tipos de informações neurais. Os núcleos basais podem ser categorizados como: (a) núcleos de entrada, responsáveis por receber informações do córtex e do tálamo, constituídos pelo núcleo caudado, putâmen e accumbens; (b) núcleos de saída, que transmitem informações dos núcleos da base para o tálamo, incluindo o globo pálido interno e a substância negra reticulada; e (c) núcleos intrínsecos, formados pela subdivisão do globo pálido externo, do núcleo subtalâmico e da substância negra compacta (Armentero *et al.*, 2011; Kandel; Schwartz; Jessel, 2014; Acosta-Mejia; Villalobos, 2023).

A formação dos núcleos da base ocorre pela interligação de múltiplos núcleos, e esses conjuntos nervosos desempenham o papel de regular as atividades das vias descendentes do SNC. Embora não haja conexões diretas desses núcleos com os motoneurônios motores inferiores, sua função é crucial para preservar o equilíbrio da função motora (Acosta-Mejia; Villalobos, 2023).

A principal alteração na DP é a redução da dopamina na substância negra compacta, o que leva à hiperatividade dos núcleos estimuladores (Aristieta *et al.*, 2024). Essa hiperatividade, por sua vez, inibe o tálamo motor, diminuindo a estimulação das áreas motoras do córtex cerebral. As células do núcleo pedunculopontino (NPP) começam a morrer e essa perda neuronal, juntamente com a inibição excessiva do NPP pelos núcleos estimuladores, resulta na desinibição de vários tratos ativadores mediais (Lavian *et al.*, 2017). Os núcleos da base fornecem uma inibição excessiva ao tálamo motor, o que faz com que o córtex motor se torne menos ativo do que o normal. Como consequência, os tratos corticoespinais oferecem um nível reduzido de facilitação aos neurônios motores inferiores responsáveis pela inervação dos

músculos voluntários (Zhai *et al.*, 2023). Além disso, os núcleos da base promovem uma inibição excessiva do NPP, o que resulta em uma diminuição da inibição dos tratos reticuloespinal e vestibuloespinal. Isso leva à facilitação excessiva dos neurônios motores inferiores, que inervam os músculos responsáveis pela postura (Lundy-Ekman, 2020).

No que diz respeito ao movimento, esses núcleos desempenham um papel na regulação da contração e força muscular, na coordenação dos movimentos de diversas articulações e nas sequências de movimentos. Estes núcleos estão localizados no encéfalo, e sua proximidade anatômica lhes confere nomes comuns: o globo pálido e o putâmen juntos formam o núcleo lenticular, enquanto o caudado e o putâmen juntos formam o estriado (Kandel; Schwartz; Jessel, 2014; Lundy-Ekman, 2008).

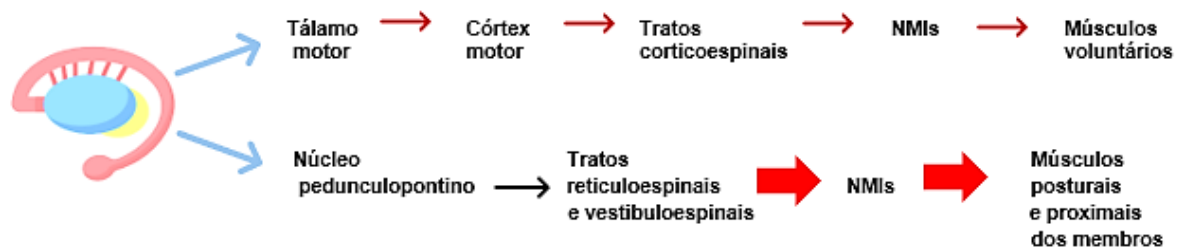


Figura 1: Representação esquemática do papel dos núcleos da base no controle motor, mostrando as conexões com o tálamo motor, córtex motor e os tratos descendentes para músculos voluntários, posturais e proximais. Fonte: adaptado de Lundy-Ekman (2008).

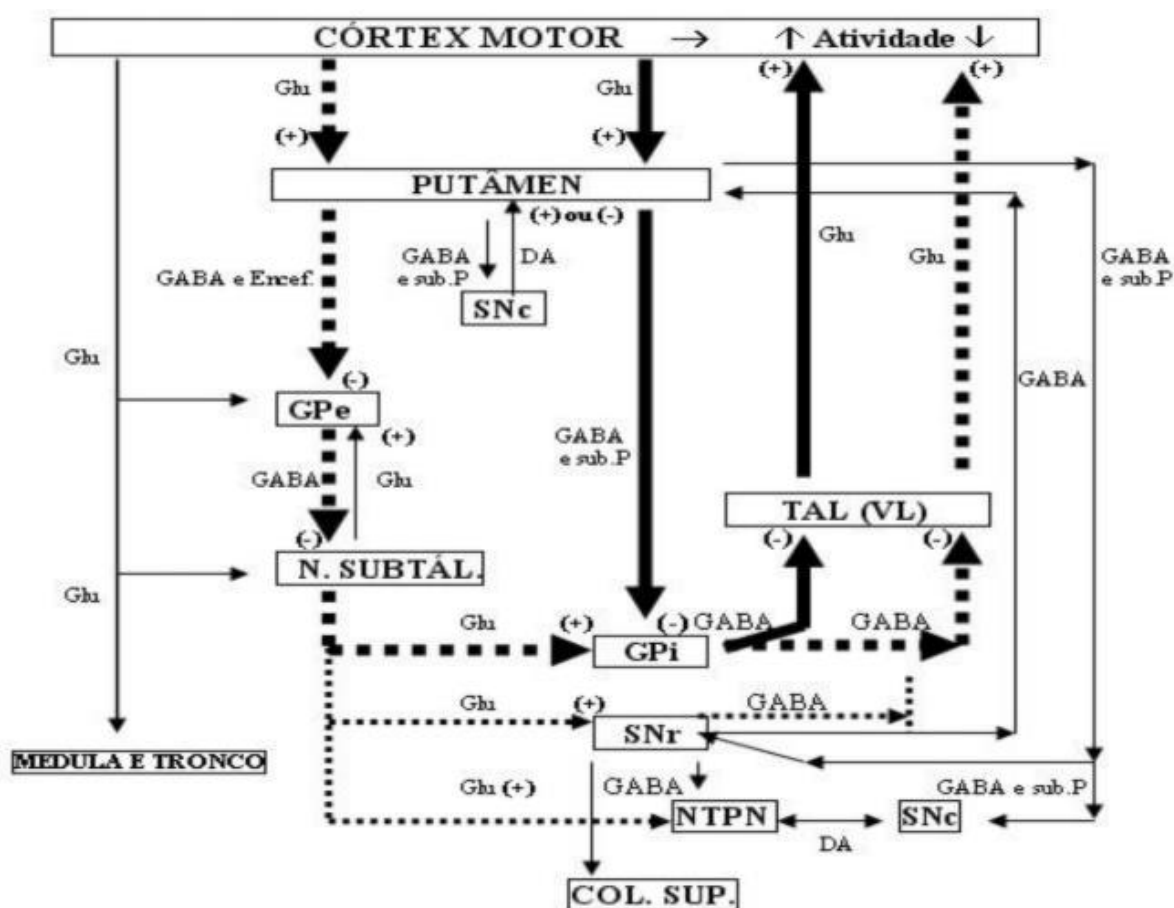


Figura 2 – Esquema dos circuitos motores das vias direta e indireta, demonstrando as principais conexões e sistemas de neurotransmissores dos circuitos dos núcleos da base, relevantes para a doença de Parkinson. Modificada de Nakano (2000).

2.3 Substância Negra

A substância negra é um núcleo localizado no mesencéfalo e é caracterizado macroscopicamente pela coloração escura de suas células, onde os neurônios são pigmentados por neuromelanina (Van Domburg; Ten Donkelaar, 1991). No encéfalo humano, foi demonstrada uma subdivisão anatômica do complexo nigral baseada em estudos que marcaram células dopaminérgicas (Damier; Hirsch; Graybiel, 1999; Blesa *et al.*, 2022), sendo constituída de duas partes: a parte compacta e a parte reticular. A parte compacta da substância negra fornece dopamina essencial para o estriado.

A dopamina se caracteriza como um neurotransmissor do grupo das monoaminas, atuando na modulação da atividade de várias regiões do cérebro, aumentando ou diminuindo a ação de determinadas funções (Gaertner *et al.*, 2022). Ela é produzida principalmente por neurônios dopaminérgicos localizados na substância negra compacta e na área tegmental ventral. Esses neurônios se comunicam com outra importante área do cérebro, a amígdala, ligada a aquisição, consolidação e recuperação do condicionamento do medo aprendido (Cho; Fudge, 2010).

Existem duas formas principais pelas quais a informação estriatal pode atingir os núcleos de saída dos núcleos basais associadas à participação da dopamina: por meio de uma projeção monossináptica chamada ‘via direta’ que expressam o receptor tipo 1 da dopamina (D₁-R) e termina nos núcleos globo pálido interno e substância negra reticular; e por meio de um circuito multissináptico denominado ‘via indireta’, que expressa receptores de dopamina tipo 2 (D₂-R) e se projetam para o globo pálido externo. Assim, a dopamina exerce um efeito dicotômico no nível estriatal. A ativação da via direta é proposta para facilitar o movimento, enquanto a ativação da via indireta produz inibição de movimento (Stayte; Vissel, 2014). Assim, a dopamina produzida na parte compacta da substância negra aumenta a atividade do córtex motor ao se ligar aos diferentes tipos de receptores, D₁ e D₂, no circuito dos núcleos da base. A ligação da dopamina a receptores D₁ facilita a atividade na via direta, enquanto a ligação de dopamina aos receptores D₂ inibe a atividade na via indireta (Kandel; Schwartz; Jessel, 2014).

O distúrbio motor mais comum dos núcleos da base é a DP, na qual ocorre a degeneração da substância negra compacta (Morris *et al.*, 2024). Desta forma, de acordo com Machado (2006), ocorre um prejuízo excitatório da via direta e a perda da inibição da via indireta, resultando em sintomas hipocinéticos (déficit significativo na realização do movimento) e bradicinéticos (redução da amplitude e da velocidade do movimento voluntário).

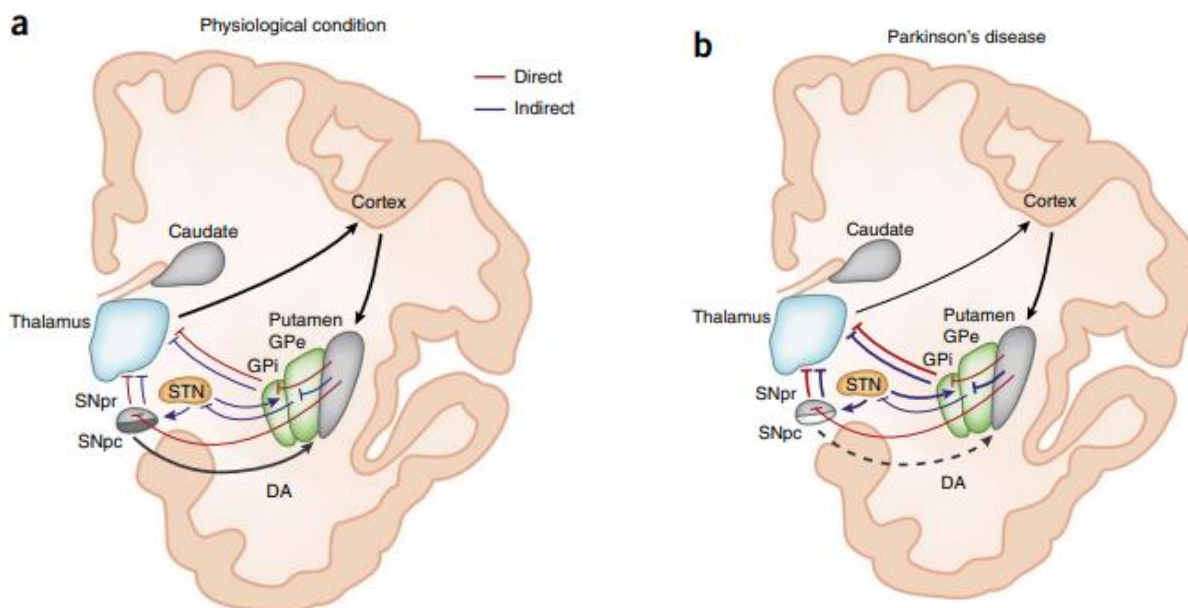


Figura 3 – Diagrama ilustrativo do modelo clássico da via direta/indireta nas condições fisiológicas normais e na doença de Parkinson, evidenciando as modificações nos circuitos neuronais dessas vias e suas implicações funcionais na DP. Fonte: Nature Publishing Group, Calabresi, 2014, p. 1023.

2.4 Neurofisiopatologia da doença de Parkinson

O distúrbio motor hipocinético mais comum dos núcleos da base é a DP, que é sintomaticamente caracterizada por, (1) rigidez muscular presente em todos os grupos musculares, tanto flexores quanto extensores, geralmente acompanhada por movimentos articulares bruscos; (2) marcha festinante devido à perda de reflexos posturais gerando problemas de equilíbrio manifestando-se com uma postura instável, curvada, e uma deambulação peculiar (marcha em tesoura) com pequenos passos, seguida pela necessidade de etapas mais rápidas para manter o equilíbrio; (3) tremor muscular rítmico, um tremor estático ou de repouso, que se refere a movimentos involuntários de 4-5 hertz quando o membro é mantido em repouso, mas desaparece durante um movimento voluntário; (4) hipomímica facial com expressão facial semelhante a de uma máscara associada à hipocinesia; (5) alterações na fala como a disartria, hipofonia e afonia. Além disso, sintomas não motores também têm sido descritos, incluindo hiposmia, distúrbios do sono, sintomas gastrointestinais, incontinência urinária, bradifrenia, depressão e declínio cognitivo (Nasrolahi *et al.*, 2019).

A neurofisiopatologia da DP é caracterizada pela morte de neurônios da substância negra compacta, responsáveis pela produção de dopamina (neurotransmissor que transmite as informações às áreas cerebrais que comandam os movimentos). A dopamina é liberada no estriado, tanto nas sinapses com neurônios da via direta quanto nas sinapses da via indireta (Simon *et al.*, 2020). Além disso, esses neurônios formam acúmulos tóxicos, de uma proteína chamada α -sinucleína, um dos fatores neuropatológicos determinantes na caracterização da DP (Taguchi *et al.*, 2016; Martin-Lopez *et al.*, 2023). No estágio inicial da doença, os neurônios dopaminérgicos afetados são os específicos da porção da substância negra ventrolateral. Em um estado avançado da doença, ocorre a difusão da patologia, com a morte de parte da substância negra. A perda significativa desses neurônios dopaminérgicos, mesmo no início da doença, sugere que a degeneração nessa região começa antes do início dos sintomas motores (Poewe, 2017).

A proteína α -sinucleína intraneuronal desempenha um papel fundamental na DP, sendo o seu acúmulo nos corpos de Lewy comum nas pessoas idosas. Em células cerebrais saudáveis, a proteína α -sinucleína é encontrada apenas dentro da superfície da membrana que envolve o corpo celular e nas estruturas terminais pré-sinápticas, onde ocorre as comunicações entre os neurônios (Tofaris, 2022). No caso da DP foram encontradas a existência de mutações e multiplicações nos SNCA, que são os genes que codificam a α -sinucleína, causando formas hereditárias da DP. De acordo com Poewe (2017), que conduziu um estudo histológico de neurônios de cérebros humanos derivados de células-tronco pluripotentes induzidas e amostras de córtex frontal *post-mortem* de pacientes com DP, reforçou a ideia de que uma variante de risco associada à DP, em um elemento não-codificador de SNCA, está vinculado a um aumento da expressão de α -sinucleína.

A disfunção do sistema proteossoma-ubiquitina é considerada um dos fatores que contribuem para as alterações observadas na DP. Os proteossomas têm a função crucial de degradar proteínas desnecessárias e regular a concentração de outras proteínas. Quando esse sistema de eliminação proteica falha, pode ocorrer lise celular, um processo associado ao desenvolvimento da DP. A lista de mutações que causam os tipos monogênicos da DP continua a crescer, assim como o número de genes associados a tipos fenotípicos complexos, incluindo o parkinsonismo, que foram atribuídos ao locus PARK. Diversos outros genes, como GBA, GCH1, ADH1C, TBP, ATXN2, MAPT e GLUD2, foram identificados como contribuintes para um risco aumentado da forma esporádica da doença, sendo as mutações heterozigóticas em GBA as mais prevalentes e importantes (Simon *et al.*, 2020; Kukkle *et al.*, 2021). As formas

genéticas representam apenas uma pequena porcentagem de casos de DP na prática clínica. Até o momento, o teste genético não faz parte do processo de diagnóstico de rotina, a menos que haja uma suspeita específica de uma possível influência genética. De maneira geral, as implicações dos testes genéticos na rotina clínica são limitadas pela penetrância reduzida e pela expressividade variável. Atualmente, os achados genéticos não têm impacto nas decisões práticas de tratamento. (Poewe, 2017).

2.5 Linhas de pesquisa sobre a doença de Parkinson

Por ser uma doença de alta prevalência e com estimativas crescentes de incidência, a DP tem sido foco de estudos em todo mundo (Kalia; Lang, 2015; Prajwal *et al.*, 2023). Uma meta-análise publicada na revista *Neurology* no início de 2007, apresentou uma projeção baseada em estudos de prevalência, com o objetivo de prever o número de pessoas que poderiam ser afetadas pela DP entre 2005 e 2030. Nos cinco países mais populosos da Europa Ocidental e nas dez nações mais populosas do mundo, os dados indicaram que a taxa de prevalência poderia dobrar, passando de 4,6 milhões em 2005 para 9,3 milhões até 2030. Atualizações desses mesmos dados, publicados em 2018, indicam uma tendência de crescimento ainda mais expressiva, com uma projeção de 12,9 milhões de pessoas afetadas até 2040 (Dorsey *et al.*, 2007, 2018). Como já mencionado, os dados mais recentes da OMS, publicados em 2023, indicam que, até 2019, mais de 8,5 milhões de pessoas em todo o mundo viviam com a doença (World Health Organization, 2023).

Diante do impacto significativo da DP na qualidade de vida das pessoas, a comunidade científica tem dedicado esforços consideráveis ao longo dos anos para compreender melhor seus mecanismos, desenvolver métodos de diagnóstico mais precisos e encontrar estratégias terapêuticas inovadoras (Tolosa *et al.*, 2021). Nesse contexto, o entendimento dos mecanismos subjacentes à doença é crucial para o desenvolvimento de intervenções eficazes. Há bastante tempo, as pesquisas buscam preencher lacunas de conhecimento sobre a neurofisiopatologia, as alternativas de tratamento, diagnósticos e outros aspectos da DP. Atualmente, diversas linhas de investigação científica estão focadas em desvendar os aspectos genéticos, moleculares e celulares da doença, bem como os fatores de risco associados (Prajwal *et al.*, 2023).

A identificação de genes associados à predisposição genética para a DP tem sido um foco central de pesquisa. Estudos de genômica têm revelado variantes genéticas que podem aumentar o risco de desenvolver a doença. Além disso, a interação entre fatores genéticos e ambientais está sendo investigada para entender melhor como esses elementos contribuem para o início e a progressão da DP (Blauwendraat *et al.*, 2020). Paralelamente, o crescente entendimento sobre o papel da inflamação no SNC na DP tem levado a uma ênfase na pesquisa sobre neuroinflamação. Estratégias terapêuticas que visam modular a resposta imunológica no cérebro estão sendo exploradas como potenciais abordagens para retardar ou modular a progressão da doença (Wang *et al.*, 2022). Além disso, as pesquisas avançam em direção às terapias celulares e à medicina regenerativa como possíveis tratamentos para a DP. O uso de células-tronco, seja derivada do próprio paciente ou de fontes externas, está sendo investigado como uma abordagem para substituir as células dopaminérgicas perdidas (Stoddard-Bennett; Pera, 2019).

Outro importante campo de estudo na DP envolve as terapias não medicamentosas, aplicáveis em todas as fases da doença. Essas abordagens incluem principalmente diferentes modalidades de terapias baseadas em exercícios, intervenções psicológicas e neuropsicológicas, além de técnicas de neuromodulação, como as intervenções estereotáxicas (Walters; Shah, 2019). A prática de exercícios físicos, quando combinada à farmacoterapia, pode potencializar a função motora, mostrando-se promissora para melhorar a evolução da doença e prevenir complicações associadas. No que diz respeito às terapias medicamentosas, o tratamento principal da DP segue sendo uma combinação de agentes dopaminérgicos e não dopaminérgicos (Prajwal *et al.*, 2023; Corrêa; Christofoletti; Souza, 2024). Entretanto, quando os tratamentos farmacológicos e não farmacológicos falham em controlar os sintomas motores com a progressão da doença, o manejo cirúrgico se torna uma opção avançada disponível. Além disso, como não há evidências de que essas terapias possam alterar o curso da doença, a escolha dessas opções de tratamento é fortemente motivada pela satisfação do paciente no controle dos sintomas e pela capacidade de realizar as atividades de vida diária (Mansouri *et al.*, 2018).

Um momento crítico da degeneração neuronal irreversível ocorre quando os neurônios dopaminérgicos enfrentam uma mortalidade alarmante de cerca de 80% muito antes que os primeiros sintomas da DP se manifestem (Lundy-Ekman, 2008). Essa característica ressalta a urgência em desenvolver ferramentas capazes de identificar a condição em seus estágios iniciais, pois isso, o que representaria uma vantagem crucial para aumentar a longevidade com

qualidade de vida dessas pessoas (Tolosa *et al.*, 2021). Atualmente, o diagnóstico convencional enfrenta limitações significativas devido à ausência de sinais perceptíveis nos estágios iniciais da doença. Nesse contexto, a descoberta de biomarcadores surge como uma abordagem promissora. Essas substâncias biológicas oferecem a perspectiva única de detectar alterações no organismo antes mesmo das manifestações dos sinais clínicos, abrindo portas para novos estudos sobre diagnósticos precoces e intervenções terapêuticas mais eficazes, capazes de prevenir a perda neuronal massiva (Trivedi *et al.*, 2019).

A identificação de biomarcadores não apenas tem o potencial de transformar a compreensão dos mecanismos fisiopatológicos subjacentes à DP, como também pode fornecer a fundamentação necessária para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas personalizadas, com o objetivo de retardar ou mesmo prevenir a progressão da doença. Isso se torna particularmente relevante, dado que, quando os primeiros sintomas se manifestam, a maioria dos neurônios dopaminérgicos da via nigroestriatal já foi comprometida. Portanto, a busca por esses indicadores biológicos constitui não apenas uma necessidade premente na pesquisa neurocientífica, mas também uma contribuição significativa para o aprimoramento do diagnóstico e das abordagens terapêuticas da DP (Sarkar *et al.*, 2022).

O cenário atual da pesquisa científica sobre a DP reflete uma abordagem multidisciplinar, que abrange neurofisiopatologia, tratamentos, fatores de riscos e de proteção, genética, neuroinflamação, terapias celulares e diagnóstico precoce. Os avanços nesses campos prometem não apenas ampliar nossa compreensão sobre a DP, mas também abrem novas possibilidades para o desenvolvimento de tratamentos mais eficazes. À medida que novas descobertas surgem, torna-se essencial que a comunidade científica mantenha uma colaboração contínua para enfrentar os desafios complexos associados a esta doença neurodegenerativa (Prajwal *et al.*, 2023).

2.6 Diagnóstico da doença de Parkinson

O diagnóstico da DP é realizado clinicamente e atende aos critérios da *International Parkinson and Movement Disorder Society*. Ele é caracterizado pela presença de bradicinesia e pelo menos uma característica motora cardinal adicional (rigidez, tremor de repouso, acinesia), além de critérios adicionais de apoio e exclusão. Não existe um teste específico para identificar a DP em nenhuma de suas fases (Postuma *et al.*, 2015). Normalmente o diagnóstico é feito por meio dos achados clínicos da doença, com base no histórico médico, sinais e sintomas, exame físico e neurológico (Caproni; Colosimo, 2020). Além disso, o profissional de saúde geralmente solicita exames, como exames de sangue e ressonância magnética, para fazer um diagnóstico diferencial de outras condições que possam estar causando os sintomas.

Os testes de diagnóstico por imagem, como o uso de levodopa marcado radioativamente com 18F e PET scan, permitiram a visualização da diminuição da dopamina no estriado em pacientes com DP, representando um grande avanço na neuroimagem molecular no início da década de 1980 (Armstrong, Okun, 2020; Bidesi *et al.*, 2021; Garnett *et al.*, 1983; Poewe, 2017). Além disso, a ressonância magnética estrutural é útil na identificação do parkinsonismo sintomático, e diversas técnicas de ressonância magnética, como imagens ponderadas por difusão, imagem volumétrica, segmentação automatizada de volume subcortical e imagens multimodais, estão sendo exploradas para revelar mudanças específicas nos núcleos da base e estruturas infratentoriais no parkinsonismo atípico, visando aumentar a precisão no diagnóstico da DP em comparação a outros tipos de parkinsonismo degenerativo (Poewe, 2017).

Conforme observado por Miller e Callaghan (2015), profissionais com experiência clínica insuficiente na DP, podem apresentar uma taxa de equívocos no diagnóstico que atinge até 25% nos estágios iniciais da doença. Essa elevada taxa de diagnósticos incorretos ressalta a necessidade urgente de um marcador biológico confiável para o diagnóstico da DP. A presença de um ou mais biomarcadores possibilitaria o início precoce do tratamento com potenciais agentes neuroprotetores, antes mesmo da ocorrência de perdas neurais substanciais e irreversíveis, além de permitir a monitorização da progressão da doença em pacientes sob cuidados terapêuticos (Sarkar *et al.*, 2022).

2.6.1 Classificação da doença de Parkinson quanto ao início dos sintomas

A classificação da DP com base na idade de início dos sintomas é uma das abordagens apontadas na literatura científica, sendo um fator importante que influencia tanto o curso da doença quanto as estratégias terapêuticas adotadas, já o tipo de alteração genética, prevalente em casos de início jovem, pode influenciar nas características e predomínio dos sintomas (Kukkle *et al.*, 2021),

Os primeiros relatos de casos de DP com início precoce datam de 1899, quando Yamamura *et al.* (1973) documentaram os primeiros casos dessa variante. No Japão, o estudo de Ota *et al.* (1958) descreveu três casos de parkinsonismo juvenil em membros da mesma família. No Brasil, Scaff *et al.* (1980), pesquisadores da Divisão de Neurologia do Hospital das Clínicas da USP, publicaram um estudo que documentava dez casos registrados ao longo de 20 anos, entre 1960 e 1980. Ainda na década de 1980, um estudo japonês intitulado 'Juvenile Parkinsonism' (Narabayashi *et al.*, 1986) relatou uma série de casos de DP com início antes dos 40 anos. No ano seguinte, Quinn *et al.* (1987) publicaram mais 60 casos desse tipo no Reino Unido. Dado as limitações dessa classificação, os autores apontaram a necessidade de uma distinção mais precisa, propondo a definição de Doença de Parkinson de Início Precoce (DPIP) para casos com início antes dos 40 anos e parkinsonismo juvenil (PJ) para aqueles com início antes dos 21 anos, sendo este último posteriormente redefinido como Doença de Parkinson de Início Juvenil.

Até o presente momento, a literatura ainda apresenta certa inconsistência nas definições das faixas etárias usadas para classificar a DP, com base na idade de início dos sintomas. Neste contexto, demonstramos as classificações propostas no estudo de Kukkle *et al.* (2021), que apresenta a seguinte divisão: (1) a DP juvenil inicia-se antes dos 20 anos (ou seja, antes do 20º aniversário); (2) a DP de início jovem tem início após os 20 anos e antes dos 40 anos; (3) a DP de início precoce se manifesta após os 40 anos e antes dos 50 anos; e (4) a DP idiopática com início a partir de 60 anos. Alguns detalhes sobre a classificação são demonstrados no Quadro 1.

Quadro 1 – Classificação das Faixas Etárias para a DP.

Classificação DP	Idade de Início	Características Principais	Causas Associadas	Prognóstico
DP Juvenil	Antes dos 20 anos	Forma rara, mais progressiva em termos de sintomas, mas com boa resposta à levodopa.	Geralmente genética (mutação em PARK2, PINK1, DJ1, LRRK2)	Progressão lenta, boa resposta à levodopa nos primeiros anos, com risco de discinesias severas com o tempo.
DP de Início Jovem	Após os 20 e antes dos 40 anos	Sintomas semelhantes à DP adulta, mas com progressão mais lenta e maior prevalência de causas genéticas.	Possível componente genético (PARK2, PINK1, LRRK2)	Evolução mais lenta e estável inicialmente. Flutuações motoras ocorrem com o tempo, mas geralmente de forma mais suave que na DP de início tardio.
DP de Início Precoce	Após os 40 anos e antes dos 50 anos	Início mais tardio, com sintomatologia similar à DP em adultos mais velhos. Pode ter uma progressão mais lenta.	Possível componente genético LRRK2, SNCA, GBA	Progressão mais lenta em fases iniciais, mas maior risco de complicações cognitivas e motoras com o tempo, especialmente em casos com mutações no GBA.
DP Idiopática	Após os 60 anos	Forma mais comum da DP, com causas desconhecidas e ampla variabilidade nos sintomas.	Causas desconhecidas, mas fatores genéticos e ambientais podem estar envolvidos	Progressão variável, boa resposta inicial ao tratamento, mas com complicações motoras a longo prazo.

Fonte: Adaptado de Kukkle *et al.* (2021).

2.7 Doença de Parkinson e alterações dermatológicas

As alterações dermatológicas são uma das manifestações não motoras evidentes na DP, com várias condições cutâneas ocorrendo com maior prevalência entre os pacientes dessa condição (Cassard; Honari; Tousi, 2024). Um estudo pioneiro conduzido por Ikemura e colaboradores (2008) já indicava o envolvimento nervoso cutâneo na DP. Essa pesquisa sugeriu que a patologia associada aos corpos de Lewy afeta a pele, conforme demonstrado pela detecção de imunorreatividade para sinucleína fosforilada dérmica (p-sinucleína). Além disso, a p-sinucleína foi observada em estruturas associadas a axônios, sugerindo que nervos cutâneos e os terminais axonais pós-ganglionares possam estar envolvidos no processo. Também foi

demonstrado que o padrão de agregação da α -sinucleína nas fibras nervosas dérmicas é semelhante ao observado nos depósitos dessa proteína no cérebro (Kuzkina *et al.*, 2019).

Os odores corporais são originados por compostos orgânicos voláteis (COVs), que se formam a partir das interações entre as secreções das glândulas écrinas, sebáceas e apócrinas e as bactérias que habitam a pele (Gallagher *et al.*, 2008). Nesse sentido, um estudo de 2016 revelou que pacientes com a DP podem emitir odores característicos em suas secreções e excreções corporais, mesmo antes de desenvolver muitos dos sintomas típicos da doença (Morgan, 2016).

2.8 Possíveis diagnósticos

No cenário atual, as intervenções disponíveis demonstram eficácia terapêutica limitada no controle da progressão da DP. Considerando que os danos provavelmente avançaram ao longo de um período estimado de cerca de 5 a 15 anos. A ausência de um marcador biológico definitivo amplamente reconhecido para a DP é evidente, ressaltando a imperativa demanda de desenvolver marcadores biológicos que possam diagnosticar precocemente a doença, motivada por dois fatores cruciais: (1) permitir intervenções no início do curso da doença e (2) possibilitar a avaliação do progresso das terapias que visam atrasar ou interromper o avanço da DP (Miller; Callaghan, 2015).

Uma nova perspectiva para o diagnóstico da DP está fundamentada na experiência de Joy Milne, uma enfermeira britânica de 72 anos, residente em Perth, na Escócia. De acordo com uma matéria publicada no jornal *The Guardian* (PA Media, 2022), a Sra. Milne, possui uma condição rara que lhe confere um olfato extremamente aguçado. Essa habilidade única fez com que ela colaborasse, anos antes, com um grupo de cientistas da Universidade de Manchester na descoberta de 10 moléculas ligadas à condição que poderia levar ao primeiro teste de diagnóstico da doença (The Telegraph, por Joan McFadden, 2017). Muitos anos antes de participar do estudo, a Sra. Milne percebeu uma mudança no odor corporal de seu marido, Les, um médico que tinha 31 anos na época. Além da alteração no odor, ao longo dos anos, diversas mudanças físicas e comportamentais foram notadas, incluindo déficits de movimento, alterações do sono e do humor. Aos 45 anos, Les foi diagnosticado com a DP.

Após 20 anos do diagnóstico de Les, o casal decidiu participar de um grupo de apoio para pessoas acometidas pela DP. Para surpresa de Joy, a sala estava repleta de indivíduos com o mesmo odor de Les. Em alguns casos, o cheiro era mais intenso, enquanto em outros era menos pronunciado, mas era exatamente o mesmo odor oleoso e 'mofado' que seu marido apresentava desde os 31 anos de idade.

Após essa experiência, foi conduzido um estudo cego com a participação de Joy, no qual ela cheirava camisetas de pessoas portadoras ou não da DP. Nesse estudo a senhora britânica não só identificou, mas também acertou quais eram as camisetas das pessoas que eram portadoras da doença. Mais do que isso, ela identificou a camiseta de uma pessoa que inicialmente não era portador da DP, mas que pouco tempo depois, após a pesquisa, começou a apresentar sintomas da doença. Isso indica que esse odor pode ser identificado mesmo nos estágios iniciais da doença, quando os demais sintomas clínicos ainda não são perceptíveis e possivelmente boa parte dos neurônios em degeneração ainda não morreram.



Figura 4: Joy Milne com seu falecido marido Les. Ela notou que ele desenvolveu um odor diferente 12 anos antes de ser diagnosticado com doença de Parkinson. Fotografia: Joy Milne/PA. The Guardian, 2022.

O caso desta senhora trouxe à tona a ideia de que pessoas com DP podem exalar substâncias químicas em biofluidos que podem servir como biomarcadores característicos da doença, até mesmo anos antes dos primeiros sintomas se tornarem perceptíveis. Assim, a identificação dessas moléculas surge como um potencial meio de criar um teste conclusivo para o diagnóstico da DP, mesmo em estágios subclínicos da doença.

Neste sentido, a cromatografia gasosa surge como uma técnica analítica que pode ajudar a elucidar quais moléculas estão sendo exaladas por indivíduos com DP e que poderiam auxiliar no diagnóstico da doença. (Sarkar *et al.*, 2022).

2.9 Cromatografia gasosa

Segundo Penteado (2008, p. 1):

“A cromatografia gasosa é uma das mais importantes técnicas analíticas disponíveis atualmente. Em curto espaço de tempo tornou-se a principal técnica para separação e determinação de compostos voláteis e/ou volatilizáveis”.

A cromatografia gasosa é uma técnica de separação baseada na partição dos analitos entre uma fase estacionária e uma fase móvel (gás de arraste). É uma técnica empregada para compostos voláteis e com estabilidade térmica, na qual a separação cromatográfica depende da volatilidade e da interação com a fase estacionária (Penteado, 2008; Gerhardt *et al.*, 2018).

Em essência, o processo começa com o uso de uma microseringa para introduzir uma amostra no injetor aquecido, onde a amostra é vaporizada e transferida com o auxílio do gás de arraste para a coluna cromatográfica. Em seguida, os analitos volatilizados são arrastados para a coluna capilar para a separação cromatográfica. Posteriormente, os analitos são eluídos para o sistema de detecção, que mede um sinal elétrico e plota o cromatograma da separação (Penteado, 2008; Trivedi *et al.*, 2019).

O acoplamento de um cromatógrafo a gás com espectrômetro de massas (GC-MS) combina as vantagens da cromatografia, como alta seletividade e eficiência de separação, com os benefícios da espectrometria de massas, proporcionando informações estruturais, massa molar e uma maior seletividade adicional. Essa ferramenta tecnológica pode ser empregada

para a detecção de moléculas específicas no sebo e suor de pessoas com DP, fornecendo características distintivas que podem ser indicativas da condição. (Sarkar *et al.*, 2022).

Portanto, o presente estudo teve como objetivo identificar compostos presentes no sebo e suor humanos, destacando as moléculas potenciais a serem consideradas como biomarcadores da DP. Utilizamos a cromatografia gasosa para desenvolver uma metodologia que auxilie na busca pelo diagnóstico químico desta doença, visando complementar o diagnóstico clínico. Espera-se que essa abordagem contribua para acelerar e otimizar as opções de tratamento e medidas neuroprotetoras.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral:

Identificar moléculas marcadoras da DP por meio de cromatografia gasosa hifenada a espectrometria de massas (GC-MS)

3.2 Objetivos específicos:

- I. Desenvolver metodologia de coleta de sebo e suor em seres humanos, em quantidade suficiente para análise em cromatografia gasosa.
- II. Estabelecer protocolo de análise de moléculas de sebo e suor humano por meio de cromatografia gasosa.
- III. Isolar as principais moléculas secretadas no sebo e suor de pessoas portadoras ou não da DP.
- IV. Diferenciar as moléculas secretadas no sebo e suor de portadores da DP, que diferem daquelas secretadas em pessoas não portadoras desta doença.

4 MÉTODOS

4.1 Tipo, período e local da coleta de amostras

Esta pesquisa científica caracteriza-se como um estudo experimental em seres humanos, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEP) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), sob o parecer nº 4.218.220, e com Certificado de Apreciação Ética nº 25213819.9.0000.0021.

As amostras de biofluidos (sebo e suor) foram coletadas na Clínica Escola Integrada (CEI) da UFMS, localizada na Av. Sen. Filinto Müller, 355 - Vila Ipiranga, Cidade Universitária, Campo Grande/MS. Todas as coletas foram realizadas em dias e horários previamente agendados com os participantes.

4.2 Local e período de análises de amostras

As análises das amostras de biofluidos (sebo e suor) foram conduzidas no Laboratório de Combustíveis (LABCOM), pertencente ao Instituto de Química (INQUI) da UFMS, por uma equipe técnica experiente. Essas análises foram realizadas imediatamente após a coleta das amostras.

4.3 Critérios de inclusão

- ✓ Indivíduos diagnosticados com DP, de ambos os sexos, com idades entre 40 e 90 anos (de acordo com os critérios estabelecidos pela CID-10), residentes na cidade de Campo Grande/MS;
- ✓ Indivíduos saudáveis, de ambos os sexos, com idades entre 40 e 90 anos, residentes na cidade de Campo Grande/MS;

- ✓ Consentimento do indivíduo para participar do presente estudo, obtido por meio da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, conforme estabelecido na Resolução 196/96 do Ministério da Saúde (Apêndice A).

4.4 Critérios de não inclusão

- ✓ Indivíduos diagnosticados com qualquer outra doença neurodegenerativa;
- ✓ Indivíduos com lesão ou infecção cutânea na região do corpo em que são realizadas as coletas.

4.5 Procedimentos metodológicos

4.5.1 Seleção dos participantes

Os participantes deste estudo são atendidos no Ambulatório de Neurologia do Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian – HUMAP e na Clínica Escola Integrada, na UFMS, localizados na Av. Sen. Filinto Müller - Vila Ipiranga, Cidade Universitária, Campo Grande/MS.

4.5.2 Grupos experimentais

O presente estudo foi constituído por 14 participantes adultos, com idade entre 40 e 90 anos, de ambos os sexos, moradores da cidade de Campo Grande/MS. Os participantes foram separados nos seguintes grupos experimentais:

Grupo 1 – G1: Formado por um grupo de 7 indivíduos, diagnosticados com a DP, sem limitação de tempo de diagnóstico.

Grupo 2 – G2: Formado por 7 indivíduos controles saudáveis. O método de amostragem do G2, ocorreu por conveniência, de forma pareada, para garantir uma distribuição adequada entre os sexos e faixa etária com o grupo DP.

Quadro 2: Características demográficas dos participantes: Idade, gênero e média $\pm$ desvio padrão.

Participantes	Gênero	Idade
G1	M	42
G1	F	44
G1	F	45
G1	F	61
G1	M	64
G1	M	70
G1	F	79
G2	M	42
G2	F	45
G2	F	47
G2	M	53
G2	F	61
G2	M	70
G2	F	77
Idade média $\pm$ DP		57,1 (12,9)

4.5.3 Método de coleta de amostras para CG-MS

De forma geral, a coleta de amostras visa a análise quantitativa e qualitativa das substâncias voláteis presentes nas amostras biológicas ou ambientais, utilizando a cromatografia gasosa. As substâncias podem incluir compostos orgânicos voláteis, ácidos graxos, lipídios e outros biomarcadores relacionados a condições específicas de saúde ou ambientais (Raziyeh *et al.*, 2020).

Estudos têm utilizado a CG-MS para avaliar diversas condições de saúde, como perfil metabólico de tumores (Abooshahab *et al.*, 2020), peroxidação lipídica em doenças cardiovasculares (Schwedhelm; Böger, 2003), doença periodontal (Tsuchida; Nakayama, 2022), toxicidade hepática (Kumar *et al.*, 2012), metabolismo fetal-materno (Trivedi; Iles,

2014b), metabólicos complexos de nutrientes ou alimentos (Scalbert *et al.*, 2009) e muitos outros. Portanto, diferentes abordagens metodológicas de coleta de amostras devem ser adotadas de acordo com as propriedades dos metabólitos que estão sendo investigados e o objetivo específico do experimento (Dettmer; Aronov; Hammock, 2007; Lei; Huhman; Sumner, 2011 ; Scalbert *et al.*, 2009).

Neste estudo, para a coleta de amostras de biofluidos (sebo e suor), seguimos os procedimentos descritos por Trivedi e colaboradores (2019), que realizaram a coleta de amostras de sebo em diversas regiões do Reino Unido. No referido estudo, os pesquisadores utilizaram gaze médica, que foi friccionada na parte superior das costas de cada participante. Após a coleta do sebo, a gaze contendo a amostra foi selada em sacos plásticos inertes e transportada para o laboratório central da Universidade de Manchester, onde as amostras foram armazenadas a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o momento da análise. Para o desenvolvimento dos nossos experimentos, realizamos inicialmente um estudo piloto de 2 meses, no qual coletamos sebo e suor, seguidas das análises por CG-MS. As fases desse estudo piloto estão detalhadas no quadro a seguir.

Quadro 3: Estudo piloto para avaliação de diferentes métodos de coleta e acondicionamento de amostras de sebo e suor para análise por CG-MS.

Etapas	Descrição	Materiais	Momento		Acondicionamento	Resultado
			Coleta	Análise		
Fase 1	Coleta e análise de branco	Gaze médica;	Não se aplica	Imediata	vials do tipo CRIMP	Excesso de substâncias da gaze
	Coleta e análise de sebo	Gaze médica; luvas látex	Período vespertino	Posterior	vials do tipo CRIMP sob refrigeração overnight	Excesso de subst. gaze e luvas <i>Matching</i> < 90%.
	Coleta e análise de suor	Gaze médica; luvas látex	Período matutino	Imediata	vials do tipo CRIMP	Excesso de subst. gaze e luvas <i>Matching</i> < 90%.
Fase 2	Coleta e análise de branco	Haste flexível com algodão	Não aplica	Imediata	vials do tipo CRIMP	Redução no número de substâncias contaminantes em relação a gaze
	Coleta e análise de sebo	Haste flexível com algodão e raspagem da pele	Período matutino	Imediata	vials do tipo CRIMP	<i>Matching</i> < 90%.
	Coleta e análise de sebo	Haste flexível com algodão e raspagem da pele	Período vespertino	Imediata	vials do tipo CRIMP	<i>Matching</i> > 90%.
Fase 3	Coleta e análise de suor. Obtenção de amostras exercícios físicos	Haste flexível com algodão	Período vespertino	Imediata	vials do tipo CRIMP	<i>Matching</i> > 90%.
	Coleta e análise de suor. Obtenção de amostras aquecimento corporal	Haste flexível com algodão	Período vespertino	Imediata	vials do tipo CRIMP	<i>Matching</i> > 90%.



Figura 5: Instrumentos utilizados para coletas de sebo e suor. Fonte própria



Figura 6: Alicates para fixação manual de lacres do tipo CRIMP com diâmetro de 8mm.

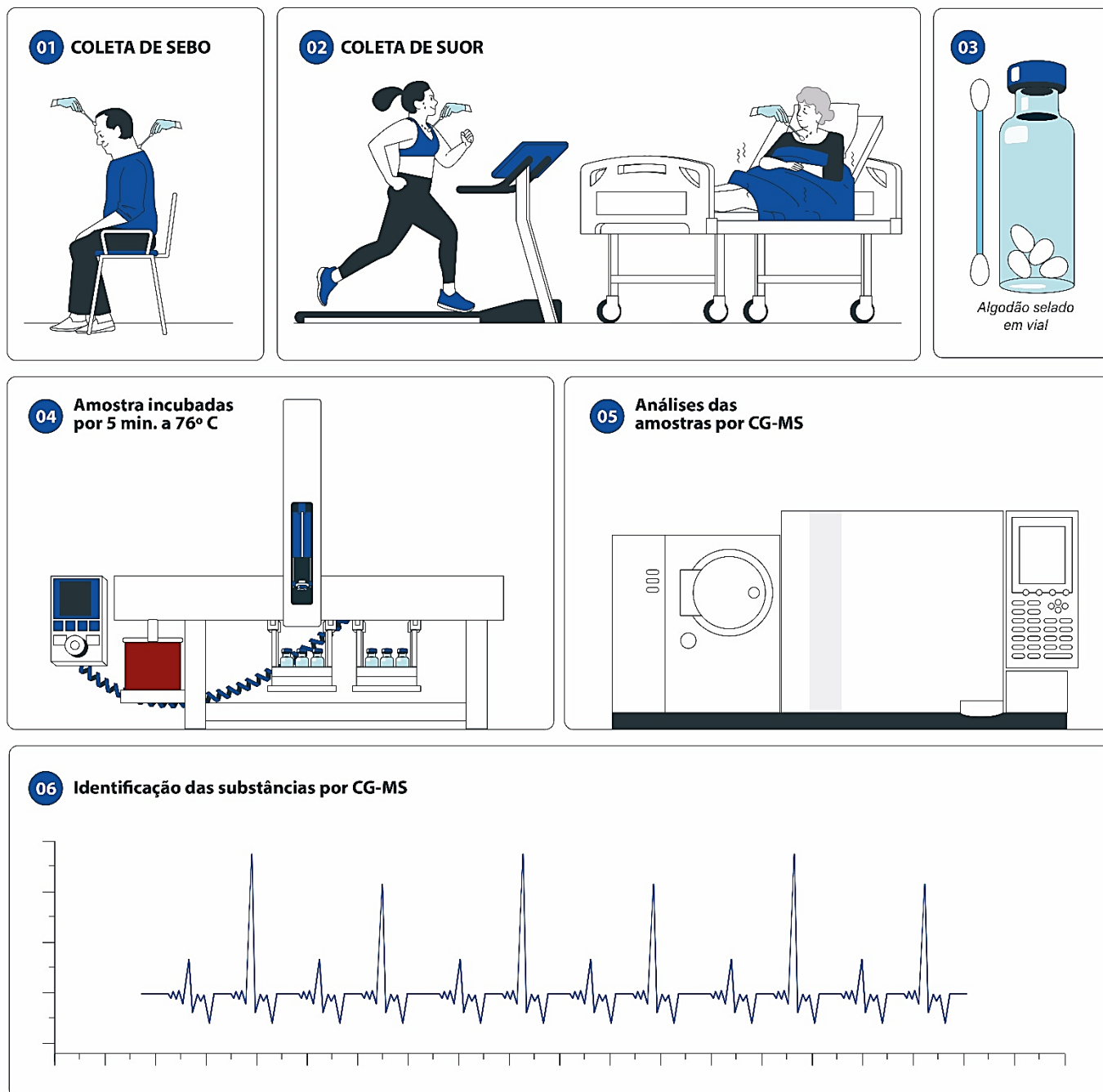


Figura 7: Procedimentos de coleta de sebo e suor, seguidos pela realização de análises por CG-MS. Arte: Lucas Santos, 2024.

4.5.4 Método de análise de sebo e suor por GC-MS

A análise cromatográfica foi conduzida conforme a técnica descrita por Moulvi *et al.* (2018) e por Trivedi e colaboradores (2019). Utilizou-se um método de *headspace* (HS) desenvolvido para análise do algodão, selado em *vial*, que continha amostra de sebo e suor do participante (Figura 5 e 6). A amostra foi incubada por cinco minutos a 76 °C em forno sob agitação de 250 rpm por 5 segundos e tempo de pausa de 2 segundos (figura 10), em seguida, foi coletado o HS em volume de 500 µL com a seringa modelo Hamilton 1 mL, *samplelock* – Sigma – Aldrich Brasil Ltda, Cotia/SP (Figura 8) e injetado no CG-MS para análise.

As amostras foram analisadas no GC-MS-QP2010 SE da Shimadzu, modelo 2010, do Laboratório de Combustíveis do Instituto de Química (INQUI) da UFMS. Para a análise foi utilizada uma coluna capilar DB-5MS (20 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de espessura do filme) da Restek. A programação de temperatura do forno durante as análises foi de 40 °C durante 5 minutos, na sequência a temperatura teve um aumento gradual, chegando a 170°C a taxa de 10°C/min. e ao atingir a temperatura de 250°C, a uma taxa de 8°C/min., permanecendo nessa temperatura por 10 min (Figura 10). As injeções da amostra foram realizadas manualmente com volume 500 µL de HS em modo sem divisão (*splitless*) com a temperatura do injetor mantida a 250 °C. O gás hélio foi usado como gás de arraste com uma vazão de 1 mL/min. A fonte de ionização será por impacto de elétrons (EI) e o analisador de massas utilizado foi o quadrupolo. O modo de varredura utilizado foi o *scan* de 4 a 38 minutos a uma velocidade de 1666 m/s, a faixa de massa entre 30 e 800 m/z. Os espectros de massas obtidos por meio da separação cromatográfica foram comparados e identificados a partir dos compostos presentes na biblioteca do Instituto Nacional de Normas e Tecnologia (NIST).

Para garantir que não houvesse contaminação no procedimento, foram realizadas análises de branco antes das análises das amostras de todos os indivíduos, com isso foram injetadas seringas contendo ar ambiente. Outro cuidado adotado para evitar possíveis contaminações entre amostras, foi a utilização de solvente hexano que foi inçado para limpeza da seringa após as análises, na sequência as seringas permaneceram sob ar ambiente para secagem.

Por meio da GC-MS, buscou-se avaliar o perfil de moléculas presentes no sebo e no suor dos indivíduos de ambos os grupos experimentais e, por comparação, para identificar

quais moléculas estariam presentes apenas nas pessoas com DP, servindo assim como marcadores químicos da doença.



Figura 8: Seringa modelo Hamilton 1 mL, *samplelock*, utilizada para injeção de amostras no CG-MS. Fonte própria



Figura 9: Cromatógrafo gasoso acoplado a espectrometria de massas. Fonte própria



Figura 10: Sistema de injeção de amostras de GC, que possui um forno onde as amostras foram incubadas. Fonte própria

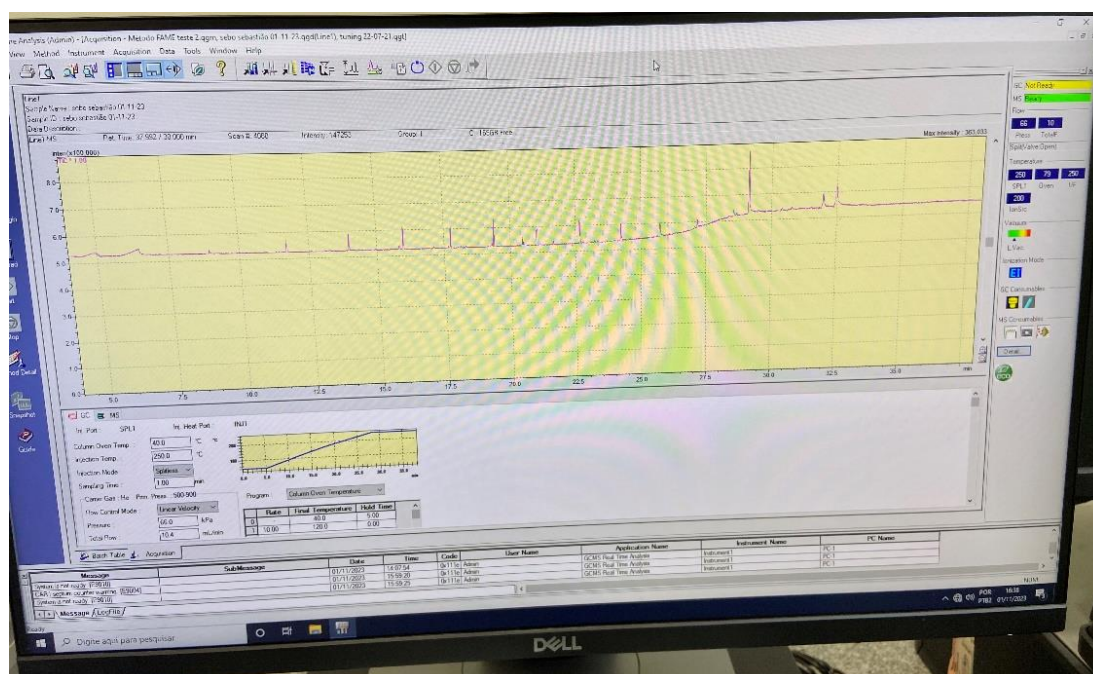


Figura 11: Cromatograma demonstrando os picos registrados durante análise de uma amostra de sebo. Fonte própria.

4.6 Análise dos dados – Diferenciação de moléculas entre os grupos

Os dados foram analisados por meio de métodos quimiométricos, utilizando matrizes formadas pelos compostos identificados, organizados como variáveis categóricas. Dois métodos distintos foram aplicados: o método não supervisionado de Análise de Componentes Principais (PCA, do inglês Principal Component Analysis), que permitiu identificar padrões e reduzir a dimensionalidade dos dados, e o método supervisionado de Mínimos Quadrados Parciais com Análise Discriminante (PLS-DA, do inglês Partial Least Squares – Discriminant Analysis), empregado para classificar e discriminar os grupos de interesse com base nos compostos analisados.

A utilização de métodos quimiométricos, como PCA e PLS-DA, permitiu a identificação de padrões significativos mesmo com um número reduzido de participantes ($n = 14$). Esses métodos são amplamente reconhecidos por sua capacidade de lidar com matrizes de dados multivariados e de alto conteúdo informativo, permitindo a extração de informações relevantes mesmo em cenários com tamanhos amostrais limitados. A aplicação da análise quimiométrica viabiliza a identificação de tendências e a discriminação de grupos, reduzindo a necessidade de grandes tamanhos amostrais, ao aproveitar ao máximo a variabilidade dos dados disponíveis. Essa abordagem robusta é especialmente vantajosa em estudos exploratórios ou em áreas onde a obtenção de amostras maiores é limitada por fatores logísticos ou éticos (Saccenti; Timmerman, 2016).

5 RESULTADOS

5.1 Resultados do objetivo I – metodologia de coleta de amostras de sebo e suor

Um aspecto relevante foi as adequações necessárias para que o método de coleta de amostras atingisse uma concentração de moléculas satisfatória, resultando em análises mais robustas, com um percentual de identificação das substâncias superior a 90%. Diante disso, identificamos duas variáveis que foram preponderantes para gerar resultados satisfatórios no reconhecimento das substâncias, (1) observamos que quanto maior o acúmulo de sebo e suor na pele do participante, maiores foram os percentuais de certeza na identificação das moléculas; e (2) a coleta de sebo que foi mais eficaz quando realizada a raspagem da pele com uma espátula de metal, além do uso da haste flexível.

Outro ponto fundamental foi o período do dia em que as coletas foram realizadas. As amostras obtidas no período matutino apresentaram concentrações insuficientes de sebo. Em contrapartida, as coletas realizadas no período vespertino demonstraram concentrações que indicaram maior confiabilidade na identificação das moléculas (percentuais mais elevados). Supomos que, no período vespertino, haja mais tempo para que o organismo produza e secrete uma quantidade maior de sebo na pele.

Os instrumentos empregados para coletar os biofluidos, tanto sebo quanto suor, tiveram um impacto significativo nos resultados das análises. Quando utilizamos uma gaze médica para a coleta (estudo piloto), observamos a presença de 124 compostos químicos, provenientes tanto da própria gaze quanto possivelmente da luva cirúrgica utilizada pelo pesquisador que realizou a coleta. Portanto, a utilização da haste flexível de papel, com pontas envoltas por algodão (mais conhecidas como cotonetes), mostrou ser a opção mais adequada em nosso caso, evitando diversos 'contaminantes' do plástico.

Como mencionado anteriormente, as amostras foram injetadas no cromatógrafo após incubação, utilizando a mesma seringa Hamilton. Com o objetivo de evitar a contaminação da amostra em análise por substâncias da análise anterior, a seringa foi lavada com hexano, um solvente altamente volátil, imediatamente após cada análise. Isso foi feito para garantir a

ausência de qualquer composto químico no interior da seringa. Em cada dia de análises no laboratório, as amostras (sebo e suor) de um mesmo participante foram analisadas, ou seja, as amostras de um único participante foram processadas em um único dia. Ainda com o propósito de evitar substâncias contaminantes, antes da coleta de sebo e suor, os participantes foram orientados sobre os cuidados necessários e preparação da pele para o dia da coleta. Portanto, cuidados como: (1) a não aplicação, em nenhum local do corpo, de qualquer produto químico de tratamento e/ou higiene como soluções tópicas, pomadas, óleos, géis, hidratantes, cremes, perfumes, protetor solar e desodorantes; (2) não lavar a face, os cabelos e a região superior do dorso no dia da coleta.

Coleta de sebo: Para a coleta das amostras de sebo, os participantes permaneceram em repouso, em sedestação. Foi realizada a raspagem superficial da pele com o uso de uma espátula de aço inox previamente higienizados e autoclavada. O sebo localizado na espátula foi depositado em algodão. Após o procedimento de raspagem das regiões corporais citadas, o sebo também foi coletado com hastes flexíveis de papel e pontas em algodão (2 hastes por região corporal), do fabricante Flexicotton Indústria e Comércio de Produtos de Higiene Pessoal S/A, Santo Amaro da Imperatriz-SC.

Coleta de suor: Na sequência, para obtenção e coleta de suor, dois métodos foram utilizados, conforme as características do participante. (1) os participantes passavam por sessões de exercícios promovidas pelos estagiários do curso de fisioterapia para a geração de gotículas de suor; ou (2) quando, devido a algum tipo de limitação ao exercício, a obtenção de suor era impossibilitada, o participante era posicionado confortavelmente numa maca, em decúbito dorsal. Nesse caso, era realizado um leve aquecimento da região toracoabdominal por meio de uma manta térmica modelo Termotek, medindo 50x100cm, do fabricante Estek, São Paulo/SP. O suor era coletado com a utilização hastes flexíveis de papel e pontas em algodão em cada região corporal pré-definida.

Regiões corporais para coleta de sebo: (1) região do terço superior da face; (2) região superior do dorso (entre as escápulas).

Regiões corporais para coleta de suor: (1) região do terço superior da face; (2) região superior do dorso (entre as escápulas) e; (3) região axilar.

A coleta de sebo e suor foi conduzida em cada participante no período vespertino. Inicialmente, foi realizada a coleta de sebo, seguida pela coleta de suor assim que o participante apresentasse gotículas de suor na pele.

Acondicionamento das amostras: Foram utilizados *vials* do tipo CRIMP para *headspace*, de vidro transparente, com capacidade de 20 mL. Os *vials* foram imediatamente lacrados com um alicate para fixação das tampas magnéticas tipo CRIMP, bimetálico, 20 mm, com septo de PTFE/silicone natural. Tanto os *vials*, quanto os lacres magnéticos e o alicate são do mesmo fabricante, Thermo Scientific Sun Sri, China. Apenas o algodão da haste flexível foi acondicionado dentro dos *vials*.

5. 2 Resultados do objetivo II – estabelecimento de protocolo de análise de moléculas secretadas no sebo e suor

Para estabelecer o protocolo de análise de moléculas presentes no sebo e suor humano por cromatografia gasosa, a fase inicial deste estudo, envolveu a realização de diversos testes preliminares (estudo piloto). O principal objetivo nesta etapa foi adaptar tanto os métodos de coleta dos biofluidos quanto os parâmetros de análise cromatográfica às possibilidades de análise do nosso laboratório na UFMS. Essa adaptação se fez necessária, especialmente em relação aos procedimentos descritos no estudo de Trivedi e colaboradores (2019), que investigou exclusivamente as amostras de sebo dos participantes. Além disso, o cromatógrafo disponível em nosso laboratório (INQUI/UFMS) é de um modelo diferente e possui algumas limitações em comparação ao aparelho utilizado no estudo de Trivedi, realizado no Reino Unido. As adaptações realizadas incluem: (1) a realização manual das injeções das amostras; (2) a ausência da pré-concentração dos analitos; (3) a não realização do teste odorífero; e (4) algumas adaptações nos parâmetros, conforme descrito na tabela a seguir.

Tabela 1: Parâmetros utilizados na cromatografia gasosa hifenada a espectrometria de massas (CG-MS), nas análises de branco, sebo e suor.

Parâmetro	Condições
<i>Split</i>	0
Injeção	250° C
Coluna	40 - 250° C
Pressão	66 kPa
Fluxo total	10.4 mL/min
Fluxo da coluna	1,23
Fluxo total de gás na coluna	1,23 mL/min
Velocidade Linear	40 cm/sec
Temperatura da fonte ionização	200° C
Temperatura da interface	250° C
Tempo de corte do solvente	3,5 min
Massa	
Início m/z	30
Final m/z	800
Velocidade de varredura	1666
Varredura	Scan
Headspace	
Temperatura de <i>Headspace</i>	60° C
Tempo de incubação	5 min
Tempo de agitação	250 rpm: On - 5' / off - 2'
Volume de injeção	500 µL

5. 3 Resultados do objetivo III - Separação de moléculas secretadas no sebo e suor

Neste estudo, tanto o método de coleta de sebo e suor quanto os parâmetros cromatográficos empregados mostraram-se eficazes na identificação das substâncias voláteis presentes nesses biofluidos nos participantes de ambos os grupos analisados. As substâncias detectadas nas amostras de sebo e suor dos grupos foram consideradas identificadas apenas quando apresentavam um grau de identificação superior a 90%, conforme os critérios da biblioteca do NIST.

Nos dois grupos, as substâncias identificadas nas amostras de sebo totalizaram 104 compostos, enquanto as amostras de suor foram encontrados 109 compostos (n=14) (Apêndice B). As análises por CG-MS das amostras do grupo controle identificaram 51 substâncias no sebo e 44 no suor, indicando uma diversidade menor desses compostos nesses biofluidos. Em contraste, as amostras do grupo DP mostraram um número significativamente maior de substâncias voláteis, com 86 compostos identificados no sebo e 93 no suor. Esse aumento substancial no número de substâncias detectadas pode refletir as possíveis alterações bioquímicas associadas à condição. As tabelas a seguir (2 e 3) apresentam o isolamento das principais (acima de 50% dos participantes do G1 e/ou G2) moléculas secretadas no sebo e no suor de indivíduos com diagnóstico de DP, em comparação com aquelas presentes nos biofluidos de indivíduos do grupo controle, proporcionando uma visão das diferenças entre os dois grupos. Após a etapa de identificação das substâncias, os dados obtidos foram submetidos a análises quimiométricas para uma avaliação mais aprofundada e interpretação dos dados.

Tabela 2: Substâncias voláteis identificadas pela CG-MS no suor de participantes do grupo controle e DP.

Substâncias identificadas Suor	Grupo Controle	Grupo DP
	n-7 (%)	n-7 (%)
Metoxi-fenil-oxima	0	100
Ácido <i>cis</i> -vacênico	0	100
Ácido eicosanoico	0	86
Ácido heptanoico	0	86
3,4-diidroxi-mandélico	0	86
Ácido ascórbico 2,6-dihexadecanoato	14	86
Ácido octadecenoico	100	29
Ácido pentadecanoico	86	29
Ácido tridecanoico	71	14
2-Undecenal	0	57
2-Dodecenal	0	57
Ácido <i>cis</i> -11-eicosenoico	0	57
2-Tridecenal	0	57
Ácido oleico	57	100
2-Decenal	14	57
Ácido nonanoico	71	43
Ácido hexanoico	86	57
Ácido octadecadienoico	29	57
Ácido tetradecanoico	57	29
Ácido octanoico	57	71
Ácido hexadecanoico	100	86
Ácido octadecanoico	71	86
Ácido pentanoico	43	57
Silanediol	86	86

Tabela 3: Substâncias voláteis identificadas pela CG-MS no sebo de participantes do grupo controle e DP.

Substâncias identificadas	Grupo	Grupo
	Controle	DP
Sebo	n-7 (%)	n-7 (%)
Ácido <i>cis</i> -vacênico	0	100
<i>cis</i> -10-Heptadecenoico	0	100
Ácido eicosanoico	14	100
Ácido erúcico	0	86
Ácido octanoico	14	86
Metoxi-fenil-oxima	0	71
3,4-diidroxi-mandélico	0	71
<i>cis</i> -13-Eicosenoico	0	71
Ácido hexanoico	100	29
Ácido octadecenoico	86	43
Ácido decanoico	29	86
Ácido <i>cis</i> -10-nonadecenoico	0	57
Ciclopentadecanone, 2-hidroxi	0	57
Ácido palmitoleico	0	57
Ácido heptanoico	14	57
Ácido tetradecanoico	43	86
Silanediol	43	71
Ácido nonanoico	43	71
Ácido heptadecanoico	71	43
Ácido oleico	71	100
Ácido tridecanoico	57	86
Ácido octadecanoico	71	100
Ácido ascórbico 2,6-dihexadecanoato	57	71
Ácido octadecadienoico	43	57
Ácido pentadecanoico	86	86
Ácido hexadecanoico	100	100

Entre as substâncias identificadas no sebo e no suor, observou-se a presença de ácidos comuns a ambos os grupos analisados. Esses achados indicam que esses ácidos podem ser componentes predominantes desses biofluidos humanos, independentemente da condição clínica dos indivíduos. No suor, substâncias como o ácido hexadecanoico, ácido octadecanoico e silanediol foram prevalentes em ambos os grupos. Já nas amostras sebo, os compostos mais prevalentes nos dois grupos foram o ácido hexadecanoico, ácido pentadecanoico e ácido oleico.

Entre as principais diferenças observadas suor, destacam-se algumas substâncias que foram exclusivas no grupo DP e ausentes no grupo controle, como o metoxi-fenil-oxima e o ácido *cis*-vacênico (presente em 100% no suor do grupo DP), ácido eicosanoico, ácido heptanoico e o 3,4-diidroxi-mandélico (presente em 86% no suor do grupo DP). Em contrapartida, o ácido octadecenoico parece estar regulado positivamente no grupo controle em relação ao grupo DP, presente em 100% dos indivíduos e pouco frequente no grupo de pessoas com a DP.

Os resultados das análises de sebo evidenciaram ainda mais as possíveis diferenças entre os grupos. O ácido *cis*-vacênico e o *cis*-10-heptadecenoico foram identificados em todos os participantes do grupo DP, enquanto o ácido erúcico foi encontrado em 86% deles. Algumas substâncias, presentes em 71% dos indivíduos do grupo DP, foram exclusivas desse grupo, como metoxi-fenil-oxima, 3,4-diidroxi-mandélico e *cis*-13-eicosenoico.

Essas diferenças nas substâncias identificadas podem refletir alterações no metabolismo lipídico, síntese de ácidos graxos, ou até mudanças nas respostas inflamatórias associadas DP. A identificação e a distribuição desses ácidos podem refletir processos metabólicos fundamentais compartilhados pelos indivíduos, o que reforça a ideia de que tais substâncias desempenham papéis importantes na composição e função dos biofluidos (Khamis *et al.*, 2017; Khodadadi; Pourfarzam, 2020).

5.4 Resultados do objetivo IV – Análises quimiométricas para diferenciação no padrão de secreção de moléculas

Para as análises quimiométricas, os 28 picos cromatográficos mais intensos no cromatograma foram selecionados para avaliação minuciosa dos dados de Espectrometria de Massas, cujos compostos foram assinalados com auxílio da biblioteca do equipamento utilizando-se uma correspondência (*matching*) $\geq 90\%$. Estes resultados geraram 104 compostos identificados nas amostras de sebo e 109 compostos nas amostras de suor, os quais foram utilizados como variáveis categóricas para a construção de matrizes de dados para a análise quimiométrica (14x104 para sebo; 14x109 para suor), com atribuição dos valores 1 ou 0 para presença e ausência, respectivamente, destes compostos nos participantes estudados (n=7 participantes com a DP e n=7 participantes no grupo controle).

As matrizes de dados contendo os compostos identificados organizados como variáveis categóricas foram avaliadas pelo método não-supervisionado de Análise de Componentes Principais (PCA, da sigla em inglês para *Principal Component Analysis*) e pelo método supervisionado dos Mínimos Quadrados Parciais com Análise Discriminante (PLS-DA, da sigla em inglês para *Partial Least Square – Discriminant Analysis*). O PCA é utilizado para identificar padrões nos dados sem a necessidade de informações prévias sobre os grupos, sendo eficaz para reduzir a dimensionalidade e revelar relações intrínsecas entre as variáveis. Por outro lado, o PLS-DA é um método supervisionado que utiliza informações sobre os grupos de classificação previamente definidos, permitindo discriminar e prever as categorias com base nas características dos dados. Esses dois métodos, combinados, fornecem uma análise complementar e abrangente dos compostos identificados (Saccenti; Timmerman, 2016).

Os compostos destacados a partir dos dados de PLS-DA (VIP scores > 2.0), os quais foram considerados como os mais importantes para a separação dos grupos DP e controle, originaram duas novas matrizes de dados a fim de avaliar a proporção relativa dos picos nos cromatogramas (uma matriz para as amostras sebo e a outra, suor - Apêndice B). Análises de PCA e PLS-DA foram novamente realizadas para as matrizes de proporção relativa. Em todos

os casos, as análises quimiométricas foram executadas sem nenhum pré-processamento sobre variáveis ou amostras.

Para as amostras de sebo, a matriz com variáveis categóricas (presença e ausência dos compostos correspondentes aos 28 picos mais intensos no cromatograma) foi analisada por PCA e revelou a distinção entre os grupos de pacientes com a DP e Controle, na primeira componente principal (PC1) (Figura 12A). Os compostos responsáveis por esta distinção estão apresentados na Figura 12B e correspondem, principalmente, a ácidos graxos e derivados. Todavia, devido à sobreposição no gráfico de *loadings* de PCA, a análise supervisionada PLS-DA foi realizada.

A PLS-DA para as variáveis categóricas do sebo apresentaram uma melhor distinção entre os grupos DP e Controle (Figura 12C), com destaque à presença preponderante de 8 compostos nos pacientes com a DP (VIP scores > 2,0): ácido *cis*-vacênico, ácido eicosanoico, ácido *cis*-10-heptadecenoico, ácido erúcico, ácido decenoico, ácido octanoico, ácido *cis*-13-eicosenoico, ácido 3,4-diidroxi-mandélico, metoxi-fenil-oxima. Por outro lado, o ácido hexanoico apresentou-se com o principal composto detectado em amostras de sebo dos pacientes do grupo controle. Adicionalmente, o grupo controle apresentou-se mais homogêneo (homogeneidade intragrupo), enquanto o grupo DP revelou uma maior heterogeneidade na composição sebácea, uma vez que os pacientes se apresentaram mais dispersos para este grupo nos gráficos de escores (Figuras 12A e 12C).

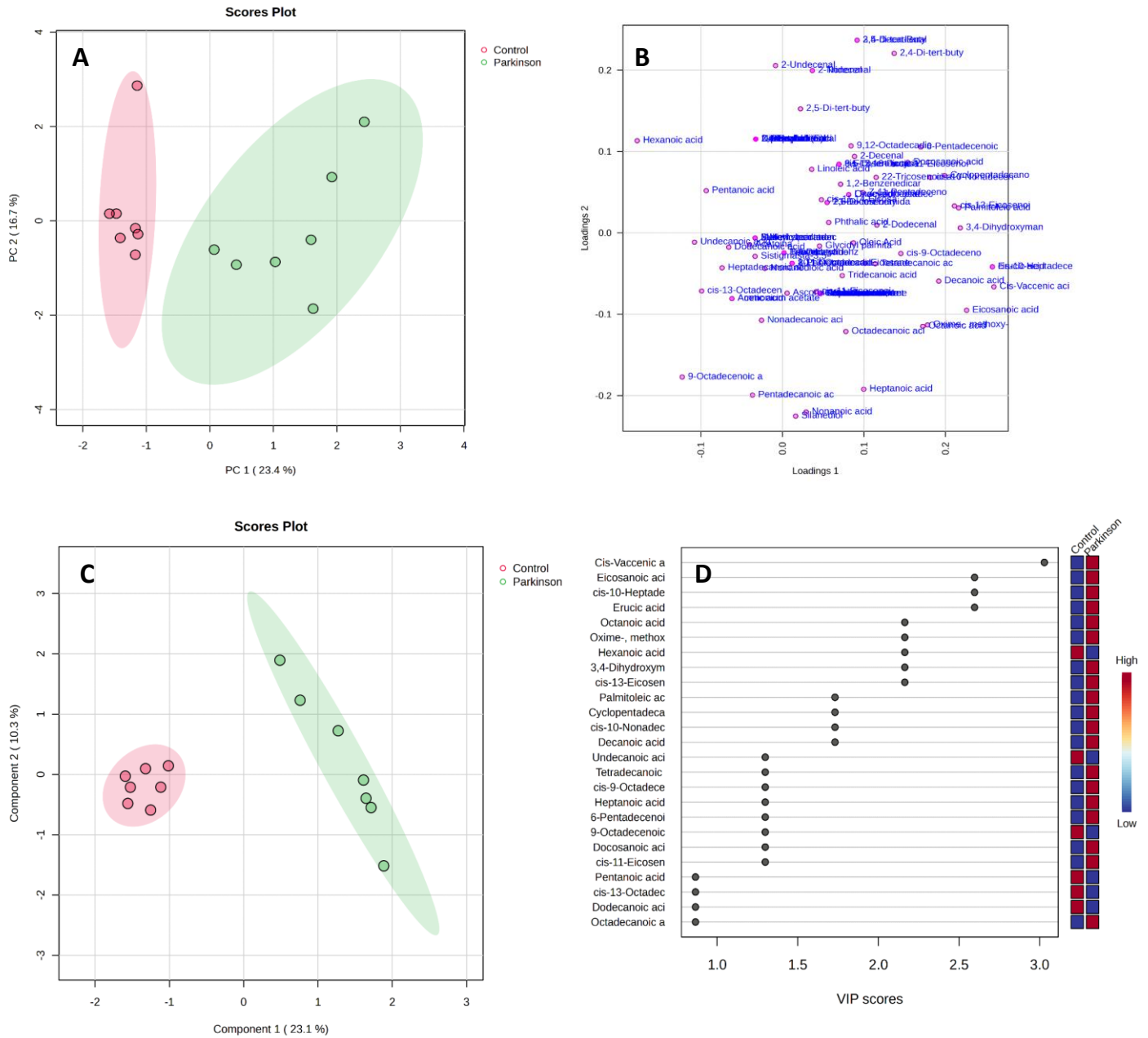


Figura 12: Gráficos de escores e *loadings* obtidos por PCA (A e B) e escores e VIP-scores obtidos por PLS-DA (C e D), respectivamente, para os compostos identificados a partir dos dados de GC-MS em comparação com a biblioteca do equipamento (compatibilidade $\geq 90\%$), para as amostras de **sebo** coletadas em indivíduos do grupo DP (verde) e grupo controle (rosa) (n=14).

A partir dos nove compostos destacados por PLS-DA para o grupo sebo (compostos com VIP scores > 2,0; Figura 12D), a proporção relativa dos picos cromatográficos correspondentes a esses compostos foi também analisada e, por sua vez, apresentou resultados surpreendentes para os gráficos de escores de PCA e PLS-DA, com variância explicada superior a 79% (Figuras 13A e 13C), com a discriminação entre pacientes com DP e participantes controle. Assim, os compostos destacados nas novas análises de PCA e PLS-DA para dados de proporção relativa (Figuras 13B e 13D) indicaram maior proporção relativa para o ácido eicosanoico, ácido *cis*-vacênico, ácido *cis*-10-heptadecenoico e ácido erúcico em pacientes com DP (VIP scores > 1,0; Figura 2D), como pode ser visualizado e confirmado também na Figura 14.

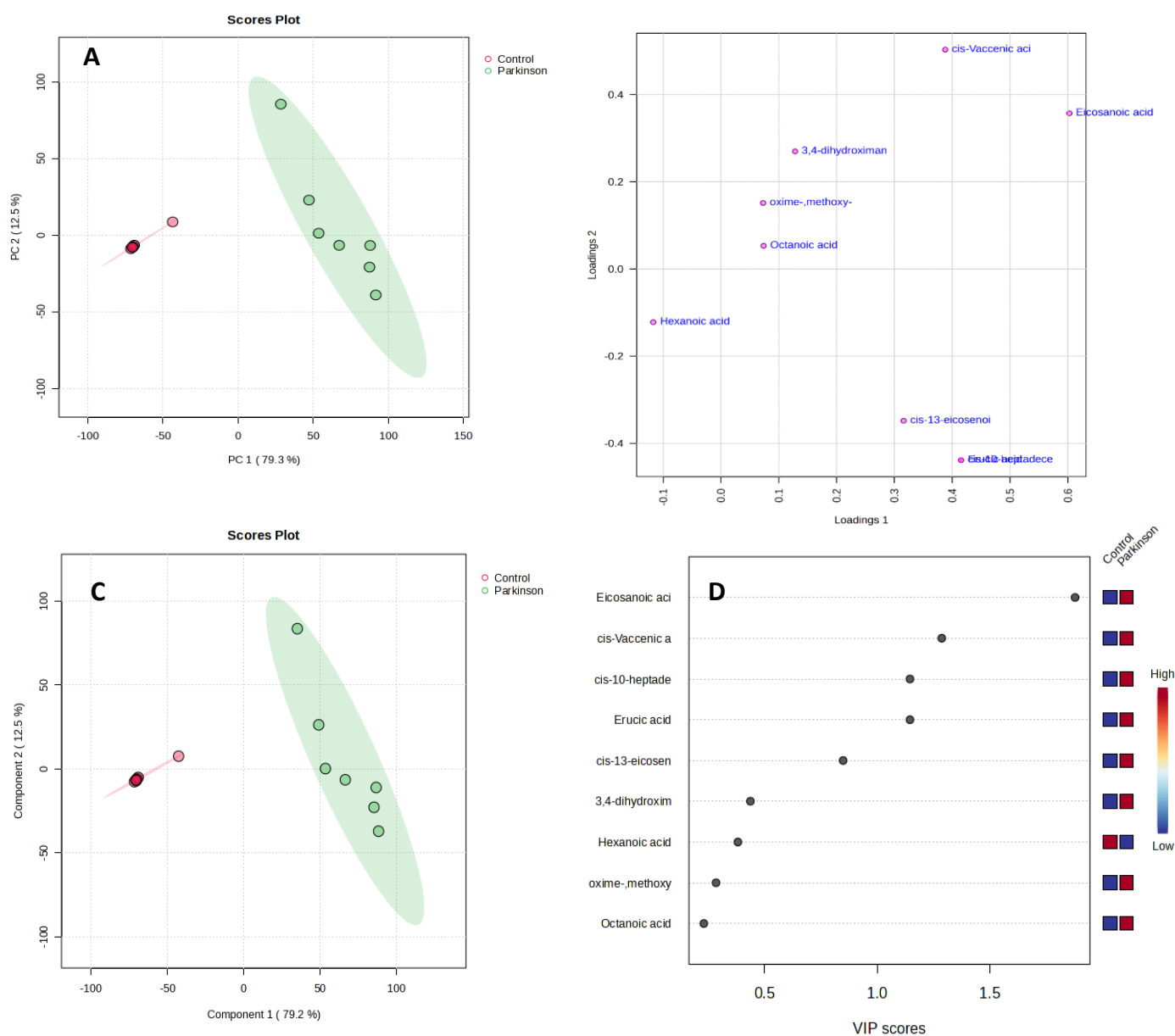


Figura 13: Gráficos de escores e *loadings* obtidos por PCA (A e B) e escores e VIP scores obtidos por PLS-DA (C e D), respectivamente, para as proporções relativas dos picos cromatográficos correspondentes os compostos apontados como os mais relevantes na Figura 12 (VIP scores ≥ 2.0) para a distinção entre as amostras de **sebo** coletados em pacientes com a DP (verde) e indivíduos do grupo controle (rosa) (n=14).

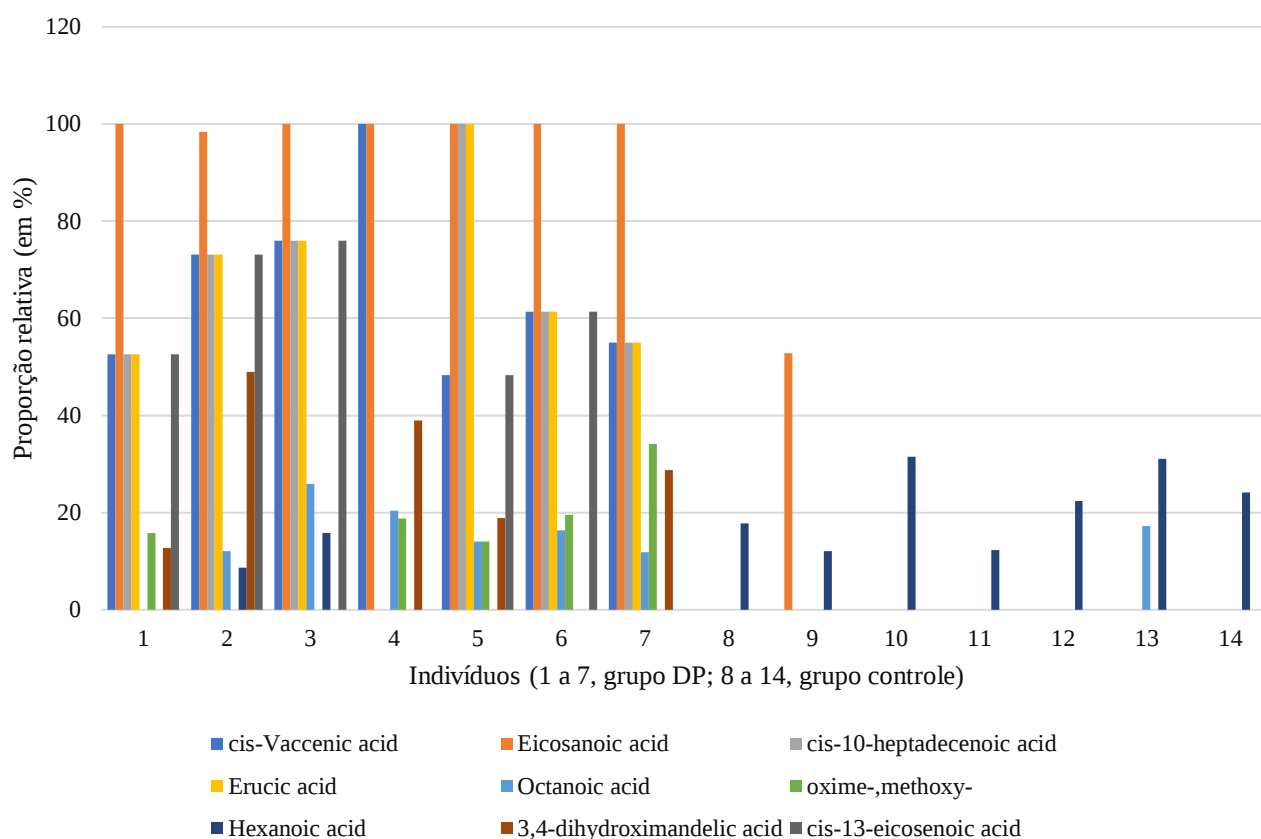


Figura 14: Gráfico de proporção relativa das áreas dos picos cromatográficos correspondentes aos compostos destacados por PLS-DA (Figura 1D, VIP scores > 2,0).

Já para as amostras de suor, os resultados das análises de PCA a partir da matriz com variáveis categóricas (presença e ausência de compostos) apresentaram uma menor distinção entre os grupos de pacientes estudados (Figuras 15A e 15C), comparativamente às amostras sebo. Dentre os compostos responsáveis pela distinção entre os grupos (Figura 15B), a presença de sete compostos nos pacientes com a DP (VIP score > 2,0) foi destacada na Figura 15D: metoxi-fenil-oxima, ácido *cis*-vacênico, ácido eicosanoico, ácido 3,4-diidroxi-mandélico, ácido heptanoico, ácido octadecenoico e ácido ascórbico 2,6-dihexadecanoato. Os resultados encontrados para a matriz de proporção relativa dos picos cromatográficos correspondentes (Apêndice B) aumentaram a distinção entre os grupos (Figuras 16A e 16C) corroborando a importância destacada do ácido eicosanoico, ácido *cis*-vacênico e ácido ascórbico 2,6-dihexadecanoato (Figura 16D), como pode ser visualizado e confirmado também pela Figura 17, sugerindo o potencial da avaliação composicional do suor, em adição à do sebo, na detecção da DP.

Adicionalmente, é importante ainda destacar que, embora não tenha sido detectada a presença homogênea de aldeídos em todos os pacientes com a DP (Figura 15), os VIP scores de PLS-DA com valores entre 1,0 e 2,0 (Figura 15D) indicam vários aldeídos com importância para o grupo DP.

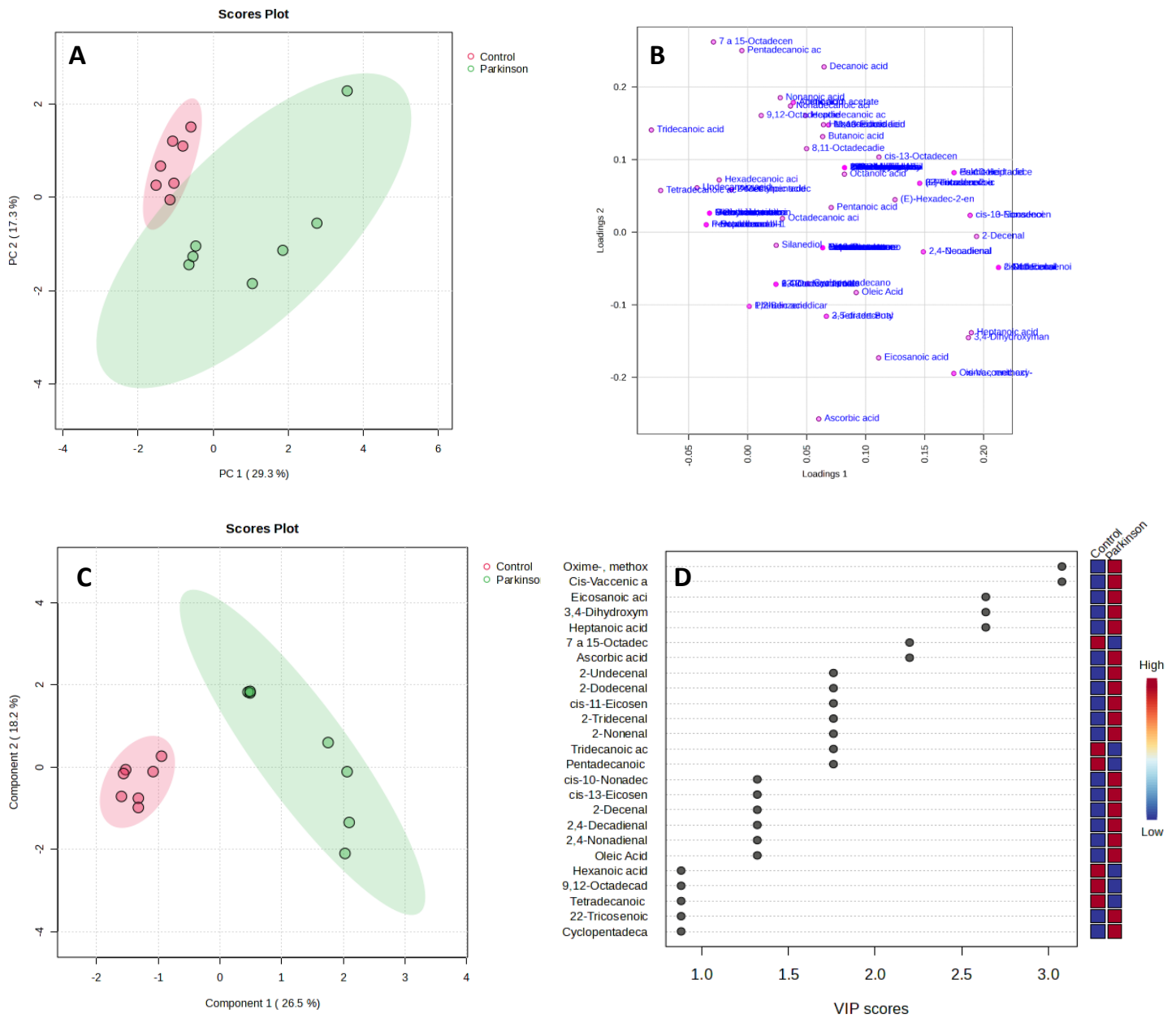


Figura 15: Gráficos de escores e *loadings* obtidos por PCA (A e B) e escores e VIP scores obtidos por PLS-DA (C e D), respectivamente, para os compostos identificados a partir dos dados de GC-MS em comparação com a biblioteca do equipamento (compatibilidade $\geq 90\%$) para as amostras de suor coletados em participantes com a DP (verde) e indivíduos do grupo controle (rosa) (n=14).

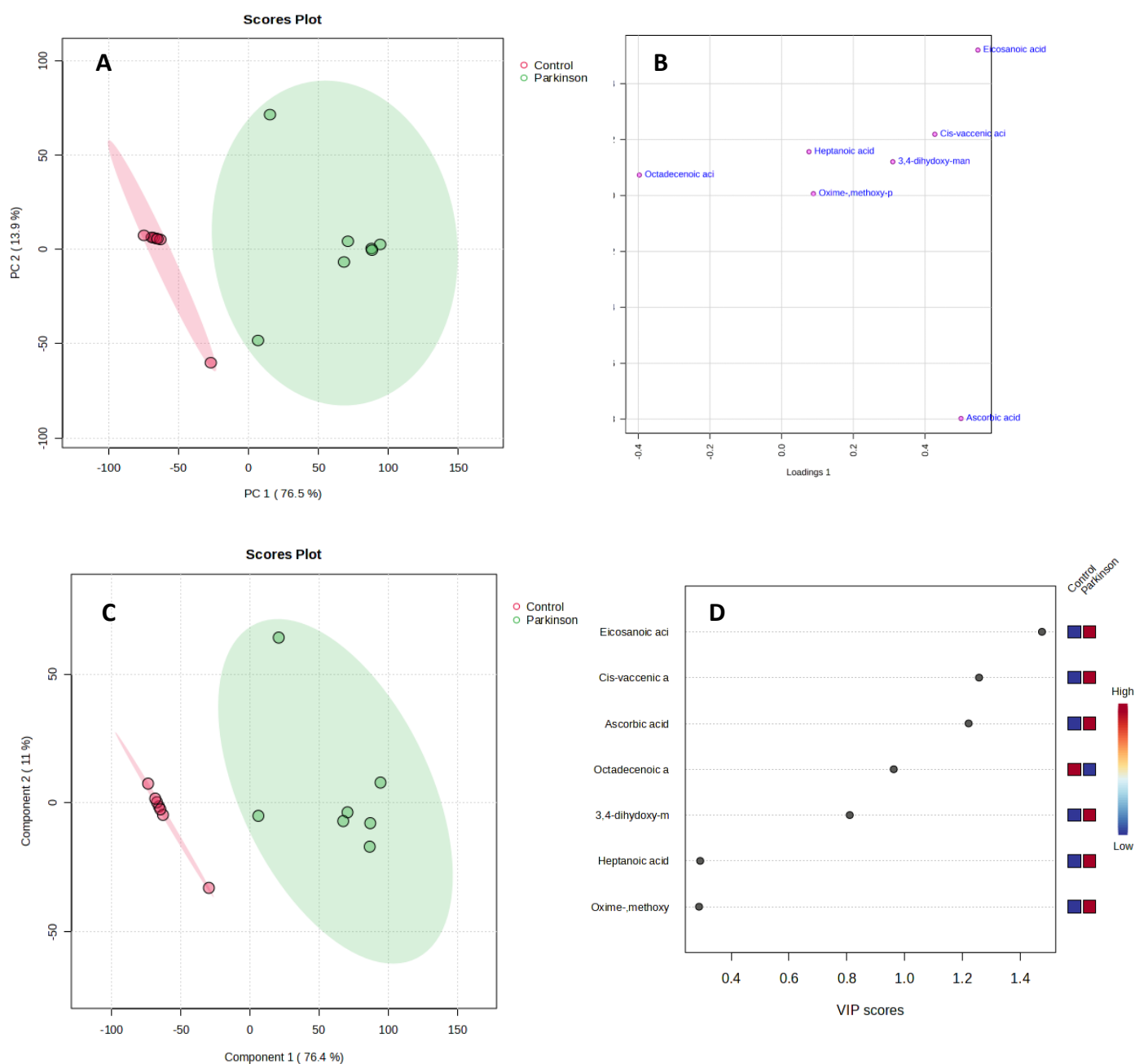


Figura 16: Gráficos de escores e *loadings* obtidos por PCA (A e B) e escores e VIP-scores obtidos por PLS-DA (C e D), respectivamente, para as proporções relativas dos picos cromatográficos correspondentes aos compostos apontados como os mais relevantes na Figura 4 (VIP scores ≥ 2.0) para a distinção entre as amostras de suor coletados em participantes com a DP (verde) e indivíduos do grupo controle (rosa) (n=14).

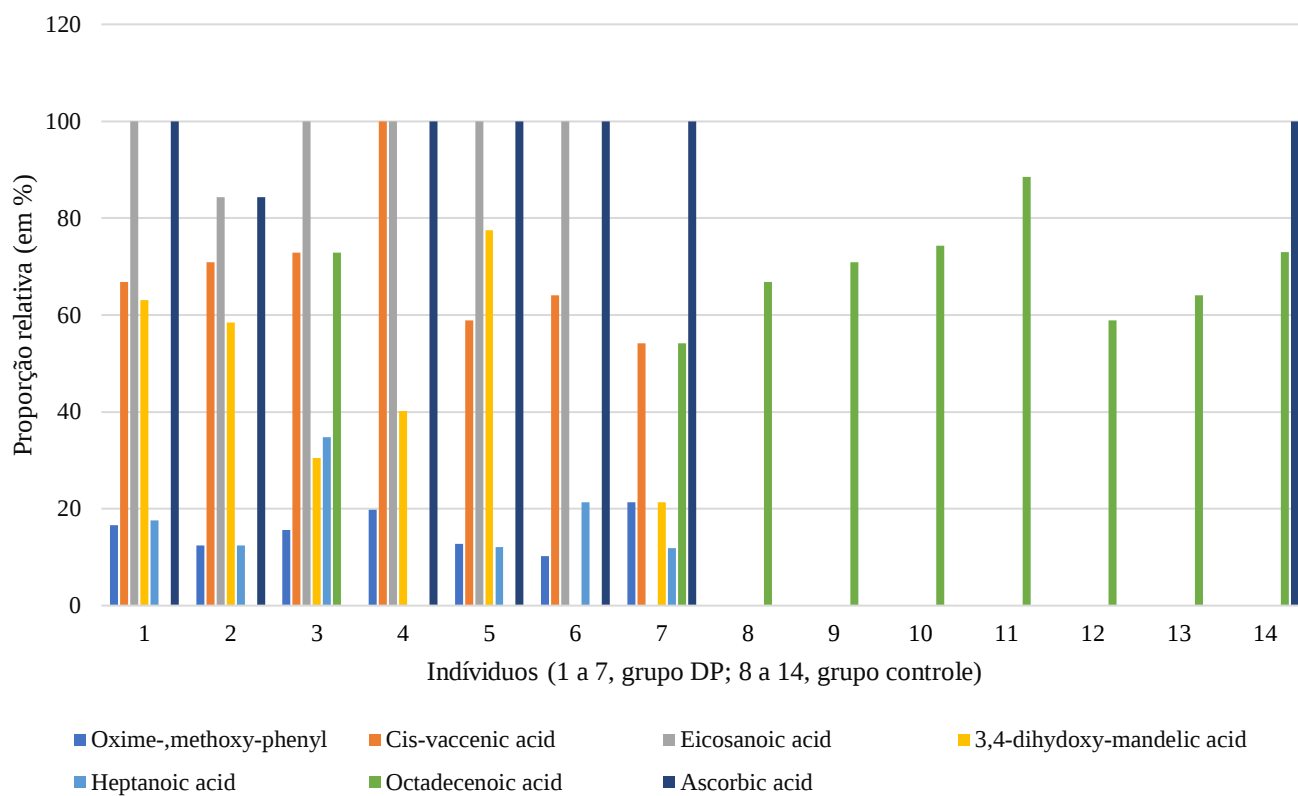


Figura 17: Gráfico de proporção relativa das áreas dos picos cromatográficos correspondentes aos compostos destacados por PLS-DA (Figura 4D, VIP scores > 2,0).

6 DISCUSSÃO

Na presente pesquisa, o foco foi a otimização da técnica de coleta e análise de amostras de sebo e suor, por meio de cromatografia gasosa hifenada a espectrometria de massas, visando identificar compostos voláteis orgânicos. Destacamos a importância de ajustes metodológicos para garantir concentrações adequadas, alcançando uma taxa de identificação acima de 90%. Destaques cruciais incluem a influência do acúmulo de sebo e suor na pele, indicando maior precisão na identificação, e a eficácia da raspagem com uma espátula de metal na coleta de sebo. No estudo conduzido por Trivedi *et al.* (2019), a coleta de sebo foi executada utilizando uma gaze médica nas mesmas regiões corporais que selecionamos para as coletas de amostras em nossa pesquisa. Entretanto, na metodologia do grupo de Trivedi, as amostras foram acondicionadas em sacos plásticos e congeladas a -80°C , até o momento da análise. No nosso contexto, a identificação da amostra ocorreu de maneira mais adequada quando acondicionamos as amostras diretamente no *vial* do tipo CRIMP de *headspace* e, imediatamente após a coleta, estas foram analisadas, sem congelamento prévio.

A influência do horário das coletas também foi evidenciada, com amostras coletas no período vespertino apresentando concentrações mais confiáveis em comparação com as amostras coletadas no período matutino, sugerindo maior produção de sebo no período vespertino. A escolha de objetos para coleta teve impacto nos resultados, destacando-se a superioridade da haste flexível de papel com pontas de algodão sobre a gaze médica. O estudo de Trivedi e colaboradores (2019), não cita estes detalhes como período do dia e objetos utilizados para a coleta, além da gaze médica.

A lavagem da seringa Hamilton entre análises foi crucial para evitar contaminação cruzada das amostras, garantindo sua integridade. O presente estudo buscou adaptar protocolos de análise por cromatografia gasosa, levando em consideração as especificidades do equipamento disponível. Ao considerar o equipamento empregado pelos pesquisadores do Reino Unido, cujo estudo serviu como base para o desenvolvimento da presente metodologia, identificamos uma discrepância em relação ao modelo disponível em nosso laboratório de análises. A necessidade de adaptações revelou-se crucial, pois nos deparamos com a ausência da capacidade de realizar a pré-concentração dos analitos, o que possivelmente, implicou na impossibilidade de isolamento

de algumas moléculas em nossas análises. Ao contrário do equipamento citado no estudo do Reino Unido (Trivedi *et al.*, 2019), nosso dispositivo não permite a realização automática das injeções com amostras. Essa disparidade destaca a importância das modificações implementadas para viabilizar a aplicação bem-sucedida da metodologia em nosso contexto laboratorial.

Nas nossas análises de sebo e suor, foram identificados ácidos que parecem ser comuns a ambos os grupos, sugerindo que essas substâncias podem ser recorrentes nos biofluidos humanos, independentemente da condição clínica. Entre as diferenças observadas, destacam-se o metoxi-fenil-oxima e o ácido *cis*-vacênico, encontrados com alta prevalência no grupo DP, além de ácidos graxos como o ácido eicosanoico, que podem indicar alterações do metabolismo lipídico associado à DP (Cassard; Honari; Tousi, 2024). No grupo controle, substâncias como o ácido hexanoico apresentaram maior prevalência, sugerindo variações nas vias metabólicas entre os grupos. Essas diferenças ressaltam a hipótese de que possam ocorrer alterações no metabolismo lipídico e respostas inflamatórias da DP.

Após a etapa de identificação das substâncias, buscamos aprofundar a interpretação dos achados. Para isso, os dados foram submetidos a análises quimiométricas, onde as amostras de sebo mostraram uma distinção mais clara entre os grupos DP e controle, com destaque para a presença marcante de oito compostos nos pacientes com a DP: ácido *cis*-vacênico, ácido eicosanoico, ácido *cis*-10-heptadecenoico, ácido erúcico, ácido decenoico, ácido octanoico, ácido *cis*-13-eicosenoico, ácido 3,4-diidroxi-mandélico e metoxi-fenil-oxima. Em contraste, o ácido hexanoico foi o composto mais prevalente nas amostras de sebo do grupo controle. Além disso, o grupo controle apresentou uma maior uniformidade na composição sebácea (menor variabilidade intragrupo), enquanto o grupo DP exibiu uma maior diversidade nas substâncias presentes no sebo.

Em relação às amostras de suor, as análises quimiométricas indicaram uma diferença menos pronunciada entre os grupos, em comparação com os resultados das amostras de sebo. Dentre os compostos responsáveis pela distinção entre os grupos DP e controle, a presença de sete compostos nos pacientes com a DP foi destacada para: metoxi-fenil-oxima, ácido *cis*-vacênico, ácido eicosanoico, ácido 3,4-diidroxi-mandélico, ácido heptanoico, ácido octadecenoico e ácido ascórbico.

Um estudo indiano, investigou a unicidade do odor humano, analisando os compostos químicos presentes no suor axilar de 55 voluntários saudáveis, com o objetivo de identificar os

fatores que contribuem para os perfis olfativos individuais. As amostras foram coletadas ao longo de um ano, abrangendo diferentes estações do ano, e analisadas por GC-MS. Foram identificados 78 compostos e a análise revelou que a unicidade do odor não depende da quantidade, mas da presença ou ausência de certos compostos específicos, importantes na individualização do cheiro humano. Os principais compostos encontrados na maioria das pessoas no estudo incluem p-benzoquinona, hidroquinona e hexadecano. Esses compostos foram encontrados com frequência e consistência em diferentes indivíduos, independentemente de sexo, idade ou estação, indicando seu papel na identificação do perfil olfativo único de cada pessoa. (Moulvi *et al.*, 2018). Em nosso estudo, buscamos identificar um padrão, uma "assinatura" de compostos químicos voláteis em pessoas com e sem DP, e observamos que, assim como Moulvi e colaboradores (2018), parece haver substâncias comuns entre os indivíduos, independentemente de sua condição de saúde.

O estudo realizado por Trivedi *et al.*, (2019) teve como objetivo investigar a relação entre um possível odor característico da DP e as moléculas presentes no sebo de pessoas diagnosticadas com a doença, comparando-as com um grupo controle composto por indivíduos sem diagnóstico da DP. Para avaliar as diferenças nas substâncias presentes nos dois grupos, os pesquisadores adotaram duas abordagens principais: (1) uma pessoa com habilidade olfativa excepcional, a Sra. Joy Milne, conhecida por sua capacidade aumentada de detectar odores ("*super smeller*"), que classificou as amostras de forma cega, identificando aquelas que se assemelhavam ao odor característico da DP; e (2) a análise das amostras por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, com o intuito de comparar os grupos e correlacionar os resultados obtidos por essa técnica com as classificações feitas pela Sra. Milne. Com base nesses métodos, a investigação de Trivedi e colaboradores (2019) foi capaz de identificar três possíveis substâncias biomarcadoras da DP — ácido hipúrico, eicosano e octadecanal — que estavam positivamente reguladas nos indivíduos com a doença.

Mencionamos que o estudo Trivedi, associou o "odor da DP" a moléculas no sebo de pessoas com a doença, identificando possíveis biomarcadores, como ácido hipúrico, eicosano e octadecanal, regulados positivamente em indivíduos com DP. Em nossos achados observamos a presença de eicosano na amostra de dois participantes do grupo DP. Tanto os resultados de Trivedi quanto os nossos, corroboram no sentido de que existem alterações fisiológicas que resultam em aumento da oleosidade na pele de pessoas com a DP. Anteriormente, outros estudos levantaram a hipótese de que algumas substâncias que são classificadas como metabólitos vegetais ou aditivos alimentares hidrofóbicos semelhantes a lipídios, podem ser mais

eficientemente capturados ou retidos na pele rica em sebo de indivíduos com DP. Da mesma maneira, outras alterações cutâneas na DP foram observadas, e a dermatite seborreica (DS), em particular, foi apontada como uma característica pré-motora da DP. (Werner; Coveñas, 2015).

Um estudo dinamarquês, relatou que pacientes com DP acometidos de DS apresentam aumento de *Malassezia spp*, com maior densidade na pele e maior atividade de lipase proporcionalmente exigida metabolicamente pela levedura. Este aumento na atividade da lipase poderia estar correlacionado com o aumento da produção de moléculas altamente lipofílicas, uma vez que *Malassezia spp* necessita de lipídios exógenos específicos para o crescimento. A *Malassezia spp* refere-se a um grupo de leveduras que são normalmente encontradas na pele de humanos e outros animais de sangue quente. Essas leveduras são parte da microbiota cutânea normal. No entanto, em certas condições, como a DS, o crescimento excessivo ou desequilíbrio dessa levedura pode ocorrer, contribuindo para problemas cutâneos, como descamação e inflamação. Essas leveduras desempenham um papel na degradação de lipídios presentes na pele, e a atividade da lipase é um dos fatores relacionados a essas condições cutâneas (Ravn *et al.*, 2017).

Mudanças no nível do metabólito são resultados naturais do início e prognóstico de muitas doenças e tais mudanças frequentemente aparecem em fluidos biológicos antes do aparecimento de sintomas clínicos (Van; Veenstr; Issaq, 2011). Por isso, a identificação de novos biomarcadores tem o potencial de aprimorar o entendimento das doenças humanas e, em última instância, poderia contribuir para a melhoria da qualidade de vida dos pacientes (Zhang *et al.*, 2012b). Nesse cenário, a metabolômica tem sido amplamente utilizada em pesquisas nas áreas de alimentos, plantas, micróbios e medicina. Como os metabólitos *in vivo*, que são o foco da metabolômica, estão localizados após os processos centrais que regulam as funções biológicas, a quantificação desses metabólitos pode proporcionar uma compreensão mais detalhada das atividades celulares. Além disso, acredita-se que as alterações nos metabólitos *in vivo* reflitam de maneira estreita as mudanças no fenótipo de um organismo (Tsuchida; Nakayama, 2022).

Desde que os primeiros registros da DP foram feitos em 1871, várias incógnitas foram elucidadas a respeito dessa condição complexa e multifacetada. Abaixo, apresentamos alguns pontos de destaque:

(1) A DP é um distúrbio neurológico que se manifesta pela degeneração dos neurônios responsáveis pela produção de dopamina no cérebro, resulta em sintomas motores, como tremores, rigidez, lentidão nos movimentos e problemas de equilíbrio (Tolosa *et al.*, 2021);

(2) Embora a causa específica da DP ainda não seja completamente compreendida, supõe-se que seja influenciada por fatores genéticos, mudanças neurais relacionadas à idade e a presença de estruturas anormais denominadas corpos de Lewy (Tofaris, 2022);

(3) Diversos mecanismos estão associados à DP, como estresse oxidativo, comprometimento das mitocôndrias, deformação de proteínas, excitotoxicidade, inflamação e reações autoimunes (Kalia; Lang, 2015);

(4) O tratamento visa aliviar os sintomas por meio de medicamentos, incluindo levodopa e agonistas da dopamina, além de intervenções cirúrgicas, como a estimulação cerebral profunda. No entanto, essas abordagens não conseguem desacelerar ou deter a progressão da doença (Caproni; Colosimo, 2020);

(5) Os diagnósticos clínicos continuam sendo a principal ferramenta diagnóstica da DP e estudos demonstraram que quando realizados por médicos experientes, sua acurácia é de 83,9%. Entretanto, na maioria dos casos, os diagnósticos ocorrem em fases em que o comprometimento neuronal já é substancial (Hustad *et al.*, 2018).

Até o momento, neste estudo, foram demonstradas algumas substâncias que parecem ter relevância e podem ser candidatas a possíveis biomarcadores da DP, úteis para colaborar com um diagnóstico mais acurado e precoce. Bem como, foram desenvolvidas e testadas técnicas de coleta de biofluidos, as análises e suas interpretações. Tais achados, corroboraram com os resultados obtidos no estudo de Trivedi e colaboradores (2019), que investigou os metabólitos voláteis de amostras de sebo, obtidas de forma não invasiva da parte superior das costas de 64 participantes no total (21 controles e 43 indivíduos com DP). Como resultado o estudo foi capaz de identificar uma assinatura distinta de DP associada a voláteis, incluindo níveis alterados de aldeído perílico e eicosano.

Da mesma forma que no nosso estudo e no estudo de Trivedi (2019), a análise da composição lipídica da pele foi realizada, indicando a possibilidade de alterações na composição e na secreção de sebo. Essa modificação pode influenciar a atividade microbiana na pele de pacientes com DP, o que poderia impactar na composição da microflora cutânea. Essa alteração,

por sua vez, pode levar a mudanças na produção de alguns metabólitos. As variações no odor em pacientes com DP podem ser explicadas pelas potenciais alterações na microflora e na fisiologia da pele, proporcionando uma perspectiva mais direcionada para a condição da DP (Wikoff *et al.*, 2009).

No estudo de Sarkar *et al.* (2022), os pesquisadores utilizaram uma técnica para analisar o sebo coletado com *swabs*. Após a coleta, o sebo foi aplicado em um papel especial, e então empregaram a ionização por spray, uma técnica que transforma as moléculas presentes no sebo em íons carregados. Esses íons foram analisados por espectrometria de massas de mobilidade iônica (PS-IM-MS), que permite a identificação de diferentes tipos de moléculas no sebo com base em sua massa e mobilidade iônica. O objetivo era observar quais classes de lipídios no sebo poderiam ser usadas para diagnosticar a DP, e os resultados indicaram uma predominância de triacilglicerídeos e diglicerídeos no sebo dos indivíduos com DP. Assim como observado em nosso estudo, Sarkar e colaboradores (2022) destacaram um fator limitante para as análises cromatográficas: o acúmulo de sebo na pele do indivíduo, o que dificulta a identificação dos compostos voláteis, especialmente quando a quantidade de sebo é baixa. Outro ponto convergente entre o nosso estudo e o estudo citado foi o momento da análise, onde os melhores resultados foram obtidos com as análises realizadas logo após a coleta.

Este estudo apresenta algumas limitações que devem ser consideradas na interpretação dos resultados. O tamanho amostral (n=14) pode limitar os achados, embora os métodos quimiométricos utilizados tenham permitido identificar padrões robustos. Além disso, não foi possível realizar uma comparação dos resultados obtidos em diferentes estágios de progressão da DP, o que poderia fornecer informações importantes sobre a evolução dos marcadores analisados. Outro ponto relevante é a potencial influência da medicação utilizada pelos participantes do grupo DP, como a levodopa, na composição das amostras analisadas. Não está claro se as substâncias identificadas são decorrentes da própria doença ou de efeitos induzidos pelo tratamento farmacológico. Por fim, vale destacar que todos os participantes do grupo DP foram avaliados na fase "on", o que pode ter impacto sobre os resultados observados. Estudos futuros que abordem essas questões poderão contribuir para uma compreensão mais ampla e aprofundada dos achados apresentados.

7 CONCLUSÃO

Neste estudo, foi possível identificar possíveis biomarcadores da DP por meio da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. A metodologia de coleta de sebo e suor foi desenvolvida e otimizada, permitindo a obtenção de amostras de alta qualidade para análise, com destaque para importância do momento da coleta e da análise imediata das amostras, o que garantiu uma taxa de identificação satisfatória.

Foi estabelecido um protocolo eficaz para a análise dessas amostras, resultando na identificação de 213 compostos orgânicos voláteis. Dentre eles, destacaram-se no sebo o metoxi-fenil-oxima, o ácido *cis*-vacênico, o ácido eicosanoico, o *cis*-10-heptadecenoico e o ácido erúico, os quais sugerem possíveis alterações no metabolismo lipídico associado à DP. Essas substâncias mostraram-se mais prevalentes no grupo de indivíduos com DP, apresentando diferenças significativas em relação ao grupo controle. Quanto à identificação das amostras de suor destacam-se algumas substâncias exclusivas no grupo DP e ausentes no grupo controle, como o metoxi-fenil-oxima e o ácido *cis*-vacênico, ácido eicosanoico, ácido heptanoico e o 3,4-diidroxi-mandélico.

As análises quimiométricas permitiram diferenciar de forma clara as amostras de sebo e suor entre os grupos com e sem a DP, destacando no sebo compostos específicos, como ácido eicosanoico, o ácido *cis*-vacênico, o ácido *cis*-10-heptadecenoico e o ácido erúico. Adicionalmente, as amostras de sebo do grupo controle apresentaram maior homogeneidade intragrupo, enquanto o grupo de pacientes com a DP revelou uma maior heterogeneidade na composição sebácea. Quanto às amostras de suor, destacaram-se compostos como o ácido eicosanoico, o ácido *cis*-vacênico e o ácido ascórbico 2,6-dihexadecanoato. Essas substâncias apontam para potenciais biomarcadores que poderiam auxiliar no desenvolvimento de técnicas para diagnóstico precoce. Assim, os resultados obtidos confirmaram a viabilidade de utilizar os biofluidos como ferramentas para a identificação de biomarcadores coletados de forma não invasiva, abrindo novas perspectivas para outras pesquisas sobre biomarcadores da DP, auxiliando no diagnóstico precoce da doença.

REFERÊNCIAS

ABAD-GARCÍA, A.; OCAMPO-NÉSTOR, A. L., DAS, B. C.; FARFÁN-GARCÍA, E. D.; BELLO. M.; TRUJILLO-FERRARA, J. G.; SORIANO-URSÚA, M. A. Interactions of a boron-containing levodopa derivative on D₂ dopamine receptor and its effects in a Parkinson disease model. **J Biol Inorg Chem**. v. 27, n. 1, 121-131. 2022. doi:10.1007/s00775-021-01915-2. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34806120/>

ABOOSHAHAB, R., HOOSHMAND, K., RAZAVI, S. A., GHOLAMI, M., SANOIE, M., & HEDAYATI, M. (2020). Plasma Metabolic Profiling of Human Thyroid Nodules by Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) - Based Untargeted Metabolomics. **Frontiers in cell and developmental biology**, v. 16, n. 8, 385. 2020 <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00385>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32612989/>

ACOSTA-MEJIA, M. T.; VILLALOBOS, N. Neurophysiology of Brain Networks Underlies Symptoms of Parkinson's Disease: A Basis for Diagnosis and Management. **Diagnostics (Basel)**. vol 13, pág. 2394 2405, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/diagnostics13142394>.

AGNELLO, L.; GAMBINO, C. M.; CIACCIO, A. M.; MASUCCI, A.; VASSALLO, R.; TAMBURELLO, M.; SCAZZONE, C.; LO SASSO, B.; CIACCIO, M. Molecular Biomarkers of Neurodegenerative Disorders: A Practical Guide to Their Appropriate Use and Interpretation in Clinical Practice. **Int J Mol Sci**. v.13, n. 8, 4323. 2024. doi: 10.3390/ijms25084323. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38673907/>

ALANAZI, M. A. The Role of Physical Activity in Adjunctive Nursing Management of Neuro-Degenerative Diseases among Older Adults: A Systematic Review of Interventional Studies. **Life (Basel)**. v. 14, n. 597. 2024. doi:10.3390/life14050597. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38792618/>

ALMIKHLAFI, M. A. The role of exercise in Parkinson's Disease. **Neurosciences (Riyadh)**. V. 28, n.1, 4-12. 2023. doi:10.17712/nsj.2023.1.20220105 Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9987629/>

ARISTIETA, A.; PARKER, J. E.; GAO, Y. E.; RUBIN, J. E.; GITTIS, A. H. Dopamine depletion weakens direct pathway modulation of SNr neurons. **Neurobiol Dis**. v. 196, 2024. doi:10.1016/j.nbd.2024.106512 Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38670278/>

ARMENTERO, M. T.; PINNA A.; FERRÉ S.; LANCIEGO, J. L.; MÜLLER, C. E.; FRANCO, R. Past, present and future of A_{2A} adenosine receptor antagonists in the therapy of Parkinson's disease. **Pharmacology & Therapeutics**., v. 132, (n. 3), p. 280-299, 2011. Disponível em:10.1016/j.pharmthera.2011.07.004.

ARMSTRONG M. J.; OKUN, M. S. Diagnosis and treatment of Parkinson's disease: a review. **JAMA**, v. 6, pág. 548-560, 2020. Disponível em: doi:10.1001/jama.2019.22360.

BEITZ, J. M. Parkinson's Disease: A Review. **Frontiers in Bioscience**, v. S6, n. 1, p. 65–74, 2014. DOI: 10.2741/s415. PMID: 24389262. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24389262/>

BIDESI, N.S.R.; VANG ANDERSEN, I.; WINDHORST, A.D.; SHALGUNOV, V.; HERTH, M.M. The role of neuroimaging in Parkinson's disease. **J Neurochem.**, v. 159, n. 4, p. 660-689, 2021. DOI: 10.1111/jnc.15516. PMID: 34532856; PMCID: PMC9291628. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34532856/>

BLAUWENDRAAT, C.; NALLS, M.A.; SINGLETON, A.B. The genetic architecture of Parkinson's disease. **Lancet Neurol.**, v. 19, n. 2, p. 170-178, fev. 2020. DOI: 10.1016/S1474-4422(19)30287-X. PMID: 31521533; PMCID: PMC8972299. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31521533/>

BLESA, J.; FOFFANI, G.; DEHAY, B.; BEZARD, E.; OBESO, J. A. Motor and non-motor circuit disturbances in early Parkinson disease: which happens first? **Nat Rev Neurosci.** v. 23, n. 2, 115-128, 2022 doi:10.1038/s41583-021-00542-9 Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34907352/>

BOSTAN, A.C.; STRICK, P.L. The basal ganglia and the cerebellum: nodes in an integrated network. **Nat Rev Neurosci.** v. 19, p. 338-350, 2018. DOI: 10.1038/s41583-018-0002-7. Disponível em <https://www.nature.com/articles/s41583-018-0002-7>

BRANCHI, I.; D'ANDREA, I.; ARMIDA, M.; CARNEVALE, D.; AJMONE, C. M. A.; PÈZZOLA, A., POTENZA, R. L.; MORGESE, M. G.; CASSANO, T.; MINGHETTI, L.; POPOLI, P.; ALLEVA, E. Striatal 6-OHDA lesion in mice: Investigating early neurochemical changes underlying Parkinson's disease. **Behav Brain Res**, v. 208, n. 1, p. 137-43, 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19914295/>

CAPRONI, S.; COLOSIMO, C. Diagnosis and Differential Diagnosis of Parkinson Disease. **Clin Geriatr Med**, v. 36, (n. 1), p. 13-24, fev. 2020. DOI: 10.1016/j.cger.2019.09.014. PMID: 31733693. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31733693/>

CASSARD L, HONARI G, TOUSI B. The Skin and Lewy Body Disease. **J Alzheimers Dis.** v. 100, n. 3, 761-769. 2024. doi: 10.3233/JAD-240198. PMID: 38968048. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38968048/>

CHARVIN, D.; MEDORI, R.; HAUSER, R. A.; RASCOL, O. Therapeutic strategies for Parkinson disease: beyond dopaminergic drugs. **Nat Rev Drug Discov.** v. 17, n. 11, 804-822. 2018. doi:10.1038/nrd.2018.184 Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30262889/>

CHO, Y. T.; FUDGE, J. L. Heterogeneous dopamine populations project to specific subregions of the primate amygdala. **Neuroscience**, v. 165, (n. 4), p. 1501-1518, 2010. DOI:

10.1016/j.neuroscience.2009.11.004. PMID: 19914353; PMCID: PMC2814979. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19914353/>

COLEMAN, C.; MARTIN, I. Unraveling Parkinson's Disease Neurodegeneration: Does Aging Hold the Clues? **J Parkinsons Dis.** v.12, n. 8, 2321-2338. 2022. doi:10.3233/JPD-223363. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36278358/>

CORRÊA, E. M. S.; CHRISTOFOLETTI, G.; SCHIAVETO, A. S. Effects of Intracerebral Aminophylline Dosing on Catalepsy and Gait in an Animal Model of Parkinson's Disease. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 10, p. 5191–5191, 2024. doi: 10.3390/ijms25105191. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38791229/>

DAMIER, P.; HIRSCH, E. C.; GRAYBIEL, A. M. The substantia nigra of the human brain. I. Nigrosomes and the nigral matrix, a compartmental organization based on calbindin D (28K) Immunohistochemistry. **Brain**, v. 122, p. 1436, 1999. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10430829/>

DE MIRANDA, B. R.; GOLDMAN, S. M.; MILLER, G. W.; GREENAMYRE, J. T.; DORSEY, E. R. Preventing Parkinson's Disease: An Environmental Agenda. **Journal of Parkinson's disease**, v. 12, n. 1, 45–68. 2022. <https://doi.org/10.3233/JPD-212922> Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34719434/>

DETTMER K, ARONOV PA, HAMMOCK BD. 2007. Mass spectrometry-based metabolomics. **Mass Spectrom Rev.** v. 26, n. 1, 51–78. 2007. doi: 10.1002/mas.20108 Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC1904337/>

DIAS-CARVALHO, A.; SÁ, S. I.; CARVALHO, F.; FERNANDES, E.; COSTA, V. M. Inflammation as common link to progressive neurological diseases. **Archives of toxicology**, v. 98, n. 1, 95–119. 2024. <https://doi.org/10.1007/s00204-023-03628-8>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00204-023-03628-8#citeas>

DORSEY, E. R.; CONSTANTINESCU, R.; THOMPSON, J. P.; BIGLAN, K. M.; HOLLOWAY, R. G.; KIEBURTZ, K.; MARSHALL, F. J.; RAVINA, B. M.; SCHIFITTO, G.; SIDEROWF, A.; TANNER, C. M. Projected number of people with Parkinson disease in the most populous nations, 2005 through 2030. **Neurology**, v. 68, n. 5, 384-386, 2007. DOI: 10.1212/01.wnl.0000247740.47667.03. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17620562/>

DORSEY, E. R.; BLOEM, B. R. The Parkinson Pandemic - A Call to Action. **JAMA neurology**, v. 75, n. 1, 9–10. 2018. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2017.3299> Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29131880/>

ELKOUZI, A.; VEDAM-MAI, V.; EISINGER, R. S.; OKUN, M. S. Emerging therapies in Parkinson disease — repurposed drugs and new approaches. **Nature Reviews Neurology**, v. 15, p. 204-223, 2019. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41582-019-0155-7>

FANCIULLI, A.; LEYS, F.; FALUP-PECURARIU, C.; THIJS, R.; WENNING, G.K. Management of Orthostatic Hypotension in Parkinson's Disease. **J Parkinsons Dis.**, v. 10, supl. 1, p. S57-S64, 2020. DOI: 10.3233/JPD-202036. PMID: 32716319; PMCID: PMC7592655. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32716319/>

GAERTNER, Z.; AZCORRA, M.; DOMBECK, D. A.; AWATRAMANI, R. Molecular heterogeneity in the substantia nigra: A roadmap for understanding PD motor pathophysiology. **Neurobiol Dis.** v.175, 2022. doi:10.1016/j.nbd.2022.105925 Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36372290/>

GALLAGHER, M.; WYSOCKI, C. J.; LEYDEN, J. J.; SPIELMAN, A. I.; SUN, X.; PRETI, G. Analyses of volatile organic compounds from human skin. **Br J Dermatol.** 159, v. 159, n. 4 780–791. 2008. doi: 10.1111/j.1365-2133.2008.08748.x Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2574753>

GARNETT, E.S.; FIRNAU, G.; NAHMIAS, C. Dopamine visualized in the basal ganglia of living man. **Nature**, v. 305, p. 137-138, 1983. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/305137a0>

GERHARDT, N.; BIRKENMEIER, M.; SCHWOLOW, S.; ROHN, S.; WELLER, P. Volatile-Compound Fingerprinting by Headspace-Gas-Chromatography Ion-Mobility Spectrometry (HS-GC-IMS) as a Benchtop Alternative to 1H NMR Profiling for Assessment of the Authenticity of Honey. **Anal. Chem.**, v. 90, p. 1777-1785, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29298045/>

GHAMGOSHA, M; LATIFI, A. M.; MEFTAH, G. H.; MOHAMMADI, A. Cellular, Molecular and Non-Pharmacological Therapeutic Advances for the Treatment of Parkinson's Disease: Separating Hope from Hype. **Curr Gene Ther.** v. 18, n. 4, 206-224. 2018. doi:10.2174/1566523218666180910163401 Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30207219/>

GOETZ, C.G. The history of Parkinson's disease: early clinical descriptions and neurological therapies. **Cold Spring Harb Perspect Med**, v. 1, n. 1, a008862, 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22229124/>

HUSTAD, E.; SKOGHOLT, A.H.; HVEEM, K.; AASLY, J. O. The accuracy of the clinical diagnosis of Parkinson disease. The HUNT study. **J Neurol**, v. 265, p. 2120-2124, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29992351/>

IKEMURA, M.; SAITO, Y.; SENGOKU, R.; SAKIYAMA, Y.; HATSUTA, H.; KANEMARU, K.; SAWABE, M.; ARAI, T.; ITO, G.; IWATSUBO, T.; FUKAYAMA, M.; MURAYAMA, S. Lewy body pathology involves cutaneous nerves. **J Neuropathol Exp Neurol.** v. 67, 945–953. 2008. doi: 10.3233/JAD-240198. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38968048/>

KANDEL, E.R.; SCHWARTZ, J.H.; JESSEL, T.M. Principles of Neural Science. 5th ed. New York City: **McGraw-Hill Medical**, 2014.

KALIA, L.V.; LANG, A.E. Parkinson's disease. **Lancet**, v. 386, n. 9996, p. 896-912, 2015. DOI: 10.1016/S0140-6736(14)61393-3. PMID: 25904081.
<https://www.scrip.org/reference/referencespapers?referenceid=2205749>

KHAMIS, M. M, ADAMKO, D. J.; EL-ANEED, A. Mass spectrometric based approaches in urine metabolomics and biomarker discovery. **Mass Spectrom Rev.**v. 36, n. 2, 115-134, 2017. doi:10.1002/mas.21455 Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25881008/>

KHODADADI, M.; POURFARZAM, M. A review of strategies for untargeted urinary metabolomic analysis using gas chromatography-mass spectrometry. **Metabolomics**. v. 16, n. 6, 66, 2020. doi:10.1007/s11306-020-01687-x. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32419109/>

KUMAR, B. S.; CHUNG, B. C.; KWON, O.S.; JUNG, B. H. Discovery of common urinary biomarkers for hepatotoxicity induced by carbon tetrachloride, acetaminophen and methotrexate by mass spectrometry-based metabolomics. **J Appl Toxicol**. v. 32, n. 7, 505–520. 2012. doi: 10.1002/jat.1746. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22131085/>

KUKKLE, P. L., GOYAL, V., GEETHA, T. S., MRIDULA, K. R., KUMAR, H., BORGOHAIN, R., RAMPRASAD, V. L. Clinical Study of 668 Indian Subjects with Juvenile, Young, and Early Onset Parkinson's Disease. **Canadian Journal of Neurological Sciences / Journal Canadien des Sciences Neurologiques**. 2022;49(1):93-101. doi:10.1017/cjn.2021.40 Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33685545/>

KUZKINA A, SCHULMEYER L, MONORANU C-M, VOLKMANN J, SOMMER C, DOPPLER K. The aggregation state of α -synuclein deposits in dermal nerve fibers of patients with Parkinson's disease resembles that in the brain. **Parkinsonism Relat Disord** v. 64, 66–72. 2019. doi: 10.1016/j.parkreldis.2019.03.003. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30902527/>

LEI, Z.; HUHMANN, D. V.; SUMNER, L. W. Mass spectrometry strategies in metabolomics. **J Biol Chem** v. 22, n. 29, 25435–25442. 2011. doi: 10.1074/jbc. R111.238691. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21632543/>

LUNDY-EKMAN, L. Neurociência: fundamentos para a reabilitação. 3. ed. 2. tiragem. Hillsboro: Pacific University, 2008.

MACHADO, A.; HAERTEL, L. M. **Neuroanatomia Funcional**. 3. ed. p. 344. São Paulo, SP: Atheneu, 2014.

MANSOURI, A.; TASLIMI, S.; BADHIWALA, J.H.; WITIW, C.D.; NASSIRI, F.; ODEKERKEN, V.J.J.; DE BIE, R.M.A.; KALIA, S.K.; HODAIE, M.; MUNHOZ, R.P.; FASANO, A.; LOZANO, A.M. Deep brain stimulation for Parkinson's disease: meta-analysis of results of randomized trials at varying lengths of follow-up. **J Neurosurg**, v. 128, n. 4, p. 1199-1213, 2018. DOI: 10.3171/2016.11. JNS16715. PMID: 28665252. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28665252/>

MARTIN-LOPEZ, E.; VIDYADHARA, D.J.; LIBERIA, T.; MELLER, S.J.; HARMON, L.E.; HSU, R.M.; SPENCE, N.; BRENNAN, B.; HAN, K.; YÜCEL, B.; CHANDRA, S.S.; GREER, C.A. α -Synuclein Pathology and Reduced Neurogenesis in the Olfactory System Affect Olfaction in a Mouse Model of Parkinson's Disease. **J Neurosci**, v. 43, n. 6, p. 1051-1071, 2023. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1526-22.2022. PMID: 36596700; PMCID: PMC9908323. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36596700/>

MARTINS, D. Moléstia de Parkinson. **Revista Médica de São Paulo**, p. 248-252, 1900.

MCFADDEN, J. Meet the woman who can smell Parkinson's disease. **The Telegraph Journal**, London, 2017. Disponível em: <https://www.telegraph.co.uk/health-fitness/conditions/dementia/meet-woman-can-smell-parkinsons-disease/>.

MENESES, M.S.; TEIVE, H.A.G. Doença de Parkinson: aspectos clínicos e cirúrgicos. Rio de Janeiro: Ganabara-Koogan, 2003.

MEONI, S.; RUBENS GISBERT CURY, R.G.; MORO, E. Chapter 9 - New players in basal ganglia dysfunction in Parkinson's disease. Progress in Brain Research, **Elsevier**, v. 252, p. 307-327, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32247369/>

MILLER, D.B.; O'CALLAGHAN, J.P. Biomarkers of Parkinson's disease: present and future. **Metabolism**, v. 64, n. 3, Suppl 1, p. S40-S46, 2015. DOI: 10.1016/j.metabol.2014.10.030. PMID: 25510818; PMCID: PMC4721253. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25510818/>

MOULVI, A.; MINZ, P., RATH, S.; ASHMA, R. (2018). Characterization of Chemical Constituents of Human Sweat: A Study Based on Indian Population. **The American journal of forensic medicine and pathology**, v. 39, n. 2, 141–147. 2018 <https://doi.org/10.1097/PAF.0000000000000388>

MORGAN, J. Joy of super smeller: Sebum clues for PD diagnostics. **Lancet Neurol**. v. 15, 138–139. 2016. doi:10.1016/S1474-4422(15)00396-8. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28463120/>

MORRIS, H. R.; SPILLANTINI, M. G.; SUE, C. M.; WILLIAMS-GRAY, C. H. The pathogenesis of Parkinson's disease. **Lancet (London, England)**, v. 403, n. 10423, p. 293–304, 2024. doi: 10.1016/S0140-6736(23)01478-2. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38245249>

NASROLAHI, A.; SAFARI, F.; FARHOUDI, M.; KHOSRAVI, A.; FARAJDOKHT, F.; BASTAMINEJAD, S.; SHOTORBANI, S.; MAHMOUDI, J. Immune system and new avenues in Parkinson's disease research and treatment. **Reviews in the Neurosciences**, v. 30, n. 7, p. 709-727, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30796849/>

PENTEADO, José Carlos P.; MAGALHÃES, Dulce; MASINI, Jorge C. Didactic experiment on gas chromatography: an environmental and analytical approach. **Química Nova. São Paulo**, v. 31, n. 8, 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100->

PA Media. Joy Milne's remarkable sense of smell could lead to Parkinson's test. **The Guardian**. 7 Sep. 2022. Disponível em: <https://www.theguardian.com/society/2022/sep/07/woman-who-can-smell-parkinsons-helps-scientists-develop-test>

PARKINSON J. An essay on the shaking palsy. 1817. **The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences**, v. 14, n. 2, 223–222. 2002. <https://doi.org/10.1176/jnp.14.2.223>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11983801/>

PATHAK, N.; VIMAL, S. K.; TANDON, I.; AGRAWAL, L.; HONGYI, C.; BHATTACHARYYA, S. Neurodegenerative Disorders of Alzheimer, Parkinsonism, Amyotrophic Lateral Sclerosis and Multiple Sclerosis: An Early Diagnostic Approach for Precision Treatment. **Metab Brain Dis**. v. 37, n. 1, 67-104, 2023. doi:10.1007/s11011-021-00800-w disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34719771/>

PINTO, C.; SALAZAR, A. P.; MARCHESE, R. R.; STEIN, C. Pagnussat AS. The Effects of Hydrotherapy on Balance, Functional Mobility, Motor Status, and Quality of Life in Patients with Parkinson Disease: A Systematic Review and Meta-analysis. **PM R**. v. 11, n. 3, p. 278-291. 2019 doi: 10.1016/j.pmrj.2018.09.031. PMID: 30884205. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30884205/>

PLANKEN, A.; KURVITS, L.; REIMANN, E.; KADASTIK-EERME, L.; KINGO, K.; KÕKS, S.; TABA, P. Looking beyond the brain to improve the pathogenic understanding of Parkinson's disease: implications of whole transcriptome profiling of Patients' skin. **BMC Neurol.**, v. 17, (n. 1), p. 6, 2017. DOI: 10.1186/s12883-016-0784-z. PMID: 28068941; PMCID: PMC5223462. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28068941/>

PRAJJWAL, P.; FLORES SANGA, H. S.; ACHARYA, K.; TANGO, T.; JOHN, J.; RODRIGUEZ, R. S. C.; DHEYAA MARSOOL, M.; SULAIMANOV, M.; AHMED, A.; HUSSIN, O. A. Parkinson's disease updates: Addressing the pathophysiology, risk factors, genetics, diagnosis, along with the medical and surgical treatment. **Ann Med Surg (Lond)**, v. 85, p. 4887-4902, 2023. DOI: 10.1097/MS9.0000000000001142. PMID: 37811009; PMCID: PMC10553032. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37811009/>

POEWE, W.; MAHLKNECHT, P. The clinical progression of Parkinson's disease. **Parkinsonism & Related Disorders**, v. 15, n. 4, p. 28-32. Suppl 4:S28-S32, 2009. doi:10.1016/S1353-8020(09)70831-4. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20123553/>

POEWE, W.; SEPPI, K.; TANNER C. M.; HALLIDAY G. M.; BRUNDIN P.; VOLKMAN, J.; SCHRAG, A. E.; LANG A. E. Parkinson disease. **Nature Reviews Disease Primers**, Macmillan Publishers Limited, v. 3, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.13>.

POSTUMA, R.B.; BERG D; STERN M; POEWE W.; OLANOW C. W.; OERTEL W, OBESO J.; MAREK, K.; LITVAN, I.; LANG A. E.; HALLIDAY G.; GOETZ C. G.; GASSER T.; DUBOIS B.; CHAN P.; BLOEM B. R.; ADLER C. H.; DEUSCHL G. MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. **Mov Disord**, v. 30, n. 12, p. 1591-1601, 2015. DOI: 10.1002/mds.26424. PMID: 26474316. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26474316/>

QUINN, N.; CRITCHLEY, P.; MARSDEN, C. D. Young-onset parkinsonism. **Movement Disorders**. v. 2, n. 2, 73-91, 1987. <https://doi.org/10.1002/mds.87002020>. Disponível em: <https://movementdisorders.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/mds.870020201>

RAVN, A. H.; THYSSEN, J. P.; EGEBERG, A. Skin disorders in Parkinson's disease: potential biomarkers and risk factors. **Clin Cosmet Investig Dermatol**, v. 10, p. 87-92, mar. 2017. DOI: 10.2147/CCID.S130319. PMID: 28331352; PMCID: PMC5352163. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28331352/>

ROCCA W. A. The burden of Parkinson's disease: a worldwide perspective. **The Lancet. Neurology**, v. 17, n. 11, 928–929. 2018. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(18\)30355-7](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(18)30355-7). Disponível em: [https://www.thelancet.com/journals/lanneur/article/PIIS1474-4422\(18\)30355-7/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lanneur/article/PIIS1474-4422(18)30355-7/fulltext)

ROWLAND, L. P. Merrit – **Tratado de Neurologia**. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

SACCENTI, E.; TIMMERMAN, M. E. Approaches to Sample Size Determination for Multivariate Data: Applications to PCA and PLS-DA of Omics Data. **Journal of Proteome Research**. v. 15, n. 8, p. 2379-93. doi: 10.1021/acs.jproteome.5b01029. Epub 2016 Jul 7. PMID: 27322847. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27322847/>

SARKAR, D. SINCLAIR, E.; LIM, S. H.; WALTON-DOYLE, C.; JAFRI, K.; MILNE, J.; VISSERS, J. P. C.; RICHARDSON, K.; TRIVEDI, D. K.; SILVERDALE M.; BARRAN, P. Paper Spray Ionization Ion Mobility Mass Spectrometry of Sebum Classifies Biomarker Classes for the Diagnosis of Parkinson's Disease. **JACS Au**, v. 2, n. 9, p. 2013-2022, set. 2022. DOI: 10.1021/jacsau.2c00300. PMID: 36186554; PMCID: PMC9516698. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36186554/>

SCAFF, M.; BARBOSA, E. R.; ASSIS, L. J.; CANELAS, M. H. Parkinsonismo juvenil considerações a respeito de 10 casos. **Arquivos de Neuro-psiquiatria** São Paulo, v. 38, n. 4, 1980. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0004-282X1980000400008>

SCALBERT, A.; BRENNAN, L.; FIEHN, O.; HANKEMEIER, T.; KRISTAL, B. S.; VAN OMMEN, B.; PUJOS-GUILLOT, E.; VERHEIJ, E.; WISHART, D.; WOPEREIS, S. Mass-spectrometry-based metabolomics: limitations and recommendations for future progress with

particular focus on nutrition research. **Metabolomics**. v. 5, n. 4, 35–458. 2009. doi: 10.1007/s11306-009-0168-0. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20046865/>

SCHWEDHELM, E.; BÖGER, R. H. Application of gas chromatography-mass spectrometry for analysis of isoprostanes: their role in cardiovascular disease. **Clinical chemistry and laboratory medicine**, v. 41, n. 12, 1552–1561. 2003. <https://doi.org/10.1515/CCLM.2003.238>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14708879/>

SIMON, D. K.; TANNER, C. M.; BRUNDIN, P. Parkinson Disease Epidemiology, Pathology, Genetics, and Pathophysiology. **Clin Geriatr Med**, v. 36, (n. 1), p. 1-12, fev. 2020. DOI: 10.1016/j.cger.2019.08.002. PMID: 31733690; PMCID: PMC6905381. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31733690/>

STAYTE, S.; VISSEL, B. Advances in non-dopaminergic treatments for Parkinson's disease. **Front Neurosci**, v. 8, p. 113-122, 2014. DOI: 10.3389/fnins.2014.00113. PMID: 24904259; PMCID: PMC4033125. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4033125/>

STODDARD-BENNETT, T.; REIJO PERA, R. Treatment of Parkinson's Disease through Personalized Medicine and Induced Pluripotent Stem Cells. **Cells**, v. 8, n. 1, p. 26, 2019. DOI: 10.3390/cells8010026. PMID: 30621042; PMCID: PMC6357081. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30621042/>

STRIMBU K.; TAVEL J. A. What are biomarkers? **Curr Opin HIV AIDS**. v. 5, n. 6, p. 463-466. 201. doi:10.1097/COH.0b013e32833ed177. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3078627/#S5>

SVEINBJORNSDOTTIR S. The clinical symptoms of Parkinson's disease. **J Neurochem**. v.139 Suppl 1, 318-324. 2016. doi:10.1111/jnc.13691 Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27401947/>

TAGUCHI, K.; WATANABE, Y.; TSUJIMURA, A.; TANAKA, M. Brain region-dependent differential expression of alpha-synuclein. **Journal of Comparative Neurology**, v. 524, n. 6, p. 1236-1258, 2016. DOI: 10.1002/cne.23901. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26358191/>

TAURA, J.; NOLEN, E. G., CABRÉ, G.; HERNANDO, J.; SQUARCIALUPI, L.; LÓPEZ-CANO, M.; JACOBSON, K. A., FERNÁNDEZ-DUEÑAS, V., CIRUELA, F. Remote control of movement disorders using a photoactive adenosine A_{2A} receptor antagonist. **Journal of Controlled Release**. v. 283, p. 135-142, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29859955/>

TOFARIS, G. K. Initiation and progression of α -synuclein pathology in Parkinson's disease. **Cell Mol Life Sci**, v. 79, n. 4, p. 210, 2022. DOI: 10.1007/s00018-022-04240-2. PMID: 35347432; PMCID: PMC8960654. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35347432/>

TOLOSA, E.; GARRIDO, A.; SCHOLZ, S.W.; POEWE, W. Challenges in the diagnosis of Parkinson's disease. **Lancet Neurol**, v. 20, n. 5, p. 385-397, 2021. DOI: 10.1016/S1474-4422(21)00030-2. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33894193/>

TRIVEDI, D. K.; SINCLAIR, E.; XU, Y.; SARKAR, D.; WALTON-DOYLE, C.; LISCIO, C.; BANKS, P.; MILNE, J.; SILVERDALE, M.; KUNATH, T.; GOODACRE, R.; BARRAN, P. Discovery of Volatile Biomarkers of Parkinson's Disease from Sebum. **ACS Cent Sci**, v. 5, n. 4, p. 599-606, 2019. DOI: 10.1021/acscentsci.8b00879. PMID: 31041379; PMCID: PMC6487537. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31041379/>

TYSNES, O. B.; STORSTEIN, A. Epidemiology of Parkinson's disease. **J Neural Transm**. v. 124, n. 8, p. 901-905, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28150045/>
TSUCHIDA, S.; NAKAYAMA, T. (2022). Metabolomics Research in Periodontal Disease by Mass Spectrometry. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 27, n. 9, 2864. 2022. <https://doi.org/10.3390/molecules27092864>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9104832>

UBEDA-BAÑON, I.; SAIZ-SANCHEZ, D.; DE LA ROSA-PRIETO, C.; MARTINEZ-MARCOS, A. α -synuclein in the olfactory system in Parkinson's disease: role of neurais connections on spreading pathology. **Brain Struct. Funct.**, v. 219, p. 1513–1526, 2014. DOI: 10.1007/s00429-013-0651-2. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24135772/>

VAN DOMBURG, P. H.; TEM DONKELAAR H. J. The human substantia nigra and ventral tegmental área. A neuroanatomical study with on aging and aging diseases. **Adv Anat Embryol Cell Biol**, v. 121, p. 132, 1991. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2053466/>

VASCONCELLOS, P. R. O.; RIZZOTTO, M. L. F.; MACHINESKI, G. G.; COSTA, R. M. Condições da exposição a agrotóxicos de portadores da doença de Parkinson acompanhados no ambulatório de neurologia de um hospital universitário e a percepção da relação da exposição com o adoecimento. **Saúde Em Debate**, v. 43, n. 123, p. 1084-1094, 2019. DOI: 10.1590/0103-1104201912308. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/sdeb/a/ws5fj3NbSDdNVCCXrz8kCGn/?lang=pt>

VOLLSET, S. E. *et al.* Burden of disease scenarios for 204 countries and territories, 2022–2050: a forecasting analysis for the Global Burden of Disease Study 2021. **The Lancet**. v. 403, n. 10440, 2204 – 2256. 2024. doi: 10.1016/S0140-6736(24)00685-8. Disponível em: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(24\)00685-8/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(24)00685-8/fulltext)

WALTERS, H.; SHAH, B.B. Focused ultrasound and other lesioning therapies in movement disorders. **Curr Neurol Neurosci Rep**, v. 19, n. 66, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31377876/>

WANG, T.; SHI, C.; LUO, H.; ZHENG, H.; FAN, L.; TANG, M.; SU, Y.; YANG, J.; MAO, C.; XU, Y. Neuroinflammation in Parkinson's Disease: Triggers, Mechanisms, and Immunotherapies. **Neuroscientist**, v. 28, n. 4, p. 364-381, 2022. DOI:

10.1177/1073858421991066. PMID: 33576313. Disponível em:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33576313/>

WERNER, F.-M.; COVEÑAS, R. Classical Neurotransmitters and Neuropeptides involved in Parkinson's disease: Focus on anti-Parkinsonian Drugs. **Curr Drug Ther**, v. 10, n. 2, p. 66-81, 2015. Disponível em:
<https://www.ingentaconnect.com/content/ben/cdth/2015/00000010/00000002/art00003>

WIKOFF, W.R.; ANFORA, A.T.; LIU, J.; SCHULTZ, P.G.; LESLEY, S.A.; PETERS, E.C.; SIUZDAK, G. Metabolomics analysis reveals large effects of gut microflora on mammalian blood metabolites. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 106, n. 10, p. 3698-3703, 2009. DOI: 10.1073/pnas.0812874106. Disponível em:
<https://www.pnas.org/doi/10.1073/pnas.0812874106#core-collateral-references>

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Parkinson's Disease**. 2023. Disponível em:
<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/parkinson-disease>. Acessado em: out 2024.

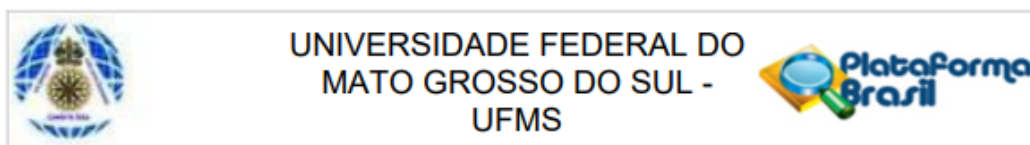
YANG, W.; HAMILTON, J. L.; KOPIL, C.; BECK, J. C; TANNER, C. M.; ALBIN, R. L.; DORSEY, E. DAHODWALA, N.; CINTINA, I.; HOGAN, P.; THOMPSON, T. Current and projected future economic burden of Parkinson's disease in the U.S. **NPJ Parkinsons Dis**. v. 9, n. 6, 2020. doi: 10.1038/s41531-020-0117-1. Disponível em:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32665974/>

ZHAI, S.; CUI, Q.; SIMMONS, D. V, SURMEIER, D. J. Distributed dopaminergic signaling in the basal ganglia and its relationship to motor disability in Parkinson's disease. **Curr Opin Neurobiol**. v. 83, 2023. doi:10.1016/j.conb.2023.102798 Disponível em:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37866012/>

ZHANG, A.; SUN, H.; WU, X.; WANG, X. Urine metabolomics. **Clin Chim Acta**. v, 414, 65-69, 2012. doi:10.1016/j.cca.2012.08.016 Disponível em:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22971357/>

ZURKOVSKY, L.; BYCHKOV, E.; TSAKEM, E. L.; SIEDLECKI, C.; BLAKELY, R. D.; GUREVICH, E. V. Cognitive effects of dopamine depletion in the context of diminished acetylcholine signaling capacity in mice. **Dis Model Mech**., v. 6, n. 1, p. 171-183, 2013. DOI: 10.1242/dmm.010363. PMID: 22864020; PMCID: PMC3529349. Disponível em:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22864020/>

ANEXOS E APÊNDICE

ANEXO 1 – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Detecção de moléculas marcadoras da doença de Parkinson por meio da cromatografia gasosa.

Pesquisador: Albert Schiaveto de Souza

Área Temática:

Versão: 5

CAAE: 25213819.9.0000.0021

Instituição Proponente: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS

Patrocinador Principal: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.218.220

Apresentação do Projeto:

Detecção de moléculas marcadoras da doença de Parkinson por meio da cromatografia gasosa

A doença de Parkinson é caracterizada pela perda de neurônios da substância negra, parte compacta, um dos núcleos da base do encéfalo, que, numa forma geral, se manifesta em tremor, rigidez e bradicinesia, bem como depósito de uma proteína chamada -sinucleína em áreas específicas do tronco cerebral, medula espinhal e regiões corticais, mas especialmente em neurônios da substância negra compacta. Atualmente não se tem nenhum exame definitivo que pode ser utilizado para confirmar a existência da doença em um paciente e os sintomas normalmente só começam a se manifestar quando mais da metade das células nervosas da substância negra já morreram. Normalmente o diagnóstico é feito por meio dos achados clínicos da doença, com base no histórico médico e por meio dos sinais e sintomas, exame físico e neurológico. Além disso, normalmente o profissional de saúde solicita exames, como exames de sangue e ressonância magnética, para fazer um diagnóstico diferencial de outras condições que possam estar causando os sintomas. Assim, neste estudo nos propusemos a tentar detectar, no suor, moléculas marcadoras da doença de Parkinson, por meio de cromatografia gasosa, procurando assim desenvolver uma metodologia de diagnóstico químico para esta doença.

Endereço: Cidade Universitária - Campo Grande

Bairro: Caixa Postal 549

CEP: 79.070-110

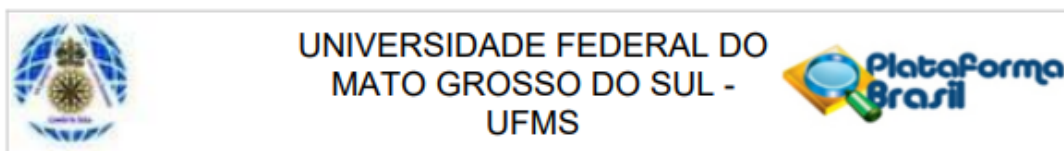
UF: MS

Município: CAMPO GRANDE

Telefone: (67)3345-7187

Fax: (67)3345-7187

E-mail: cepconep.propp@ufms.br



Continuação do Parecer: 4.218.220

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Deteção de moléculas marcadoras da doença de Parkinson por meio de cromatografia gasosa.

Objetivo Secundário:

Desenvolvimento de uma metodologia de coleta de suor em seres humanos, em quantidade suficiente para análise em cromatografia gasosa.

Estabelecimento de protocolo de análise de moléculas do suor humano por meio de cromatografia gasosa.

Isolamento das principais moléculas

exaladas no suor de pessoas portadores ou não da doença de Parkinson. Diferenciação de moléculas exaladas no suor de portadores de doença de

Parkinson, que diferem daquelas exaladas de pessoas não portadoras desta doença.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Segundo o pesquisador:

Riscos:

Não haverá riscos aos pacientes com doença de Parkinson, nem para aquelas pessoas que farão parte do grupo controle.

Benefícios:

Se confirmada a hipótese inicial, por meio desta metodologia será possível diferenciar doentes de Parkinson e pessoas não portadoras desta

doença, podendo inclusive ajudar no diagnóstico precoce da doença, uma vez que possivelmente estas moléculas estejam sendo exaladas mesmo

antes dos primeiros sintomas da doença se manifestarem.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa relevante ao tema proposto

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos foram anexados e alterados seguindo as sugestões anteriormente realizadas.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O pesquisador adequou as sugestões listadas anteriormente.

Endereço: Cidade Universitária - Campo Grande
Bairro: Caixa Postal 549 **CEP:** 79.070-110
UF: MS **Município:** CAMPO GRANDE
Telefone: (67)3345-7187 **Fax:** (67)3345-7187 **E-mail:** cepconep.propp@ufms.br



Continuação do Parecer: 4.218.220

Investigador	Projeto.pdf	01/11/2019 12:58:39	CAVALHEIRO	Aceito
--------------	-------------	------------------------	------------	--------

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CAMPO GRANDE, 17 de Agosto de 2020

Assinado por:
Fernando César de Carvalho Moraes
(Coordenador(a))

Endereço: Cidade Universitária - Campo Grande
Bairro: Caixa Postal 549 **CEP:** 79.070-110
UF: MS **Município:** CAMPO GRANDE
Telefone: (67)3345-7187 **Fax:** (67)3345-7187 **E-mail:** cepconep.propp@ufms.br

200 2007/01

ANEXO 2 – PUBLICAÇÃO DE ARTIGO EM REVISTA



National Library of Medicine
National Center for Biotechnology Information

Log in



Advanced

Search

User Guide

Save

Email

Send to

Display options 

[Int J Mol Sci.](#) 2024 May 10;25(10):5191. doi: 10.3390/ijms25105191.

Effects of Intracerebral Aminophylline Dosing on Catalepsy and Gait in an Animal Model of Parkinson's Disease

Érica de Moraes Santos Corrêa ¹, Gustavo Christofoletti ¹, Albert Schiaveto de Souza ¹

Affiliations [+ expand](#)

PMID: 38791229 PMCID: PMC11120906 DOI: 10.3390/ijms25105191

FULL TEXT LINKS

FULL TEXT
OPEN ACCESS

MDPI

FREE
Full text

PMC

ACTIONS

“ Cite

 Collections

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – TCLE

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – TCLE

Prezado (a) Senhor (a)

Esta pesquisa é sobre **Deteção de Moléculas Marcadoras da Doença de Parkinson por meio de Cromatografia Gasosa** e está sendo desenvolvida por Erica de Moraes Santos Correa, do Programa de Pós Graduação em Saúde e Desenvolvimento da Região Centro-Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, sob a orientação do Professor Albert Schiaveto de Souza.

Os objetivos do estudo são:

- Coletar o suor por meio de um filme de almofada de absorção (PharmChek) que será colocada na superfície da pele (antebraço), que atua como um recipiente da amostra.
- Depois de coletar as respectivas amostras de suor dos participantes, serão rotuladas e testadas usando a cromatografia gasosa.

A finalidade deste trabalho é contribuir para detecção de um possível diagnóstico precoce da Doença de Parkinson, uma vez que a doença só é identificada quando a mesma já se apresenta em estado avançado, sendo assim um benefício para o retardo dos sintomas da doença. Solicitamos a sua colaboração para a coleta do suor durante 3 meses sendo a coleta realizada uma vez ao mês, como também sua autorização para apresentar os resultados deste estudo em eventos da área de saúde e publicar em revista científica nacional e/ou internacional. Por ocasião da publicação dos resultados, seu nome será mantido em sigilo absoluto e não haverá ressarcimento pela participação do estudo.

Erica de Moraes Santos
Correa
Tel: (67)98437-9191 Email:
Erica.correa@ufms.br
CEP: 79070-900, Campo Grande
- MS

Albert Schiaveto de Souza
Tel: (67)99215-8096
Email:
albertss@hotmail.com
CEP: 79070-900, Campo
Grande - MS

Informamos que na fase de coleta de suor, uma estimulação elétrica ligeira será usada para induzir a sudorese. Isso pode causar uma leve sensação de formigamento ou calor, mas os pesquisadores vão monitorar os parâmetros do dispositivo elétrico, certificando-se de que a dosagem adequada seja aplicada para não incomodar ou causar uma experiência desconfortável do participante.

Esclarecemos que sua participação no estudo é voluntária e, portanto, o (a) senhor (a) não é obrigado (a) a fornecer as informações e/ou colaborar com as atividades solicitadas pelo Pesquisador (a). Não haverá ressarcimento ou mesmo algum custo envolvido ao participante da pesquisa, caso haja eventuais danos ao participante decorrentes da pesquisa, o mesmo poderá ser indenizado. Caso decida não participar do estudo, ou resolver a qualquer momento desistir do mesmo, não sofrerá nenhum dano, nem haverá modificação na assistência que vem recebendo na Instituição (se for o caso). Os pesquisadores estarão a sua disposição para qualquer esclarecimento que considere necessário em qualquer etapa da pesquisa, assim como o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos no campus da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, localizado na avenida Costa e Silva, s/n –Prédio das Pró-Reitorias, 1º andar – sala do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos- CEP, Campo Grande-MS, pelo número de telefone do CEP 3345-7187, ou pelo e-mail: cepconeppropp@ufms.br.

Erica de Moraes Santos
Correa

Tel: (67)98437-9191 Email:
Erica.correa@ufms.br

CEP: 79070-900, Campo Grande
- MS

Albert Schiaveto de Souza

Tel: (67)99215-8096
Email:
albertss@hotmail.com

CEP: 79070-900, Campo
Grande - MS

APÊNDICE B – TABELAS COM DADOS SUPLEMENTARES

Tabela 1: Substâncias voláteis identificadas pela CG-MS no sebo de participantes do grupo controle e DP.

Substâncias identificadas Sebo	Grupo Controle n-7 (%)	Grupo DP n-7 (%)
1-Tetradecanol	0	14
1,2-Benzenedicarboxylic acid	0	29
1,4-Dibutyl benzene-1,4-dicarboxylate	0	14
2-Decenal	14	43
2-Dodecenal	0	29
2-Heptenal (E)	14	0
2-Hexadecenal	14	0
2-Methylpentadecanoic	14	0
2-Nonenal	14	14
2-Octenal	0	14
2-Pentanone	0	14
2-Tridecenal	14	14
2-Undecenal	29	14
2,4-Decadienal	14	29
2,4-Di-tert-butylphenol	14	43
2,4-Dodecadienal, (E, E)	14	0
2,4-Heptadienal	14	0
2,4-Nonadienal	14	0
2,6-Di-tert-butylphenol	0	14
2,5-Di-tert-butylphenol	14	14
3,4-Dihydroxymandelic acid	0	71
3,5-Di-tert-butylphenol	14	0
3,5-di-tert-Butyl-4-hydroxybenzaldehyde	29	14
6-Pentadecenoic acid	0	43
8,11-Octadecadienoic acid	0	14
9-Eicosenoic acid	0	14
10,13-Octadecadienoic acid	0	14
22-Tricosenoic acid	0	29
Acetic acid	29	14
Acetoína	14	0
Ammonium acetate	29	14
Ascorbic acid 2,6-dihexadecanoate	57	71
Benzoic acid	0	14
Cis-10-Heptadecenoic acid	0	86
Cis-10-Nonadecenoic acid	0	57
Cis-11-Eicosenoic acid	0	29
Cis-11,14-Eicosadienoic acid	14	29
Cis-13-Eicosenoic acid	0	71

Cis-9-Octadecenoic acid	0	43
Cis-Vaccenic acid	0	100
Cyclopentadecanone, 2-hydroxy	0	57
Decanal	14	0
Decanoic acid	29	86
Dodecanal	14	0
Dodecanoic acid	29	0
Docosanoic acid	0	43
Docosane	0	14
Dotriacontane, 1-iodo	0	14
Diphosphoric acid	0	14
Eicosane	0	29
Eicosanoic acid	14	100
Eicosenoic acid	0	14
Erucic acid	0	86
Glycidyl palmitate	0	14
Hexacosane	0	14
Hexadecanoic acid	100	100
Hexanoic acid	100	29
Hexatriacontane	0	14
Heptacosane	0	14
Heptadecanoic acid	71	43
Heptadecane 8-methyl	0	14
Heptanoic acid	14	57
Heneicosane	0	14
Hentriacontane	0	14
Linoelaidic acid	0	29
Linoleic acid	14	14
Methyl stearate	14	0
Nonacosane	0	14
Nonadecanoic acid	29	29
Nonanal	14	0
Nonanedioic acid	14	14
Nonanoic acid	43	71
Nonacosane	0	14
Octacosane 2-methyl	0	14
Octanoic acid	14	86
Octadecanoic acid	71	100
Octadecadienoic acid	43	57
Octadecenoic acid	86	43
Oleic Acid	71	100

Oxacycloheptadec-8-En-2-one	0	29
Oxime-, methoxy-phenyl	0	71
Palmitoleic acid	0	57
Pentacosane	0	14
Pentadecanoic acid	86	86
Pentanoic acid	43	14
Pentatriacontane	0	14
Phthalic acid	0	29
Silanediol	43	71
Sistigmasta-3,5-Dieno	14	0
Suberic acid monomethyl	14	0
Tetracosane	0	14
Tetradecanoic acid	43	86
Tetratriacontane	0	14
Tetratetracontane	0	14
Triacetin	0	14
Tridecanoic acid	57	86
Tricosane	0	14
Tritriacontane	0	14
Triacetin	0	14
Undecanal	14	0
Undecanoic acid	43	0
z-11-Pentadecenol	0	29
13-Docosenamida	0	14

Tabela 2: Substâncias voláteis identificadas pela CG-MS no suor de participantes do grupo controle e DP.

Substâncias identificadas Suor	Grupo Controle n-7 (%)	Grupo DP n-7 (%)
13-Docosenamide	0	14
Silanediol	86	86
2-Decenal	14	57
Oxime-, methoxy-phenyl	0	100
2-Undecenal	0	57
2,4-Decadienal	0	43
Hexanoic acid	86	57
3,5-di-tert-Butyl-4-hydroxybenzaldehyde	0	29
Eicosanoic acid	0	86
Oleic Acid	57	100
Octadecadienoic acid	57	29
Cis-Vaccenic acid	0	100
2-Dodecenal	0	57
Octanoic acid	57	71
1,2-Benzenedicarboxylic acid	14	29
Hexadecanoic acid	100	86
Octadecanoic acid	71	86
3,4-Dihydroxymandelic acid	0	86
Heptanoic acid	0	86
Decanoic acid	57	29
Octadecenoic acid	100	29
Nonanoic acid	71	43
2-Pentanone	0	14
6-Methylheptanoic acid	0	14
Pentadecanoic acid	86	29
cis-11-Eicosenoic acid	0	57
Eicosane	0	14
Tetracosane	0	14
Pentacosane	0	14
Hexadecane	0	14
Acetic acid	29	14
Undecanoic acid	29	14
Dodecanoic acid	14	0
Tetradecanoic acid	57	29
Nonanedioic acid	14	14

Pentanoic acid	43	57
Phthalic acid	14	29
2-Tridecenal	0	57
2-Nonenal	0	57
2-Tetradecenal	0	29
2,4-Dodecadienal	0	14
2,4-Nonadienal	0	43
9-Octadecenamide	0	14
Ascorbic acid	14	86
6-Octadecenoic acid	0	14
2-Pentanone	0	14
alpha-Hydroxyisobutyric acid	0	14
1,3-Dioxolane-2-methanol	0	14
Diacetamide	0	14
2-Acetoxyisobutryl chloride	0	14
monooxime	0	14
2-Octenal	0	14
9-Oxabicyclon nonane	0	14
Ammonium acetate	29	14
Trimethylsilyl fluoride	0	14
(E)-Tetradec-2-enal	0	29
1-Dodecene	0	14
Butanoic acid	14	14
Propanedioic acid	0	14
(E)-Hexadec-2-enal	0	14
2,4-Undecadienal	0	14
Heptadecanoic acid	43	29
Nonadecanoic acid	29	14
cis-13-Octadecenoic acid	14	29
cis-10-Nonadecenoic acid	0	43
cis-10-Heptadecenoic acid	14	43
8,11-Octadecadienoic acid	14	14
6-Pentadecenoic acid	0	29
cis-13-Eicosenoic acid	0	43
Palmitoleic acid	14	43
Erucic acid	14	43
22-Tricosenoic acid	0	29
11,13-Eicosadienoic acid	14	14
11-Eicosenic acid	0	14
Linolaidic acid	0	14
Tridecanoic acid	71	14

2-Methylpentadecanoic acid	14	0
cis-11,14-Eicosadienoic acid	0	14
Nonacosane	0	14
Hexacosane	0	14
Tetratetracontane	0	14
Heneicosane	0	14
Hexatriacontane	0	14
Heptadecane	0	14
Heptacosane	0	14
Tetratriacontane	0	14
Docosane	0	14
Tricosane	0	14
Tritriacontane	0	14
Hentriacontane	0	14
Octacosane	0	14
Pentatriacontane	0	14
Triacontane	0	14
Dotriacontane	0	14
Cyclopentadecanone	0	29
cis-9-Octadecenoic	0	14
n-Octadecanol	14	0
n-Nonadecanol-1	14	0
n-Heptadecanol-1	14	0
Pentadecanol	14	0
Octane, 1,1'-oxybis	0	14
2-Ethylhexyl salicylate	0	14
Octadecanoic acid, methyl ester	14	0
Methyl isostearate	14	0
Methyl stearate	14	0
Methyl nonadecanoate	14	0
9-Octadecenoic acid, methyl ester	14	0
Oleic acid, methyl ester	14	0
Homosalate	14	0

Tabela 3: Dados sobre o tempo de retenção e proporção relativa de potenciais biomarcadores voláteis identificados no sebo de participantes com a doença de Parkinson (n-7), selecionados com base em análises quimiométricas.

Grupo	Cis-vaccenic acid		Eicosanoic acid		cis-10-Heptadecenoic		Erucic acid		Octanoic acid		Oxime-, methoxy-		Hexanoic acid		3,4-Dihydroxy mandelic acid		cis-13-Eicosenoic	
	Retent. time	Relat. prop	Retent. time	Relat. prop	Retent. time	Relat. prop	Retent. time	Relat. prop	Retent. time	Relat. prop	Retent. time	Relat. prop	Retent. time	Relat. prop	Retent. time	Relat. prop	Retent. time	Relat. prop
P1	32.46	52.55	29.13	100	32.46	52.55	32.46	52.55	0	0	17.13	15.79	0	0	8.95	12.76	32.46	52.55
P2	32.49	73.13	29.14	98.34	32.49	73.13	32.49	73.13	20.48	12.04	0	0	19.31	8.65	8.95	49.01	32.49	73.13
P3	32.50	75.97	29.15	100	32.50	75.97	32.50	75.97	20.50	25.87	0	0	16.92	15.78	0	0	32.50	75.97
P4	32.50	100	29.16	100	0	0	0	0	20.50	20.44	17.14	18.81	0	0	8.97	38.94	0	0
P5	32.49	48.30	29.15	100	32.49	100	32.49	100	20.48	14.02	17.14	14.02	0	0	8.99	18.93	32.49	48.30
P6	32.47	61.42	29.14	100	32.47	61.42	32.47	61.42	20.48	16.33	17.13	19.49	0	0	0	0	32.47	61.42
P7	32.47	55.03	29.13	100	32.47	55.03	32.47	55.03	20.47	11.84	17.13	34.18	0	0	8.94	28.72	0	0

Tabela 4: Dados sobre o tempo de retenção e proporção relativa de potenciais biomarcadores voláteis identificados no sebo de participantes do grupo controle (n-7), selecionados com base em análises quimiométricas

Grupo	Cis-vaccenic acid		Eicosanoic acid		cis-10-Heptadecenoic		Erucic acid		Octanoic acid		Oxime-, methoxy-		Hexanoic acid		3,4-Dihydroxy mandelic acid		cis-13-Eicosenoic	
	Retent. time	Relat. prop	Retent. time	Relat. prop	Retent. time	Relat. prop	Retent. time	Relat. prop	Retent. time	Relat. prop	Retent. time	Relat. prop	Retent. time	Relat. prop	Retent. time	Relat. prop	Retent. time	Relat. prop
Controle																		
C1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18.12	17.82	0	0	0	0
C2	0	0	29.14	52.81	0	0	0	0	0	0	0	0	18.13	12.06	0	0	0	0
C3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18.11	31.54	0	0	0	0
C4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18.13	12.30	0	0	0	0
C5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18.12	22.44	0	0	0	0
C6	0	0	0	0	0	0	0	0	20.77	17.21	0	0	18.13	31.12	0	0	0	0
C7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18.12	24.14	0	0	0	0

Tabela 5: Dados sobre o tempo de retenção e proporção relativa de potenciais biomarcadores voláteis identificados no suor de participantes com a doença de Parkinson (n-7), selecionados com base em análises quimiométricas.

Grupo DP	Oxime-, methoxy- phenyl		Cis-vaccenic acid		Eicosanoic acid		3,4-Dihydroxy mandelic acid		Heptanoic acid		Octadecenoic acid		Ascorbic acid	
	Retent.	Relat.	Retent.	Relat.	Retent.	Relat.	Retent.	Relat.	Retent.	Relat.	Retent.	Relat.	Retent.	Relat.
	time	prop	time	prop	time	prop	time	prop	time	prop	time	prop	time	prop
P1	17.13	16.64	32.46	66.83	29.13	100	8.94	63.05	18.12	17.63	0	0	29.13	100
P2	17.14	12.43	32.49	70.84	29.15	84.37	8.95	58.40	18.14	12.40	0	0	29.15	84.37
P3	17.14	15.59	32.50	72.87	29.15	100	8.97	30.43	18.13	34.75	32.50	72.87	0	0
P4	17.14	19.78	32.50	100	29.14	100	8.96	40.15	0	0	0	0	29.14	100
P5	17.14	12.76	32.49	58.86	29.14	100	8.98	77.53	18.13	12.07	0	0	29.14	100
P6	17.13	10.17	32.49	64.10	29.13	100	0	0	18.16	21.33	0	0	29.13	100
P7	17.13	21.39	32.47	54.17	0	0	8.94	21.36	18.17	11.84	32.47	54.17	29.14	100

Tabela 6: Dados sobre o tempo de retenção e proporção relativa de potenciais biomarcadores voláteis identificados no suor de participantes do grupo controle (n-7), selecionados com base em análises quimiométricas.

Grupo	Oxime-, methoxy- phenyl		Cis-vaccenic acid		Eicosanoic acid		3,4-Dihydroxy mandelic acid		Heptanoic acid		Octadecenoic acid		Ascorbic acid	
	Retent. time	Relat. prop	Retent. time	Relat. prop	Retent. time	Relat. prop	Retent. time	Relat. prop	Retent. time	Relat. prop	Retent. time	Relat. prop	Retent. time	Relat. prop
Controle														
C1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	32.46	66.83	0	0
C2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	32.49	70.84	0	0
C3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	32.48	74.28	0	0
C4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	32.47	88.47	0	0
C5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	32.49	58.86	0	0
C6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	32.49	64.10	0	0
C7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	32.46	72.96	29.12	100