



Universidade do Algarve

Faculdade de Ciências e Tecnologias

# **Influência da Farmacogenómica na Doença de Parkinson**

Juliana Raquel Oliveira Campos

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Faro, 2013



Universidade do Algarve

Faculdade de Ciências e Tecnologias

# **Influência da Farmacogenómica na Doença de Parkinson**

Juliana Raquel Oliveira Campos

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Dissertação orientada por: Sr.<sup>a</sup> Prof.<sup>a</sup> Doutora Vera Ribeiro Marques

Faro, 2013

## “Influência da Farmacogenómica na Doença de Parkinson”

### DECLARAÇÃO DE AUTORIA DE TRABALHO

Declaro ser a autora deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída.

---

(Juliana Raquel Oliveira Campos)

### COPYRIGHT JULIANA RAQUEL OLIVEIRA CAMPOS

A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Ana Maria e Severino, irmãos, Paulo e Ana Lucinda, namorado, Duarte e a toda minha família que, com muito carinho e apoio, não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa de minha vida.

À Prof.<sup>a</sup> Doutora Vera Ribeiro Marques pela paciência na orientação e incentivo que tornaram possível a conclusão desta monografia.

A todos os professores do curso, que foram tão importantes na minha vida acadêmica e no desenvolvimento desta monografia.

Aos amigos e colegas, pelo incentivo e pelo apoio constantes.



## ÍNDICE

Declaração de autoria de trabalho .....	i
Copyright Juliana Raquel Oliveira Campos .....	i
Índice .....	iii
Índice de figuras .....	iv
Índice de tabelas .....	v
Lista de siglas .....	vii
Resumo .....	x
Abstract.....	xi
1. Introdução.....	1
2. História da doença de Parkinson .....	2
2.1. Epidemiologia.....	3
2.2. Definição de Doença de Parkinson.....	4
2.3. Estruturas anatómicas e aspetos funcionais envolvidos na Doença de Parkinson	5
2.4. Etiologia e patogénese da Doença de Parkinson .....	7
2.4.1. Compostos ambientais .....	9
2.4.2. Modelos utilizando Herbicidas/Pesticidas .....	13
2.4.3. Neuroinflamação mediada pelas células da Microglia .....	14
2.4.5. Metabolismo da Dopamina .....	16
2.4.6. Disfunção da Mitocôndria.....	20
2.4.7. Disfunção do sistema Ubiquitina-Proteassoma .....	21
2.4.8. Corpos Lewy.....	22
2.4.9. Genética .....	24
2.4.9.1. Mutações autossómicas dominantes relacionadas com a DP.....	26
2.4.9.2. Mutações autossómicas recessivas relacionadas com a DP .....	28
2.5. Manifestações clínicas da Doença de Parkinson .....	30
2.6. Avaliação clínica e diagnóstico .....	32
2.7. Fatores de Prognóstico .....	34
2.8. Tratamento da Doença de Parkinson .....	35
2.8.1. Tratamento Farmacológico .....	36
2.8.2. Tratamento neuroprotetor para doença de Parkinson .....	43
2.8.3. Tratamento dos sintomas não motores.....	43



2.8.4.	Tratamento não farmacológico .....	44
2.8.5.	Terapêutica cirúrgica .....	44
2.8.6.	Terapia gênica .....	45
3.	Farmacogenômica .....	46
3.1.	Polimorfismos genéticos com potencial efeito no risco da doença de Parkinson	46
3.1.1.	Polimorfismos na MAO-A e MAO-B .....	46
3.1.2.	Polimorfismos na COMT .....	53
3.1.3.	Polimorfismos nos recetores dopaminérgicos .....	57
3.1.4.	Polimorfismos no transportador de Dopamina .....	61
3.1.5.	Polimorfismos no gene Tirosina Hidroxilase .....	63
3.1.6.	Polimorfismos no gene SNCA .....	64
3.1.7.	Polimorfismos em enzimas metabolizadoras de xenobióticos .....	67
3.2.	Polimorfismos associados às complicações motoras induzidas pelo tratamento da DP	74
3.2.1.	Influência das variantes nos genes MAO-B e COMT na indução de complicações motoras pela levodopa .....	74
4.	Conclusão .....	78
5.	Referências Bibliográficas .....	79

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Representação do circuito dos núcleos da base na Doença de Parkinson.....	7
Figura 2 – Resumo esquemático dos possíveis mecanismos patogénicos envolvidos na Doença de Parkinson. ....	8
Figura 3 – Representação esquemática do metabolismo do MPTP.....	11
Figura 4 - Representação esquemática das vias intracelulares de MPP+.....	11
Figura 5 – Representação do mecanismo neurotóxico do MPTP.....	12
Figura 6 - Representação da similaridade estrutural entre o MPP+ e Paraquato. ....	13
Figura 7 – Representação do ciclo de neuroinflamação mediada pela ativação da micróglia.....	15
Figura 8 – Representação da terminação nervosa dopaminérgica.....	17



Figura 9 - Metabolização enzimática e oxidação espontânea da dopamina. ....	18
Figura 10 – Representação do ciclo redox do aminocromo. ....	19
Figura 11 – Coloração da Substantia Nigra na Doença de Parkinson. ....	19
Figura 12 – Mutação genética da proteína $\alpha$ -sinucleína e subsequente e as alterações bioquímicas.....	21
Figura 13 – Representação do Sistema Ubiquitina Proteassoma. ....	22
Figura 14 – Representação esquemática do mecanismo patológico mediado pela disfunção da proteína $\alpha$ -sinucleína. ....	24
Figura 15 -Representação esquemática da proteína $\alpha$ -sinucleína: (a) estrutura do gene SNCA e (b) domínios da proteína. ....	26
Figura 16 – Estratégias terapêuticas para aumentar a eficácia da levodopa na Doença de Parkinson .....	37

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Causas genéticas da Doença de Parkinson .....	25
Tabela 2 - Características típicas da DP .....	32
Tabela 3 – Sinais clínicos que devem alertar para a possibilidade de um diagnóstico que não Doença de Parkinson .....	33
Tabela 4 – Critérios positivos que suportam o diagnóstico de Doença de Parkinson ....	33
Tabela 5 - Escala de Hoehn e Yahr .....	34
Tabela 6 – Classes dos Agonistas Dopaminérgicos .....	40
Tabela 7 - Algumas intervenções farmacológicas possíveis nos SNM.....	43
Tabela 8 – Distribuição alélica e do genótipo do polimorfismo rs1799386 no gene MAO-B em casos de Doença de Parkinson e indivíduos saudáveis .....	47
Tabela 9– Frequência dos genótipos MAO-B .....	48
Tabela 10 – Distribuição alélica do polimorfismo de repetições GT no intrão 2 de MAO-B em doentes com DP e indivíduos controle* .....	50
Tabela 11 – Risco de Doença de Parkinson por regressão logística* .....	50



Tabela 12 – O número de alelos observados para o polimorfismo no intrão 2 do gene MAO-B em doentes com DP e indivíduos saudáveis chineses.....	51
Tabela 13 – Distribuição da frequência alélica da repetição polimórfica do dinucleótido (AG) no gene da MAO-B num grupo de doentes com DP hereditária, num grupo de doentes com DP esporádica e no grupo controlo .....	52
Tabela 14 – Distribuição da frequência alélica da repetição polimórfica do dinucleótido (AG) no gene da MAO-A num grupo de doentes com DP hereditária, num grupo de doentes com DP esporádica e num grupo controlo .....	53
Tabela 15 – Estudos que relacionam o polimorfismo no gene COMT e a doença de Parkinson.....	54
Tabela 16 – Associação do polimorfismo na COMT e a doença de Parkinson .....	54
Tabela 17– Características dos estudos incluídos na meta-análise .....	56
Tabela 18- Sumário de alguns estudos de associação entre os polimorfismos Taq1A e Taq1B do gene DRD2 com a suscetibilidade à DP.....	58
Tabela 19 – Frequências dos genótipos dos polimorfismos Taq 1A e Taq 1B do gene DRD2 .....	58
Tabela 20 – Frequência alélica do genótipo da Taq A1 .....	59
Tabela 21 – Associação do polimorfismo rs1800497 e a doença de Parkinson.....	59
Tabela 22 - Número de indivíduos observados e frequência dos genótipos e alelos do polimorfismo VNTR do DAT no grupo de doentes com DP e no grupo controlo .	62
Tabela 23 - Distribuição da frequência do genótipo VNTR e frequência alélica no grupo de doentes com DP e no grupo controlo .....	62
Tabela 24 - Frequência alélica do polimorfismo NACP-Rep1 em doentes com doença de Parkinson e controlos .....	65
Tabela 25 - Frequência do genótipo do polimorfismo NACP-Rep1 em doentes com doença de Parkinson e controlos .....	65
Tabela 26– Revisão de estudos analisando a associação do polimorfismo RCP-Rep1 e a suscetibilidade da Doença de Parkinson .....	66
Tabela 27 – CYP2D6 e Doença de Parkinson - estudos fenótipos.....	68
Tabela 28 - CYP2D6 e Doença de Parkinson - estudos genótipos.....	69
Tabela 29 - CYP2D6 e Doença de Parkinson de Início Precoce - estudos genótipos....	69



Tabela 30 - Frequência alélica e do genótipo do CYP2D6*4 .....	70
Tabela 31 - Distribuição da frequência alélica e do genótipo do polimorfismo CYP2E1*5B .....	71
Tabela 32- Distribuição étnica do polimorfismo CYP2E1 RsaI em indivíduos controle .....	71
Tabela 33 – Frequência alélica de SNPs no gene CYP2E1 .....	72
Tabela 34 – Frequência genotípica do polimorfismo rs2070676 do gene CYP2E1 .....	72
Tabela 35 – Genótipo (A) e frequência alélica (B) do polimorfismo Msp I do gene CYP1A1 em doentes com DP e controles .....	73
Tabela 36 - Genótipo (A) e frequência alélica (B) do polimorfismo Ile462Val no gene CYP1A1 em doentes com DP e controles .....	73
Tabela 37 – Associação entre o polimorfismo Val158Met da COMT e o desenvolvimento de discinesias nestes doentes .....	76
Tabela 38 – Frequência do genótipo COMT e MAO-B em doentes Iranianos que desenvolveram discinesias .....	77

#### LISTA DE SIGLAS

- (ACh) Acetilcolina
- (AD) Agonistas Dopaminérgicos
- (MAD) Mutações autossômicas dominantes
- (ADN) Ácido desoxirribonucleico
- (ADT) Difosfato de adenosina
- (ALDH) Aldeído desidrogenase
- (MAR) Mutações autossômicas recessivas
- (COMT) Catecol-O-metil transferase
- (DA) Dopamina
- (DAT) Transportador de dopamina
- (DCAA) Descarboxilase de aminoácidos L-aromáticos
- (DNRP) *Dinucleotide repeat polymorphism*
- (DOPAC) 3,4 - ácido dihidroxifenilacético
- (DP) Doença de Parkinson



- (DPIP) Doença de Parkinson de Início Precoce
- (DPIT) Doença de Parkinson de Início Tardio
- (DRD2) Recetor dopaminérgico 2
- (DRD3) Recetor dopaminérgico 3
- (DRD4) Recetor dopaminérgico 4
- (D1) Recetor dopaminérgico D1, DRD1
- (D2) recetores dopaminérgico D2
- (ECP) Estimulação cerebral profunda
- (GABA) ácido gama-aminobutírico
- (GP) Globo pálido
- (GPe) Globo pálido externo
- (GPi) globo pálido interno
- (GSH) Glutathiona reduzida
- (HVA) Ácido homovanílico
- (MAO) Inibidores da monoamina-oxidase
- (L-DOPA) Levodopa
- (MAO-B) Monoamina-oxidase B
- (MPDP) 1-metil-4-fenil-2,3-dihidropiridíio
- (MPP<sup>+</sup>) 1-metil-4-fenilpiridínio
- (MPTP) 1-metil-4-fenil-1, 2,3,6 – tetrahidropiridina
- (NB) Núcleos basais
- (NO<sup>-</sup>) Óxido nítrico
- (NOS) Óxido nítrico sintetase
- (pb) Pares de base
- (PP) Parkinsonismo Precoce
- (ROS) Espécies Reativas de Oxigénio
- (RNS) Espécies Reativas de Azoto
- (SNC) Sistema Nervoso Central
- (SNP) *Single nucleotide polymorphism*
- (SNM) Sintomas não motores
- (SN) *Substantia nigra*
- (SNpr) *Substantia nigra pars compacta*
- (SNpr) *Substantia nigra pars reticulata*
- (SOD) Enzima superóxido dismutase



(SP) Substância P

(STN) Núcleo subtalâmico de *Luys*

(SUP) Sistema Ubiquitina-proteassoma

(TH) Tirosina Hidroxilase

(TNF $\alpha$ ) Fator de Necrose Tumoral  $\alpha$

(UPDRS) “Unified Parkinson’s Disease Rating Scale”

(VMAT) Transportador vesicular monoaminérgico

(VNTR) *Variable number tandem repeat*

(3-OMD) 3-O-metildopa

(6-OHDA) 6-Hydroxidopamina



## RESUMO

A presente dissertação aborda polimorfismos em potenciais genes relacionados com a suscetibilidade da Doença de Parkinson (DP) e com o desenvolvimento de complicações motoras, mais propriamente discinesias, induzidas pelo tratamento com levodopa.

A DP é uma afeção degenerativa progressiva caracterizada pela perda celular a nível da *substantia nigra pars compacta (SNpc)*, resultando na diminuição de dopamina (DA). Manifesta-se principalmente na idade adulta e as manifestações motoras características da DP incluem o tremor, acinesia, rigidez muscular e alteração dos reflexos posturais.

Atualmente o tratamento convencional utilizado na afeção é farmacológico e sintomático, sendo a levodopa o fármaco mais utilizado e eficaz. Todavia está associada ao desenvolvimento de complicações motoras, como por exemplo discinesias.

A etiologia da afeção ainda não está totalmente elucidada mas admite-se a interação de fatores genéticos e ambientais. Especula-se que polimorfismos em genes relacionados com a patogenia da doença possam estar associados com a suscetibilidade para a DP, bem como com a resposta ao tratamento com levodopa.

Nesta monografia são apresentados os resultados de alguns estudos de associação entre o risco para desenvolver DP e polimorfismos em genes que codificam enzimas que metabolizam a DA [monoamina oxidase A (MAO-A), monoamina oxidase B (MAO-B), catecol-O-metil transferase (COMT)], em recetores dopaminérgicos, transportadores da DA, no gene tirosina hidroxilase (TH), no gene que codifica para a proteína  $\alpha$ -sinucleína (SNCA) e em genes que codificam enzimas metabolizadoras de xenobióticos, como por exemplo o CYP2D6. Contudo, os resultados obtidos nestes estudos não são concordantes e variam consoante a população em estudo.

O mesmo acontece nos estudos de associação para avaliar o risco de desenvolver discinesias induzidas pela levodopa e polimorfismos em genes envolvidos na farmacodinâmica e farmacocinética do fármaco, como a MAO-B, COMT e recetores dopaminérgicos.

**Palavras-chave:** Doença de Parkinson, Dopamina, Polimorfismos, levodopa, discinesias



## ABSTRACT

This dissertation discusses polymorphisms in potential genes associated with susceptibility to Parkinson's disease and to the development of dyskinesias induced by levodopa.

Parkinson's disease (PD) is a progressive neurodegenerative disease characterized by cell loss within the substantia nigra pars compact (*SNpc*), resulting in decreased dopamine (DA) levels. It is manifest mainly in adulthood and characteristic motor manifestations of PD include tremor, akinesia, muscular rigidity and postural reflexes.

Currently, the conventional treatment used in Parkinson's disease is pharmacological and symptomatic, and levodopa is the most used and effective drug. However, this drug is associated with development of motor complications such as dyskinesias.

The etiology of PD is not fully elucidated but admits the interaction of genetic and environmental factors. It is speculate that polymorphisms in genes related to the pathogenesis of PD may be associated with susceptibility to PD as well as the response to treatment with levodopa.

This monograph presents the results of some association studies between the risk for developing PD and polymorphisms in genes encoding enzymes that metabolize DA [monoamine oxidase A (MAO-A), monoamine oxidase B (MAO-B), catechol-O - methyl transferase (COMT)], in dopaminergic receptors, DA transporters, tyrosine hydroxylase (TH), gene encoding the protein  $\alpha$ -synuclein (SNCA), and genes encoding xenobiotic metabolizing enzymes, such as CYP2D6. However, the results obtained in these studies are not consistent and vary depending on the population studied.

The same happens in association studies to assess the risk of dyskinesias induced by levodopa and polymorphisms in genes involved in drug pharmacodynamics and pharmacokinetics, such as MAO-B, COMT and dopaminergic receptors.

**Key words:** Parkinson's disease, Dopamine, Polimorphisms, levodopa, dyskinesias



## 1. INTRODUÇÃO

A doença de Parkinson (DP) é uma afeção degenerativa dos núcleos da base caracterizada pela presença de bradicinesia (lentidão e pobreza de movimentos), tremor de repouso, rigidez muscular e alterações posturais <sup>1</sup>. É a segunda doença neurodegenerativa do cérebro mais comum e a sua prevalência aumenta com a idade <sup>2</sup>. Especula-se que com o progressivo envelhecimento da população, a incidência\* e prevalência<sup>†</sup> desta doença venham a aumentar no futuro <sup>3</sup>.

Os mecanismos fisiopatológicos da DP ainda não estão completamente elucidados. No entanto, estudos neuropatológicos mostram uma perda celular a nível da *substantia nigra pars compact (SNpc)*, acompanhada de uma diminuição dos níveis de dopamina (DA), facto que constitui o principal marcador bioquímico da doença e que levou à introdução de um precursor seu - a levodopa (L-DOPA) - no tratamento sintomático da afeção. Para além disso, são observados depósitos de proteína no citoplasma dos neurónios, designados de corpos *Lewy*. <sup>4-6</sup>

A patogenia da DP ainda hoje não está totalmente esclarecida, mas admite-se que tanto fatores genéticos como ambientais possam estar implicados no risco de desenvolvimento da DP. Nos últimos anos, o crescente interesse nas interações entre fatores genéticos e ambientais incitou um grande número de estudos de associação que oferecem uma abordagem potencialmente poderosa para identificar variantes genéticas que influenciam a suscetibilidade à DP. Os genes candidatos foram sugeridos com base no conhecimento da fisiopatologia da DP e incluem principalmente os genes relacionados com a síntese, metabolismo e transporte de DA. <sup>7-10</sup>

Na medida em que a terapêutica utilizada apenas alivia os sintomas e manifestações clínicas do doente, a abordagem terapêutica utilizada é considerada sintomática. Sem dúvida que a levodopa é o fármaco mais eficaz no tratamento da DP e cuja descoberta representou o grande salto qualitativo no tratamento da DP. No entanto, a levodopa está associada ao aparecimento de complicações motoras, principalmente discinesias (movimentos involuntários anormais e excessivos), em uma grande percentagem de doentes. <sup>11-16</sup>

---

\* **Incidência** - número de novos casos de uma doença diagnosticados num determinado intervalo de tempo e numa população de risco pré-definida.

† **Prevalência** - número de casos de doença diagnosticados num determinado momento e numa população pré-definida.



Apesar do mecanismo envolvido no desenvolvimento das complicações motoras ainda não estar totalmente elucidado, especula-se que, em parte, envolva polimorfismos<sup>‡</sup> em genes que afetam a farmacodinâmica e farmacocinética da levodopa, como por exemplo a monoamina oxidase (MAO) e a catecol-O-metiltransferase (COMT).<sup>10</sup>

Assim, com o desenvolvimento desta monografia, pretende-se estudar como é que os polimorfismos em potenciais genes influenciam o risco de desenvolver DP e a resposta à terapêutica utilizada na afeção.

O tema proposto é relevante na medida em que o número de pessoas com DP e que desenvolvem complicações motoras induzidas pela levodopa é elevado.

O presente trabalho encontra-se organizado em subcapítulos introdutórios de forma a caracterizar a DP. Apresenta posteriormente um capítulo de desenvolvimento, onde se aborda alguns polimorfismos em genes potencialmente envolvidos na suscetibilidade da DP e nas variações interindividuais à resposta ao tratamento com levodopa.

## 2. HISTÓRIA DA DOENÇA DE PARKINSON

Em 1817 James Parkinson publicou em Londres uma monografia intitulada de “An Essay on the Shaking Palsy”, na qual descreveu pela primeira vez sintomas da DP. Fez também o diagnóstico diferencial da doença e apresentou considerações a respeito da etiologia e tratamento desta patologia. A sua pesquisa foi ignorada por décadas mas, em 1875, Jean-Martin Charcot reconheceu a importância da pesquisa de Parkinson e, para o honrar, designou a doença de Doença de Parkinson (DP). Foi graças à pesquisa de Charcot que os conhecimentos clínicos da DP ganharam maior impulso.<sup>11,12,17</sup>

Na segunda metade do século XIX realizaram-se avanços importantes relativamente à compreensão da anatomia humana, permitindo uma melhor compreensão da anatomopatologia da DP. Brissaud realizou várias autópsias em pessoas com sintomas semelhantes aos descritos para a DP e observou que estas apresentavam anormalidades na *substantia nigra* (SN), sugerindo que a DP poderia de alguma forma estar relacionada com esta estrutura cerebral. Esta associação foi confirmada por Tretiakoff em 1919 aquando a descoberta de que doentes com DP

---

<sup>‡</sup> **Polimorfismo** - variação genética que ocorre numa população com frequência igual ou superior a 1%.



apresentavam uma diminuição do pigmento escuro, mais tarde identificado como sendo a dopamina (DA), presente nas células da *SN*.<sup>11</sup>

Em 1912 Frederick H. Lewy publicou um artigo no qual reportava a descoberta de pequenos corpos redondos nos neurónios da *substantia nigra* em mais de 75% de doentes com DP. Estes são designados de Corpos de *Lewy* em homenagem ao médico.<sup>11</sup>

Muitas outras descobertas marcaram a história da DP, como por exemplo a descoberta de Meynert em 1930 - observou a perda de neurónios nos núcleos basais de Meynert - e a descoberta de Arvid Carlsson em 1950 - descobriu que a *SN* produz uma elevada quantidade de um químico vital (dopamina) que transporta mensagens até ao corpo estriado, a parte do cérebro que controla os movimentos corporais, o equilíbrio e a marcha. Posso ainda acrescentar as pesquisas de Ehringer e Hornykiewicz no início dos anos 60 nas quais relatam que a concentração de dopamina no corpo estriado é menor em doentes com DP. Deste modo, foi identificada a principal causa subjacente à DP: a perda de neurónios cerebrais que produzem a dopamina. Esta descoberta conduziu ao primeiro tratamento de sucesso para a DP, a levodopa.<sup>11, 18, 19</sup>

Mais recentemente têm sido desenvolvidas moléculas que podem desempenhar um papel no controlo dos sintomas da DP quando levodopa já não é eficaz. São exemplo os agonistas dos recetores da dopamina (pramipexol e ropinirole) e os inibidores da catecol-O-metil transferase (COMT) (entacapona e tolcapona).<sup>20</sup>

## 2.1. EPIDEMIOLOGIA

Os dados referentes à epidemiologia da DP são importantes, uma vez que podem fornecer dados quanto à sua ocorrência, etiologia e informações sobre planeamentos na Saúde Pública. A maioria dos estudos epidemiológicos da DP expressa a sua ocorrência em termos de prevalência. Contudo, os valores de incidência são mais úteis para o estudo da etiologia da doença, uma vez que os dados de prevalência estão mais suscetíveis a enviesamentos na sua determinação por serem influenciados pela duração da própria doença.<sup>1</sup>

A doença de Parkinson é a segunda doença neurodegenerativa do cérebro mais comum, estimando-se que existam seis milhões de pessoas portadoras da doença a nível mundial. A sua prevalência aumenta com a idade: aumenta cerca de 1% em pessoas com mais de 65 anos de idade e aumenta cerca de 4% em pessoas com mais de 85 anos



de idade. Pensa-se que com o progressivo envelhecimento da população, a incidência e prevalência desta doença venham a aumentar no futuro. <sup>2,3</sup>

Estão descritas significativas variações geográficas, sendo a DP mais prevalente na Europa e Estados Unidos da América (100- 300/100000 habitantes) e menos na África e Ásia (10-60/100000 habitantes), o que sugere um maior risco entre as populações caucasianas. Em Portugal as estimativas apontam para a existência de 20.000 portadores da doença, embora não existam dados concretos (associação portuguesa de doentes com Parkinson) <sup>21</sup>. É considerada uma doença cosmopolita, uma vez que não apresenta distinção entre classes sociais e raças, acometendo tanto homens como mulheres, principalmente, na faixa etária entre 55 a 65 anos. <sup>1</sup>

## 2.2. DEFINIÇÃO DE DOENÇA DE PARKINSON

O parkinsonismo é um distúrbio do movimento caracterizado por quatro manifestações principais: bradicinesia, rigidez muscular, tremor em repouso e alterações posturais resultantes em desequilíbrios da marcha. Existem dois tipos de Parkinsonismo: primário e secundário. O parkinsonismo primário, também designado de idiopático ou de Doença de Parkinson, corresponde a 75% dos casos de parkinsonismo e as manifestações clínicas que os doentes com este tipo de parkinsonismos apresentam iniciam-se habitualmente acima dos 50 anos (a idade média de início situa-se por volta dos 60 anos). No entanto, em cerca de 10% dos casos as manifestações clínicas iniciam-se em idades mais jovens, designando-se de DP juvenil, quando os sintomas surgem antes dos 21 anos de idade, ou de DP de início precoce (DPIP), quando os primeiros sintomas aparecem entre os 21 e os 40 anos de idade. O parkinsonismo secundário ocorre quando há uma causa conhecida, como por exemplo as infeções, medicamentos, hidrocefalia, acidentes traumáticos, neoplasias e condições hereditárias. <sup>1, 13</sup>

A DP apresenta uma evolução progressiva resultante da degeneração dos neurónios dopaminérgicos da *SNpc*, com aparecimento de inclusões intracelulares conhecidas como corpos *Lewy*, levando à perda do controle dos movimentos <sup>11, 13</sup>. Contudo, pesquisas recentes têm demonstrado que esta desordem neurodegenerativa não deve ser caracterizada apenas pela disfunção do sistema dopaminérgico mas também pelos sistemas colinérgico, serotoninérgico e noradrenérgico, uma vez que também sofrem modificações <sup>22</sup>.



Apesar da DP ser considerada séria, não é considerada uma sentença de morte. Atualmente, e com o tratamento adequado, a pessoa com DP pode ser capaz de viver uma vida feliz e produtiva por muitos anos.<sup>11</sup>

### 2.3. ESTRUTURAS ANATÔMICAS E ASPETOS FUNCIONAIS ENVOLVIDOS NA DOENÇA DE PARKINSON

As síndromes extrapiramidais, nas quais está inserida a doença de Parkinson, têm sido constantemente associadas a lesões nos núcleos basais (NB): massas de substância cinzenta (núcleos) localizadas bilateralmente na porção inferior do cérebro, diencéfalo e mesencéfalo. Estes, em conjunto com o córtex motor (área motora primária, área pré-motora e área motora secundária) e o tálamo, desempenham um papel fundamental na regulação de comportamentos motores e não motores, bem como na regulação de atividades relacionadas com a cognição e a emoção.<sup>23-25</sup>

Os NB compreendem o núcleo caudado, o núcleo lentiforme, subdividido em *putamen* e globo pálido, o *claustrum*, o corpo amigdalóide, o núcleo *accumbens*, o núcleo basal de *Meynert*, a *substantia nigra (SN)*, subdividida em *substantia nigra pars compacta (SNpc)* e *substantia nigra pars reticulata (SNpr)*, e o núcleo subtalâmico de *Luys (STN)*. O globo pálido é ainda subdividido em globo pálido externo (Gpe) e globo pálido interno (Gpi). O núcleo caudado e o *putamen* podem ser considerados como uma única unidade funcional designada de neostriado. Por fim, o conjunto do neostriado e do núcleo *accumbens* (corpo estriado ventral) pode ser designado de corpo estriado ou *striatum*.<sup>26</sup>

Os núcleos basais são importantes no planeamento, organização e coordenação dos movimentos e da postura. Existem circuitos neuronais complexos que conectam os NB uns com os outros, com o tálamo e com o córtex cerebral. Estas conexões formam diversas ansas de *feedback* (retroação), algumas das quais são excitatórias e as restantes inibitórias. Os circuitos estimulatórios facilitam a atividade muscular, especialmente no início do movimento voluntário; os circuitos inibitórios facilitam as ações dos circuitos estimulatórios inibindo a atividade muscular nos músculos antagonistas e diminuem o tônus muscular quando o corpo está em repouso.<sup>23</sup>

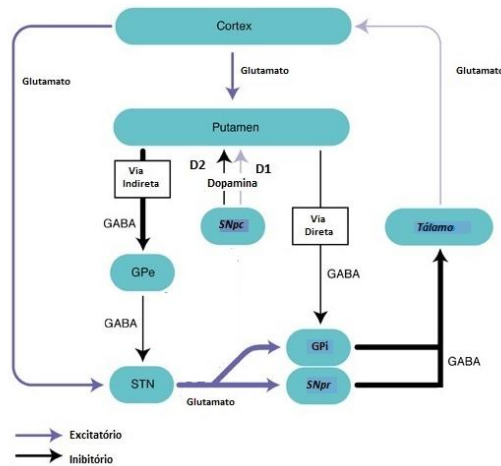
O circuito motor é iniciado pelo neocórtex, que envia projeções glutamínérgicas (excitatórias) à principal estrutura de entrada de informação dos núcleos basais, o



neostriado<sup>4,27</sup>. Este, por sua vez, transmite informação às principais estruturas de saída de informação dos núcleos basais – *SNpr/GPi* – através de duas vias: via direta e via indireta. As projeções eferentes da via direta utilizam glutamato e substância P para estimular a *SNpr/GPi* diretamente. Na via indireta, o neostriado envia projeções gabaminérgicas (inibitórias) para o GPe e depois para o NST que, por sua vez, envia projeções glutaminérgicas à *SNpr/GPi*. O circuito termina com projeções gabanérgicas da *SNpr/GPi* para o tálamo e deste de volta ao neocórtex, utilizando como neurotransmissor o glutamato.<sup>13,24,28,29</sup> Com efeito, a estimulação da via direta aumenta os estímulos excitatórios do tálamo para o córtex, de forma a executar um movimento desejado. Já a estimulação da via indireta diminui esses estímulos, suprimindo a informação cortical indesejada e irrelevante.<sup>27</sup>

O neostriado, para além de ser ativado pelo neocórtex, também é ativado por projeções dopaminérgicas da *SNpc* – via *nigroestriatal* da DA. A DA tem vários tipos de recetores mas, devido à sua expressão nos neurónios do neostriado, os recetores dopaminérgicos Drd1 (D1) e D2 (DRD2, DRD3 e DRD4) são os mais importantes.<sup>13,25</sup>

As projeções estriatais da via direta expressam o recetor dopaminérgico D1 que, por ter uma ação excitatória, potencia o efeito desta via. Neste caso, a ativação da via direta inibe a *SNpr/GPi*, que, por sua vez, desinibe o núcleo ventrolateral do tálamo. Como consequência, a unidade tálamo-cortical é reforçada e os movimentos corticalmente iniciados são facilitados. D2 tem ação inibitória e é principalmente expresso pelos neurónios da via indireta. A inibição da via indireta faz inibir a ação inibitória do neostriado sobre o GPe, desinibindo-o e fazendo com que o GPe iniba o NST. Uma vez o NST inibido, a atividade da *SNpr/GPi* está diminuída, potenciando os estímulos do tálamo para o córtex. Perante isto, o resultado final da DA no circuito motor é promover o movimento.<sup>4-6,28</sup> Na Doença de Parkinson, o equilíbrio natural do circuito dos núcleos da base é perdido devido à depleção de dopamina no corpo estriado, fazendo com que haja um aumento da atividade no *GPi/SNr* (figura 1). Consequentemente, a ação inibitória sobre o tálamo está aumentada e, por sua vez, está diminuída a ação excitatória deste sobre o córtex. O resultado leva às manifestações motoras manifestadas pelos doentes com DP.<sup>4-6,28</sup>



**Figura 1 – Representação do circuito dos núcleos da base na Doença de Parkinson.** Abreviações: GABA, ácido gama-aminobutírico; GPe, globo pálido externo; GPi, globo pálido interno; SNpc, substância nigra pars compacta; SNpr, substância nigra pars reticulata; SP, substância P; STN, núcleo subtalâmico; D1, receptores dopaminérgicos Drd1; D2, grupo de receptores dopaminérgicos DRD2, DRD3 e DRD4. Fonte: Adaptado <sup>(30)</sup>

Um outro neurotransmissor presente nos núcleos basais e com capacidade de modelar o movimento voluntário é a acetilcolina (ACh). O abastecimento deste neurotransmissor no neocórtex é feito através de uma rede neuronal intrínseca de inter-neurónios colinérgicos que, ao libertarem ACh, estimulam os neurónios do neocórtex e, conseqüentemente, aumentam a saída de sinais inibitórios GABAérgicos do GPi/SNpr para o tálamo. Com efeito, a ação da ACh no neocórtex controla os movimentos voluntários.<sup>11,27,28,31-33</sup> O impulso colinérgico é mediado por diferentes vias. Por um lado, os seus neurónios colinérgicos expressam auto-recetores muscarínicos (mAChRs) M2 pré-sinápticos que, ao serem ativados, impedem a libertação do neurotransmissor. Por outro lado, e sinteticamente falando, sabe-se que estes neurónios também expressam recetores D2 que, quando estimulados, impede a ação da ACh. Com efeito, quando a concentração de DA no neocórtex diminui, tal como acontece na DP, há uma hiper-reatividade do sistema colinérgico, o que leva a uma condução anormal do neocórtex e o movimento voluntário fica alterado.<sup>11,27,28,31-33</sup>

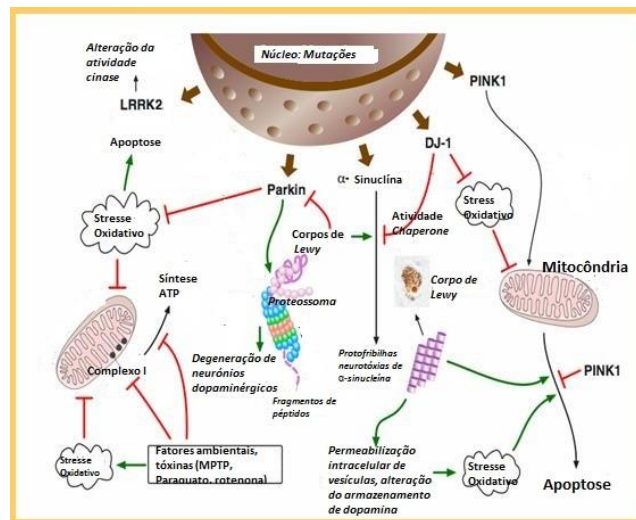
## 2.4. ETIOLOGIA E PATOGÉNESE DA DOENÇA DE PARKINSON

A Doença de Parkinson ocorre quando os neurónios responsáveis pela produção de DA, mais propriamente os neurónios dopaminérgicos da SNpc, morrem. Por conseguinte, a DA não está disponível para controlar o movimento e, sem a inibição química necessária, os músculos tendem a mover-se constantemente e de forma



incontrolável. A perda dos neurónios é acompanhada pelo aparecimento de depósitos de proteína no citoplasma dos neurónios, designados de corpos *Lewy*, contendo  $\alpha$ -sinucleína e ubiquitina.<sup>2,6,7,11,13,14,24,28,29,34,35</sup>

Diversas teorias têm procurado explicar a etiologia da DP, admitindo-se hoje que, tal como representado na figura 2, tanto os fatores genéticos como os fatores ambientais possam estar implicados no risco de desenvolvimento de DP<sup>36</sup>. Admite-se ainda que estes fatores não contribuem de forma isolada, sugerindo, mais uma vez, uma etiologia multifatorial<sup>7, 8, 9</sup>.



**Figura 2 – Resumo esquemático dos possíveis mecanismos patogénicos envolvidos na Doença de Parkinson. Abreviaturas: LRRK2, leucine-rich repeat kinase 2 ; Parkina, proteína *ligase* de ubiquitina E3; PINK1, PTEN-induced putative kinase; MPTP, 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina; Complexo I, NADH: ubiquinona oxidoreductase; ATP, Adenosina trifosfato. Fonte: Adaptado<sup>(37)</sup>.**

Embora as formas familiares da DP representem apenas uma pequena fração do total de casos de DP, as mutações identificadas nestes casos elucidaram para a compreensão da patofisiologia da DP. Já foram identificados 18 *loci* PARK (1-18) que têm sido associados ao desenvolvimento da doença. Confirmou-se que mutações em cinco destes genes provocam síndromes parkinsonianas, que se assemelham à DP: mutações autossómicas dominantes (MAD) nos genes SNCA e LRRK2 e mutações autossómicas recessivas (MAR) nos genes Parkina, DJ-1 e PINK1. Os outros 13 *loci* exigem uma investigação mais aprofundada para determinar a extensão precisa da sua contribuição para a DP.<sup>7, 36, 38</sup>



As mutações genéticas também contribuíram para elucidar numerosos mecanismos subjacentes à neurodegeneração. Estes incluem a agregação de proteínas, levando, por exemplo, à formação de Corpos de *Lewy*, à diminuição da função do sistema de ubiquitina-proteassoma (SUP), que conduz à degradação inadequada de proteínas e a uma acumulação de proteínas tóxicas.<sup>9</sup>

Como a maioria dos casos de DP são idiopáticos, pensa-se que os fatores ambientais desempenham um papel crucial na etiologia da doença. Estes fatores tanto podem influenciar a patogénese da DP como a sua progressão, através de uma ação direta sobre as células que morrem ou através de ações indiretas, como por exemplo alterando o metabolismo de outras substâncias ou aumentando o stresse oxidativo.<sup>36, 38</sup>

O envelhecimento é também um fator óbvio associado ao início da DP e especula-se que a falha de processos celulares normais que ocorre com o envelhecimento provoca um aumento da vulnerabilidade dos neurónios dopaminérgicos.<sup>38</sup>

Resumindo, pensa-se que a Doença de Parkinson surge a partir da convergência entre a suscetibilidade genética, a exposição ambiental e a idade.<sup>36</sup>

#### 2.4.1. COMPOSTOS AMBIENTAIS

Os modelos animais são uma ferramenta inestimável para estudar várias patologias humanas. Efetivamente, a utilização de modelos animais têm sido bastante útil para estudar a influência de compostos ambientais no aparecimento e desenvolvimento da DP.<sup>39</sup> Um modelo animal ideal deverá reproduzir todas as características clínicas e patológicas características da DP, ou seja, os animais deverão desenvolver perda progressiva de neurónios dopaminérgicos, formação de corpos de *Lewy* e distúrbios do movimento. Este parece ser um objetivo não alcançável, uma vez que nenhum animal irá reproduzir todas as características da doença humana. No entanto, estes modelos são vitais para a dissecção das diferentes vias, moleculares e bioquímicas, que são combinadas nas manifestações clínico-patológicas finais da DP.<sup>39</sup>

Desta forma, vários estudos sugerem que a exposição ambiental a certas neurotoxinas, a metais pesados ou pesticidas e fungicidas, podem desempenhar um papel no desenvolvimento de doenças neurodegenerativas do movimento tais como a doença de Parkinson. No entanto, nenhum dos compostos ambientais utilizados nos



modelos animais reproduz todas as características clínicas e patológicas típicas na DP idiopática.<sup>9, 40</sup>

#### ✚ 6-Hydroxidopamina (6-OHDA)

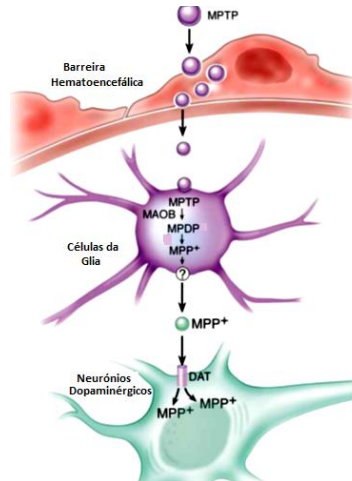
6-OHDA foi a primeira neurotoxina dopaminérgica descoberta e tem sido usada experimentalmente em modelos animais para estudar a DP há mais de 30 anos. Este análogo da dopamina e norepinefrina pode ser captado por neurónios catecolaminérgicos através de transportadores de dopamina e norepinefrina.<sup>41</sup>

Vários estudos têm demonstrado os efeitos nocivos deste composto nas células dopaminérgicas, mais especificamente, a ativação das células da glia, inibição do complexo mitocondrial I e produção de espécies reativas de oxigénio (ROS) que, conduzem à degeneração celular. Embora os animais utilizados nos estudos (ratos, gatos, cães, macacos e ratos) apresentem sintomas que se assemelham aos da DP, não foram identificados corpos de *Lewy*.<sup>39, 41</sup>

#### ✚ 1-metil-4-fenil-1, 2,3,6 - tetrahidropiridina (MPTP)

MPTP é a neurotoxina mais famosa associada à síndrome parkinsoniana.<sup>14</sup> Em 1982, vários consumidores de drogas no norte da Califórnia desenvolveram graves sintomas de Parkinson, a partir de um contaminante da heroína sintética, o MPTP. Esta descoberta deu a primeira indicação de que as toxinas exógenas podem estar envolvidas na fisiologia patológica da DP. Indivíduos intoxicados com MPTP apresentavam características neurológicas clínicas semelhantes à DP, incluindo tremor, rigidez muscular, lentidão dos movimentos, instabilidade postural e congelamento da marcha. À semelhança da DP, aquando a autópsia de doentes intoxicados, foram identificados danos na *substantia nigra* mas, ao contrário da DP, não foram encontrados corpos de *Lewy*.<sup>34, 41, 42</sup>

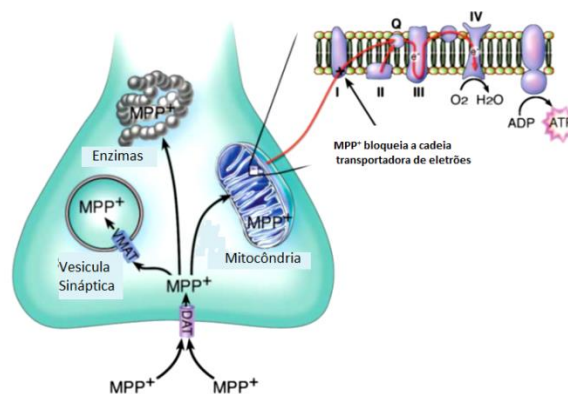
Após a sua administração sistémica, a pró-toxina MPTP, que é altamente lipofílica, atravessa a barreira hematoencefálica e é metabolizado pelas células da glia, mais propriamente pelos astrócitos, tal como representado a figura 3. Primeiro é metabolizado a 1-metil-4-fenil-2,3-dihidropiridídeo (MPDP) pela ação da enzima monoamina-oxidase B (MAO-B) e depois sofre oxidação, provavelmente espontânea, para gerar o ativo tóxico 1-metil-4-fenilpiridínio (MPP<sup>+</sup>).<sup>42, 43</sup>



**Figura 3 – Representação esquemática do metabolismo do MPTP.** Abreviações: MPTP, 1-metil-4-fenil-1, 2,3,6-tetrahidropiridina; MPDP, 1-metil-4-fenil-2,3-dihidropiridina; MPP<sup>+</sup>, 1-metil-4-fenilpiridínio; DAT, transportador de dopamina; MAO-B, monoamina-oxidase B. **Fonte:** adaptado de <sup>(44)</sup>.

Nos astrócitos, o MPP<sup>+</sup> estimula a expressão de fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleucina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) e interleucina-6 (IL-6) e estes, por sua vez, induzem a expressão da enzima óxido nítrico sintetase (NOS) para produzir óxido nítrico (NO<sup>-</sup>). Depois o MPP<sup>+</sup> é libertado dos astrócitos e captado pelos neurónios dopaminérgicos através do transportador de dopamina (DAT). <sup>42, 43</sup>

Uma vez dentro dos neurónios dopaminérgicos, MPP<sup>+</sup> pode seguir três vias, tal como representado na figura 4: (1) pode entrar para a mitocôndria e inibir o complexo mitocondrial I; (2) pode se ligar ao transportador vesicular monoaminérgico (VMAT) que transloca o composto para o interior de vesículas e, assim, diminuir os efeitos deletérios da toxina na mitocôndria; e (3) pode permanecer no citosol e reagir com diferentes enzimas. <sup>42, 43</sup>

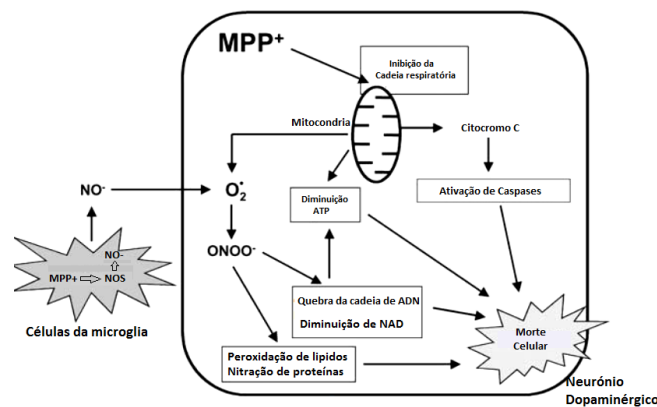


**Figura 4 - Representação esquemática das vias intracelulares de MPP<sup>+</sup>.** Abreviaturas: ADP, adenosina difosfato; ATP, Adenosina trifosfato; MPP<sup>+</sup>, 1-metil-4-fenilpiridínio. **Fonte:** <sup>(44)</sup>



No interior das mitocôndrias, o  $MPP^+$  inibe a respiração celular através do bloqueio da enzima transportadora de elétrons NADH: ubiquinona oxidoreductase (complexo I), levando à redução do ATP celular. Esta redução de energia leva à libertação anormal de DA das vesículas intracelulares para o citosol e, desta forma, a DA fica mais suscetível de sofrer metabolização enzimática ou auto-oxidação, dois processos que geram ROS. Para além disto, a inibição do complexo I também gera espécies reativas de oxigénio (ROS), como radicais superóxido ( $\bullet O_2$ )<sup>34, 42, 43</sup>. Estes são pouco reativos e não causam lesões diretas graves nos neurónios mas, ao reagirem com outros compostos, podem formar produtos mais reativos.<sup>42</sup> É o exemplo da reação entre o  $\bullet O_2$  e NO (óxido nítrico), que após ser produzido e libertado pelas células da glia para o espaço extracelular pode entrar nos neurónios dopaminérgicos por difusão simples, originando peroxinitrito ( $ONOO^-$ ), uma das moléculas oxidantes mais destrutivas<sup>42, 43</sup>. Por outro lado,  $MPP^+$  pode induzir a libertação de citocromo *c* da mitocôndria para o citosol onde inicia a cascada de ativação de *caspases*, resultando em apoptose do neurónio. Este processo está representado na figura 5.<sup>34, 42, 43</sup>

Outro efeito tóxico do  $MPP^+$  é a ativação de vias moleculares apoptóticas. Vários estudos têm implicado diferentes fatores moleculares das vias apoptóticas nos mecanismos de MPTP neurotoxicidade. Esta é altamente expressa em células dopaminérgicas do *SNpc*, tanto na mitocôndria como no citosol e, estes estudos têm demonstrado uma subexpressão do mRNA após a administração de MPTP.<sup>42</sup>



**Figura 5 – Representação do mecanismo neurotóxico do MPTP.** Abreviaturas:  $MPP^+$ , 1-metil-4-fenilpiridínio; ATP, Adenosina trifosfato; NOS, óxido nítrico sintetase;  $NO^-$ , óxido nítrico. Fonte: adaptado (<sup>42</sup>).

Em suma, o entendimento atual do modo de ação do MPTP propõe que  $MPP^+$  causa disfunções mitocondriais, stresse oxidativo, insuficiência energética e ativação de programas genéticos que levam à morte celular.<sup>42</sup> É ainda importante notar que, apesar



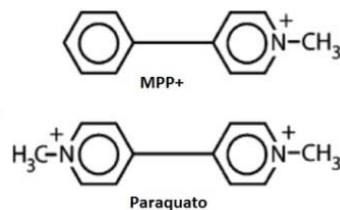
da toxicidade do MPTP partilhar muitas semelhanças com a DP, nenhum estudo identificou a presença de corpos de *Lewy*.<sup>41</sup>

#### 2.4.2. MODELOS UTILIZANDO HERBICIDAS/PESTICIDAS

O uso ocupacional de herbicidas contendo paraquato ou retonona têm sido associados a um aumento do risco para a doença de Parkinson. No entanto, não foi demonstrado um aumento do risco de exposição ocupacional a produtos químicos em geral, metais pesados e minerais.<sup>41</sup>

##### ✚ 1,10-dimetil-4,4'-bipiridínio (Paraquato)

Paraquato (PQ) foi um herbicida amplamente usado nos séculos XX e inícios do século 21 e as pessoas expostas desenvolveram sintomas parkinsonianos. Tal como mostra a figura 6, paraquato é estruturalmente semelhante ao MPP<sup>+</sup> e, à sua semelhança, produz sintomas semelhantes à DP.<sup>41</sup>



**Figura 6 - Representação da similaridade estrutural entre o MPP<sup>+</sup> e Paraquato.**  
Abreviaturas: MPP<sup>+</sup>, 1-metil-4-fenilpiridínio; Paraquato, 1,10-dimetil-4,4'-bipiridínio. Fonte: adaptado (<sup>44</sup>).

A administração sistêmica de PQ em modelos animais sugere que a toxicidade do PQ é mediada pela formação de radicais superóxido, que provocam uma perda de neurónios dopaminérgicos e a formação de inclusões de  $\alpha$ -sinucleína.<sup>39, 41, 44</sup>

##### ✚ Rotenona

Rotenona é o membro mais potente de uma família de compostos citotóxicos designados de rotenóides, que já foi usado anteriormente pelos índios para envenenar peixes e, atualmente, é utilizado como inseticida.<sup>41</sup>

Sendo extremamente lipofílica, rotenona atravessa livremente as membranas celulares, independentemente de quaisquer transportadores (ao contrário do MPP<sup>+</sup>), atravessa facilmente a barreira hematoencefálica, entra no cérebro e acumula-se em organelos celulares, como a mitocôndria. Dentro desta, inibe com alta afinidade o



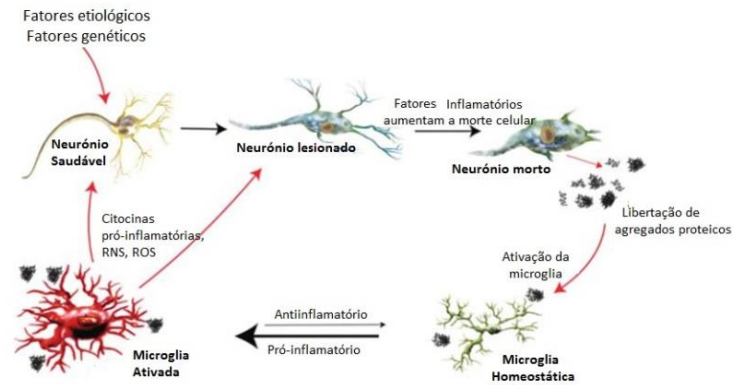
complexo I da cadeia de transporte de eletrões mitocondrial, prejudicando o metabolismo de energia celular.<sup>39, 41</sup>

Os animais utilizados nos modelos desenvolvem uma postura anormal e um movimento mais lento e, contrariamente ao MPTP, foram identificados inclusões de  $\alpha$ -sinucleína para formação os corpos de *Lewy*.<sup>44</sup>

### 2.4.3. NEUROINFLAMAÇÃO MEDIADA PELAS CÉLULAS DA MICROGLIA

A *substantia nigra* tem a maior densidade de microglia no cérebro e, na DP, a microglia da *SN* não só está altamente ativa como também está altamente agrupada em torno de neurónios dopaminérgicos distróficos.<sup>45</sup> De facto, os doentes com DP podem ter 6 vezes mais a microglia reativa do que os indivíduos controlo.<sup>41</sup>

A microglia constitui 10% de todas as células da glia e está envolvida na vigilância imunológica do cérebro, tornando-se ativas em resposta a mediadores inflamatórios, trauma, isquemia, tumor e neurodegeneração.<sup>41, 46, 47</sup> Funciona como macrófagos, sendo uma das suas funções combater a infeção e remover corpos estranhos da célula. Uma vez ativada, a microglia produz citocinas pró-inflamatórias (IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ ), espécies de reativas de oxigénio (ROS) e espécies de reativas azoto (RNS), originando uma cascata de eventos resultando em morte neuronal. Desta forma, a ativação da microglia contribui para a degeneração dos neurónios dopaminérgicos.<sup>41, 46, 47</sup> Efetivamente, a nível celular, a inflamação da microglia é significativamente observada em regiões de degeneração dopaminérgica e a administração a longo prazo de medicamentos anti-inflamatórios parece oferecer alguma proteção contra a DP.<sup>47, 48</sup> Mesmo que a neuroinflamação não ocorra nas fases iniciais da degeneração dopaminérgica, a libertação de agentes quimioatratadores pelos neurónios dopaminérgicos é suscetível de promover ainda mais a infiltração de microglia ativada para remover detritos neuronais, como representado na figura 7. Além disso, a atividade fagocítica da microglia está associada com a rutura da cadeia respiratória mitocondrial e seria esperado o aumento do stresse oxidativo para a restante população de neurónios DA.<sup>49</sup>



**Figura 7 – Representação do ciclo de neuroinflamação mediada pela ativação da microglia. Abreviaturas: RNS, espécies reativas de azoto; ROS, espécies reativas de oxigênio. Fonte: adaptado (50).**

#### 2.4.4. STRESSE OXIDATIVO

Muitas reações celulares utilizam o oxigênio molecular para a catálise e produção de energia. Estas reações, por sua vez, produzem espécies reativas de oxigênio (ROS), tais como o anião superóxido ( $O_2^-$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e radicais hidroxilo ( $\bullet OH$ ) e, na presença de óxido nítrico, produzem também RNS, como por exemplo o peroxinitrito ( $NO_3^-$ )<sup>41</sup>. A produção destes compostos tanto pode ocorrer de forma direta, quando o oxigênio ativado reage com metais de transição como o ferro, como de forma indireta, com o auxílio de enzimas como a tirosina hidroxilase (TH) e a óxido nítrico sintetase (NOS).<sup>7</sup>

As espécies reativas produzidas têm uma função importante na execução de funções fisiológicas, ou seja, regulam vários processos metabólicos, incluindo o metabolismo da glucose, e são geradas como mecanismo de defesa celular contra os agentes patogênicos invasivos. Além de efeitos benéficos, as espécies reativas causam uma série de efeitos nocivos. As ROS reagem com os ácidos nucleicos, proteínas e lípidos de membrana, em grande parte de uma forma não específica, o que pode resultar em mutações genéticas, perda da atividade de enzimas ou mesmo alterações na permeabilidade da membrana celular.<sup>22, 41, 51</sup>

Para controlar as reações oxidativas, as células contêm antioxidantes, como a glutatona e a vitamina E, e enzimas antioxidantes, como a superóxido dismutase e a glutatona peroxidase, de forma a equilibrar o mecanismo oxidativo.<sup>41</sup>

Efetivamente, o stresse oxidativo ocorre quando há um desequilíbrio entre estes dois mecanismos, seja devido à produção excessiva de ROS ou a uma defesa



antioxidante insuficiente, e pode danificar as proteínas celulares, lípidos e ADN e ativar vias apoptóticas.<sup>7, 38, 41</sup>

É interessante observar que o cérebro é mais vulnerável ao dano oxidativo do que outros órgãos. Por exemplo, o cérebro consome mais oxigénio sob condições fisiológicas do que qualquer outro órgão, aumentando, assim, a sua suscetibilidade ao stresse oxidativo. Além disso, o cérebro contém um nível relativamente baixo de antioxidantes e enzimas eliminadoras de radicais livres em comparação com outros tecidos, assim como uma quantidade elevada de substâncias, como os fosfolípidos e os ácidos gordos insaturados, que são vulneráveis a modificações oxidativas.<sup>7</sup>

Análises *postmortem* ao cérebro de doentes com DP mostram que a *SN* destes doentes exhibe um aumento dos níveis de lípidos, proteínas e ADN oxidados e baixos níveis de glutathione reduzida (GSH), sugerindo que o stresse oxidativo desempenha um papel importante na degeneração dos neurónios dopaminérgicos da *SNpc*. Para além disto, os neurónios dopaminérgicos da *SN* contêm enzimas geradoras de ROS, como a tirosina hidroxilase e a monoamina oxidase A (MAO-A), e uma elevada concentração de ferro, o que os torna particularmente propensos ao stresse oxidativo.<sup>34, 38, 41</sup>

Com efeito, as principais fontes de produção de ROS causadores de stresse oxidativo nos neurónios da *SN* são o metabolismo da DA, a disfunção mitocondrial e a disfunção do sistema ubiquitina-proteassoma, como discutido abaixo em maior detalhe.<sup>34, 38, 41, 52</sup>

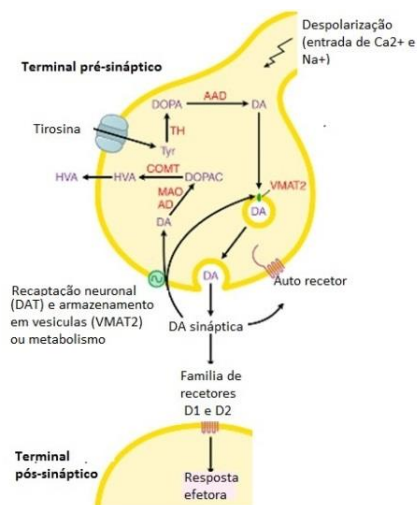
#### 2.4.5. METABOLISMO DA DOPAMINA

Como referido anteriormente, a transmissão de dopamina no neostriado é normalmente associada a movimentos voluntários. A degeneração progressiva de neurónios dopaminérgicos *nigroestriatais* é conhecida como a principal característica patológica da Doença de Parkinson e presume-se que a alta concentração de DA nestes neurónios constitui um fator essencial para a elevada vulnerabilidade destas células ao stresse oxidativo.<sup>7,32,35</sup>

Tal como representado na figura 8, a DA é uma catecolamina sintetizada nas terminações nervosas da *SNpc*, numa reação sequencial, em que as enzimas citoplasmáticas tirosina hidroxilase (TH) e descarboxilase de aminoácidos L-aromáticos (DCAA) catalisam a hidroxilação do aminoácido tirosina a 3,4- dihidroxifenilalanina



(L-DOPA) e a descarboxilação da L-DOPA a DA, respetivamente. Uma vez formada, a DA é transportada para vesículas secretoras através do transportador vesicular monoaminérgico-2 (VMAT-2). Quando a DA é necessária, as vesículas que a armazenam fundem-se com a membrana plasmática e libertam-na na fenda sináptica. O impulso é transmitido até ao neostriado assim que a DA se liga aos recetores dopaminérgicos D1 ou D2 expressos pelos neurónios do neostriado. Quando se pretende interromper o impulso, a DA é recaptada pela célula pré-sináptica através do transportador de dopamina (DAT) e, uma vez no interior da célula dopaminérgica, é armazenada em vesículas para, posteriormente, ser reutilizada ou é degradada.<sup>11,13,53</sup>



**Figura 8 – Representação da terminação nervosa dopaminérgica.** Abreviaturas: DA, dopamina; Tyr, Tirosina; TH, Tirosina hidroxilase; AAD, L-Aminoácido Aromático Descarboxilase; DOPA, 3,4-dihidroxifenilalanina; DOPAC, 3,4 - ácido dihidroxifenilacético; HVA, ácido homovanílico; COMT, catecol-O-metil transferase; MAO, monoaminoxidase; VMAT-2, transportador vesicular monoaminérgico 2; DAT, transportador de dopamina; D1, recetores dopaminérgicos DRD1; D2, recetores dopaminérgicos DRD2, DRD3, DRD4. Fonte: adaptado (<sup>13</sup>).

A DA em si não exerce efeitos tóxicos diretos, mas os intermediários tóxicos derivados do seu catabolismo (oxidação espontânea e metabolização) podem contribuir para o stresse oxidativo. O armazenamento da DA em vesículas, não só evita a sua metabolização enzimática, como evita a sua oxidação espontânea. Isto acontece porque as enzimas metabolizadoras encontram-se no citosol e o pH no interior da vesícula é inferior ao pH no citosol (graças ao gradiente de prótons criado pela ATPase), promovendo a ligação dos prótons ao grupo hidroxilo da DA.<sup>11,13,38,51,53</sup>

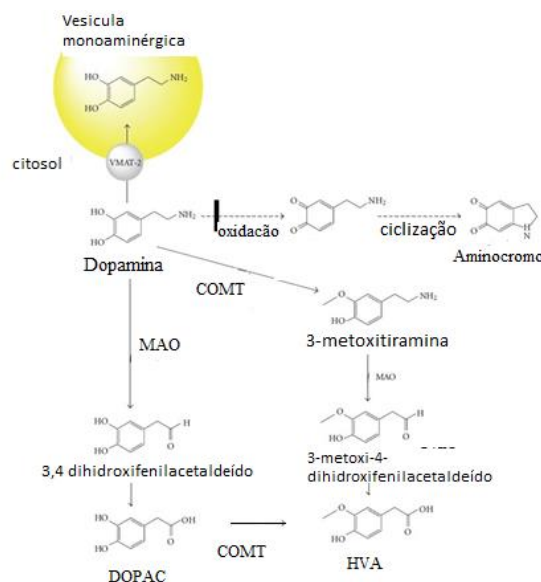
A metabolização enzimática da DA pode ocorrer por duas vias (figura 9). A primeira via envolve as enzimas monoaminoxidase A (MAO-A), aldeído desidrogenase (ALDH) e catecol-O-metil transferase (COMT) que, de forma sequencial, catalisam a



conversão de DA em 3,4 dihidroxifenilacetaldeído, em 3,4 - ácido dihidroxifenilacético (DOPAC) e em ácido homovanílico (HVA). A segunda via utiliza as mesmas enzimas referidas acima mas numa ordem diferente. Ou seja, a DA é metilada pela COMT, gerando 3-metoxitiramina que, por sua vez é convertida em 3-metoxi-4-dihidroxifenilacetaldeído, com concomitante formação de peróxido de hidrogénio ( $H_2O_2$ ) e  $NH_3$ , pela ação da MAO-A e, por fim, o 3-metoxi-4- dihidroxifenilacetaldeído é convertido a HVA pela ação da ALDH. Efetivamente, o HVA é o produto final da metabolização da DA.<sup>11, 13, 53</sup>

A metabolização enzimática da DA contribui para o stress oxidativo na medida em que o peróxido de hidrogénio formado pode reagir com iões metálicos de transição, especialmente o ferro, através da reação de *Fenton*, gerando radicais hidroxilo ( $OH\cdot$ ) altamente tóxicos.<sup>7, 35, 41</sup>

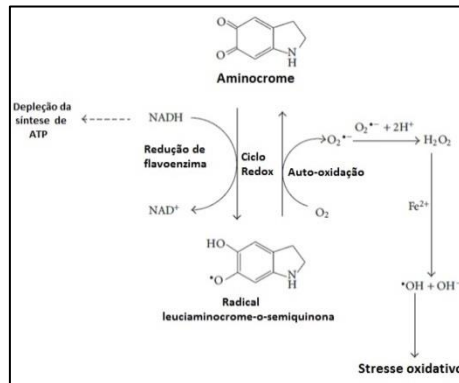
A oxidação espontânea da DA leva à formação de dopamina-o-quinona, um composto neurotóxico que forma aductos com várias estruturas importantes para o funcionamento celular. É de realçar que, tem sido mostrado que a dopamina-o-quinona modifica certas proteínas cujas disfunções estão relacionadas com a fisiopatologia da DP, como a proteína  $\alpha$ -sinucleína, parkina, DJ-1, proteína transportadora da DA e os complexos mitocondriais I e III.<sup>38</sup>



**Figura 9 - Metabolização enzimática e oxidação espontânea da dopamina.** Abreviaturas: **DOPA**, 3,4- dihidroxifenilalanina; **DOPAC**, 3,4 - ácido dihidroxifenilacético; **HVA**, ácido homovanílico; **COMT**, catecol-O-metil transferase; **MAO**, monoaminoxidase; **VMAT-2**, transportador vesicular monoaminérgico 2. **Fonte:** adaptado (<sup>53</sup>).

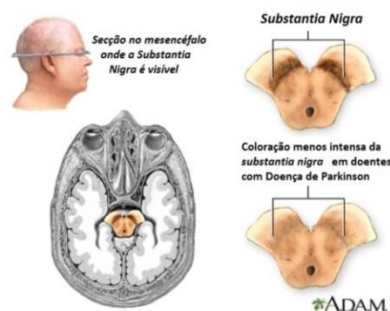


Ainda, quando em excesso, a dopamina-o-quinona sofre ciclização para se tornar num composto mais reativo, o aminocromo. Este, por ciclização redox, utiliza NADPH para formar o radical leuciaminocromo-o-semiquinona que, por sua vez, sofre auto-oxidação formando novamente o aminocromo (figura 10). Os superóxidos ( $O_2^-$ ) formados na auto-oxidação aumentam o stresse oxidativo ao serem convertidos em  $H_2O_2$  pela ação da enzima superóxido dismutase (SOD) ou ao se condensarem com o óxido nítrico para gerar o peroxinitrito ( $ONOO^-$ ).<sup>38</sup>



**Figura 10 – Representação do ciclo redox do aminocromo.**  
Abreviaturas: ATP, adenosina trifosfato. Fonte: adaptado<sup>(13)</sup>.

Para finalizar a oxidação espontânea da DA, o aminocromo polimeriza em neuromelanina, pigmento escuro que concentra iões metálicos, em especial ferro. Este acumula-se com a idade e atua como um agente quelante para metais, indicando que esta molécula desempenha um papel neuroprotetor.<sup>53, 38</sup> Com a neurodegeneração dos neurónios contendo melanina a coloração da *SN* não é tão intensa (figura 11).



**Figura 11 – Coloração da Substantia Nigra na Doença de Parkinson.** Fonte: adaptado<sup>(54)</sup>.

Estima-se que, num cérebro saudável, 20% das moléculas de DA libertada pelas células da *SNpc* são destruídas por uma destas vias. Na DP, à medida que as células da *SN* morrem, aquelas que permanecem vivas aumentam a sua produção de dopamina para compensar a perda de dopamina. Em alguns neurónios da *SN*, a produção de



dopamina aumenta em cinco vezes. Esta compensação pode ajudar a evitar, temporariamente, os efeitos da DP mas quando restam apenas 20% das células da *SN* viáveis, surgem os sintomas da DP.<sup>11</sup>

#### 2.4.6. DISFUNÇÃO DA MITOCÔNDRIA

A mitocôndria é um organelo celular muito importante na produção de energia na forma de ATP. A disfunção mitocondrial tem sido implicada na patogênese da DP desde há muito tempo. De facto, vários grupos de investigação reportaram uma diminuição da atividade da enzima transportadora de eletrões NADH: ubiquinona oxidoreductase (complexo I) na *substantia nigra* de doentes com DP, conduzindo ao excesso de produção de ROS e à diminuição da síntese de energia (ATP), provocando morte celular. No entanto, ainda falta identificar a causa do decréscimo da atividade do complexo I mitocondrial e provar que a deficiência no complexo I tem uma relação de causa-efeito com a perda seletiva de neurónios dopaminérgicos, característica desta doença.<sup>34, 55</sup>

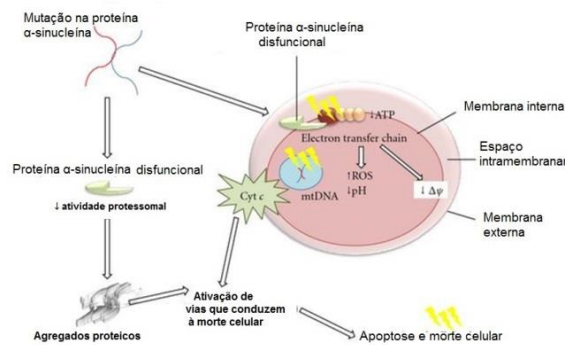
O complexo I é o maior dos macrocomplexos da cadeia respiratória mitocondrial, constituído por 46 subunidades, sete das quais são codificadas pelo ADN mitocondrial. As restantes 39 subunidades são codificadas por genes nucleares, importados para dentro da mitocôndria e conjugadas com as restantes subunidades mitocondriais. Portanto, a atividade do complexo I pode estar disfuncional devido a defeitos genéticos no ADN mitocondrial e/ou ADN nuclear ou ainda por fatores que impeçam ou danifiquem a união das subunidades que fazem parte do complexo.<sup>55</sup>

O papel da disfunção mitocondrial na DP foi reforçado pelos estudos de parkinsonismo por MPTP, com evidência da presença de inibição seletiva do complexo I mitocondrial na *SNpc*. As anormalidades descritas neste transportador de eletrões provocariam uma insuficiência respiratória mitocondrial que contribuiria para a lesão neuronal e consequente morte neuronal progressiva na DP (apoptose).<sup>34</sup>

Perante isto, tanto os fatores ambientais como os fatores genéticos podem inibir o complexo I e provocar uma cascada de eventos que culminam em apoptose, ou morte celular programada. Contudo estudos mais recentes interrogam se as anormalidades mitocondriais observadas realmente traduzem eventos primários da DP ou seriam apenas eventos secundários dentro do complexo processo neurodegenerativo.<sup>22</sup>



Para além disto, a evidência atual sugere uma ligação intrigante entre  $\alpha$ -sinucleína e a mitocôndria. Estudos demonstram que a inibição do complexo I conduz à acumulação de inclusões de corpos de *Lewy*, sugerindo que a agregação de  $\alpha$ -sinucleína pode ser uma consequência da disfunção mitocondrial e um efector de morte celular neuronal.<sup>34</sup> Por outro lado, tal como mostrado na figura 12, o aumento da expressão da proteína  $\alpha$ -sinucleína mutada pode sensibilizar a apoptose das células mitocondriais e, conseqüentemente, danificar a função mitocondrial. Desta forma é criado um ciclo neurodegenerativo vicioso.<sup>34</sup>



**Figura 12 – Mutação genética da proteína  $\alpha$ -sinucleína e subsequente e as alterações bioquímicas. Abreviaturas: ATP, adenosina trifosfato; ROS, espécies reativas de oxigênio;  $\Delta\Psi$ , potencial de membrana; mtDNA, ADN mitocondrial. Fonte: adaptado (<sup>56</sup>)**

#### 2.4.7. DISFUNÇÃO DO SISTEMA UBIQUITINA-PROTEASSOMA

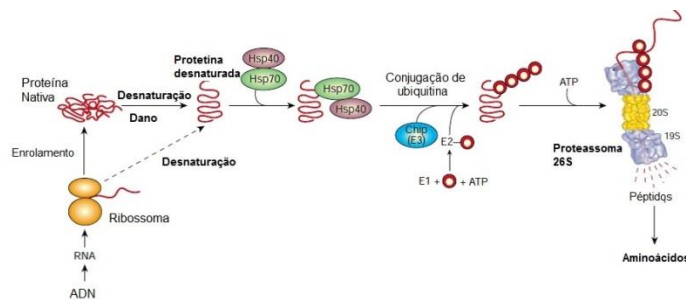
As proteínas das células são continuamente degradadas a aminoácidos e substituídas por novas proteínas sintetizadas, sendo um processo altamente seletivo e regulado. Em células eucarióticas, a maioria das proteínas destinadas à degradação são marcadas pela primeira vez por ubiquitina, num processo que requer energia, e, em seguida, digeridas em pequenos péptidos pelo grande complexo proteolítico, o proteassoma 26S.

Evidência atual sugere que as perturbações da regulação da agregação da proteína e a disfunção do sistema ubiquitina-proteassoma (SUP) é uma via comum na progressão de ambas as formas genéticas e esporádica de DP.<sup>22,9</sup>

O SUP representa o mecanismo primário responsável pela eliminação de proteínas intracelulares mutantes e/ou danificadas e está também relacionado com a regulação dos níveis de proteínas de vida-curta que medeiam atividades celulares como a transcrição de genes e a neurotransmissão.<sup>22,57</sup>



As moléculas chaperone podem se ligar às proteínas desnaturadas, promovendo a sua conformação nativa. No entanto, esta ligação também facilita o reconhecimento das proteínas anormais pela proteína *ligase* ubiquitina de E3, tal como mostra a figura 13. Esta reação é complexa pois requer a ação de três enzimas sequenciais: enzima ativadora da ubiquitina (E1); enzima conjugadora da ubiquitina (E2) e enzima *ligase* de ubiquitina (E3). Normalmente, este processo de ubiquitinação é repetido várias vezes até se formar uma cadeia de ubiquitinas (monómeros individuais de ubiquitina covalentemente ligados uns aos outros) ligada ao substrato. A proteína poliubiquitinada é depois endereçada para o proteassoma 26S para ser degradada enzimaticamente.<sup>55, 57, 58</sup>



**Figura 13 – Representação do Sistema Ubiquitina Proteassoma.** Abreviações: Hsp40 e Hsp70, proteínas chaperones; E1, enzima ativadora da ubiquitina; E2, enzima conjugadora da ubiquitina; E3, enzima *ligase* de ubiquitina; ATP, adenosina trifosfato; cada roda vermelha representa uma molécula de ubiquitina. Fonte: <sup>(58)</sup>

Perante isto, é sugerido que a disfunção proteassomal constitui um ponto comum na degeneração neuronal dopaminérgica na DP. De facto, foram encontrados deficiências estruturais e funcionais no proteassoma 26S na *SNpc* de doentes com DP esporádica.<sup>34</sup>

#### 2.4.8. CORPOS LEWY

Em 1912, Friedrich Heinrich *Lewy* descreveu, pela primeira vez, corpos de inclusão intracelulares que passaram a constituir o principal sinal patológico da DP. Atualmente, sabe-se que os corpos de *Lewy*, consistem em neurofilamentos com agregados de  $\alpha$ -sinucleína e ubiquitina.<sup>7,55,59–61</sup>

$\alpha$ -sinucleína pertence a uma família de proteínas de forma nativa “desenrolada” (*unfolded*), que não possui uma estrutura secundária típica. No entanto, a sua conformação pode ser alterada através da atividade de proteínas *chaperone* que, ao formarem folhas-beta, agregam-se em protofibrilhas de  $\alpha$ -sinucleína. O produto final do processo de agregação consiste em fibrilhas de  $\alpha$ -sinucleína. Têm sido descritos



diversos fatores que facilitam a agregação da  $\alpha$ -sinucleína, como por exemplo as mutações no gene que codifica a proteína  $\alpha$ -sinucleína, modificações pós-traducionais (por ex. oxidação, nitração, ubiquitinação).<sup>55, 57, 60, 62</sup>

Estes dois últimos processos celulares ocupam um espaço central na agregação da  $\alpha$ -sinucleína. A alteração da conformação da proteína ocorre com a atividade de proteínas *chaperone* que, se falharem, conduzem a uma conformação incorreta da  $\alpha$ -sinucleína. Consequentemente, a proteína defeituosa torna-se alvo do sistema ubiquitina-proteassoma. Quando a produção de proteínas defeituosas ultrapassa a capacidade da célula de processá-las, aparece o problema: o sistema ubiquitina-proteassoma fica inibido, as proteínas tóxicas acumulam-se e os neurónios morrem.<sup>57, 60, 62</sup>

A função fisiológica da  $\alpha$ -sinucleína ainda não está completamente conhecida, mas várias linhas de evidência sugerem-lhe um papel nos terminais nervosos pré-sinápticos, como modelador da libertação sináptica, especialmente da dopamina. Mais especificamente,  $\alpha$ -sinucleína diminui a libertação de DA nos terminais *nigroestriatais* e, através da inibição da enzima TH, regula a síntese de DA.<sup>55, 57, 63, 64</sup>

Perante isto, e tal como mostra a figura 14, qualquer disfunção da proteína  $\alpha$ -sinucleína conduzirá a um aumento na produção de DA, bem como num aumento da libertação de DA das vesículas para o citosol. Com isto, a quantidade de DA exposta a sofrer metabolização enzimática ou oxidação espontânea aumenta, aumentando também a formação de ROS.<sup>55, 57</sup>

Por outro lado, a DA e os seus metabolitos inibem a conversão de protofibrilhas em fibrilhas de  $\alpha$ -sinucleína, promovendo a acumulação de protofibrilhas. Estas causam toxicidade através da permeabilização de vesículas sinápticas, permitindo a libertação de DA para citoplasma e participar em reações que geram stresse oxidativo, tal como explicado na secção 6.3.<sup>44</sup> Este efeito poderia explicar, pelo menos em parte, a vulnerabilidade seletiva dos neurónios de dopamina a efeitos tóxicos mediados pela  $\alpha$ -sinucleína.<sup>57</sup>

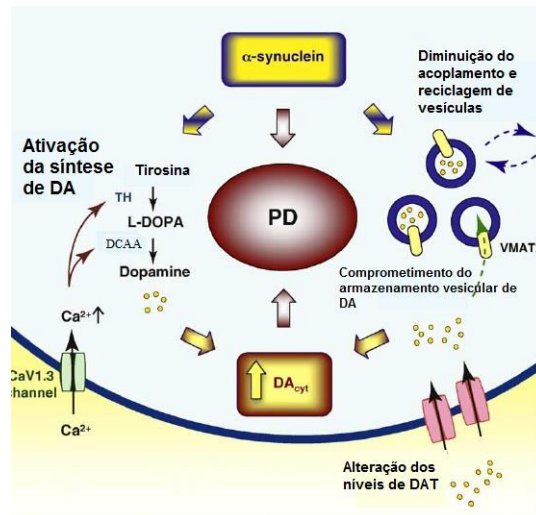


Figura 14 – Representação esquemática do mecanismo patológico mediado pela disfunção da proteína  $\alpha$ -sinucleína. Abreviaturas: TH, Tirosina hidroxilase; DCAA, Descarboxilase de aminoácidos L-aromáticos; L-DOPA, 3,4- dihidroxifenilalanina; DACYT, Dopamina citosólica; VMAT2, transportador vesicular monoaminérgico 2; DAT, transportador de dopamina; ATP, adenosina trifosfato. Fonte: <sup>(63)</sup>.

Perante toda esta informação, pensa-se que a desnaturação da  $\alpha$ -sinucleína pode interferir com o seu normal funcionamento, mas é improvável que esta perda de função tenha o papel principal na neurodegeneração relacionada com a  $\alpha$ -sinucleína. <sup>44</sup> A elucidação dos mecanismos celulares que influenciam as alterações que ocorrem na bioquímica desta proteína e que levam à sua agregação e consequente disfunção neuronal, necessitam de ser clarificados rapidamente para um melhor conhecimento e percepção da DP. <sup>13, 14, 55</sup>

#### 2.4.9. GENÉTICA

A Doença de Parkinson foi durante muito tempo considerado como sendo uma desordem não genética de origem "esporádica" mas, durante a última década, alterações genéticas em diferentes genes reforçou a hipótese de que a DP também pode ser hereditária. <sup>65</sup>

Apesar de não se considerar a DP esporádica uma doença de origem genética, a investigação realizada durante a última década conduziu à identificação de genes associados a formas raras de DP hereditária. Até à data foram identificados 18 *loci* "PARK" (tabela 1) relacionados com a doença, sendo as mutações autossômicas dominantes<sup>(§)</sup> nos genes SNCA (PARK1/4) e LRRK2 (PARK8) e a mutações

<sup>(§)</sup> **Mutações autossômicas dominantes** - basta um indivíduo herdar um gene mutado dos pais para manifestar a Doença.



autossômicos recessivas<sup>(\*\*)</sup> nos genes parkina (PARK2), DJ-1 (PARK7) e PINK1 (PARK6) as mais relevantes. <sup>2, 7, 36, 66</sup> Embora as formas monogênicas representem <10% dos casos de DP, desempenham um papel importante na compreensão da forma mais comum da doença - DP idiopática. <sup>7, 66</sup>

Essas descobertas genéticas têm sido centrais nas tentativas do campo para entender o processo da doença subjacente, a nível molecular, sendo usado em modelos baseados em animais e células de uma forma familiar para aqueles que trabalham em diversas doenças neurodegenerativas. <sup>67</sup>

**Tabela 1 - Causas genéticas da Doença de Parkinson**

<b>Loci PARK</b>	<b>Gene</b>	<b>Cromossoma</b>	<b>Forma de DP</b>
PARK 1	SNCA	4q21	MAD
PARK 2	Parkina	6q25.2-q27	MAR
PARK 3	Desconhecido	2p13	MAD
PARK 4	SNCA	4q21	MAD
PARK 5	UCHL1	4p14	MAD e Idiopática
PARK 6	PINK	1p35-p36	MAR
PARK 7	DJ-1	1p36	MAR e DPIP
PARK 8	LRRK2	12p12	MAD e Idiopática
PARK 9	ATP13A2	1p36	-
PARK 10	Desconhecido	1p32	Idiopática
PARK 11	Desconhecido	2p36-p37	MAD e Idiopática
PARK 12	Desconhecido	X	Familiar
PARK 13	HTRA2	2p13	Idiopática
PARK 14	<i>PLA2G6</i>	22q13.1	MAR
PARK 15	<i>FBXO7</i>	22q12.3	MAR
PARK 16	-	1q32	-
PARK 17	<i>GAK</i>	4p16	-
PARK 18	<i>HLA-DRAb</i>	6p21.3	-

**Abreviações:** DP, Doença de Parkinson; MAD, Autossômica Dominante; MAR, Autossômica Recessiva; DPIP, Doença de Parkinson de Início Precoce. **Fonte:** adaptado (<sup>65, 68</sup>).

<sup>(\*\*)</sup> **Mutações autossômicas recessivas** - aparece apenas em pessoas que têm duas cópias do gene recessivo. O traço é escondido quando o gene dominante está presente.



### 2.4.9.1. MUTAÇÕES AUTOSSÔMICAS DOMINANTES RELACIONADAS COM A DP

#### ✚ $\alpha$ -Sinucleína (PARK1 e PARK4)

A descoberta de mutações no gene PARK1 ou SNCA têm sido associadas à doença de Parkinson autossômica dominante, representando apenas 5% de todos os casos da doença.<sup>2, 55, 57, 60</sup> Este gene está localizado no cromossoma 4 e codifica a  $\alpha$ -sinucleína, uma proteína de 140 aminoácidos predominantemente expressa no cérebro, mais propriamente neocórtex, hipocampo, corpo estriado, tálamo e cerebelo. A função desta proteína parece estar relacionada com a estabilização das vesículas sinápticas dopaminérgicas, influenciando a liberação de DA.<sup>55</sup>

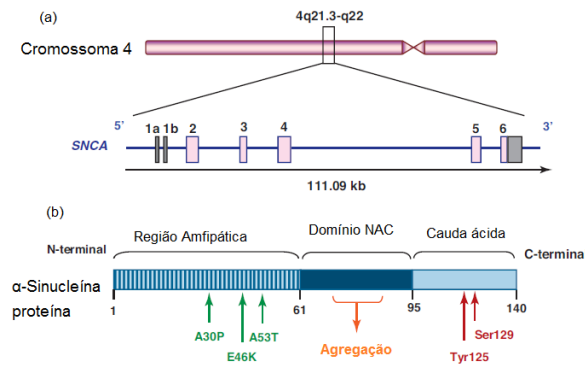


Figura 15 -Representação esquemática da proteína  $\alpha$ -sinucleína: (a) estrutura do gene SNCA e (b) domínios da proteína. Fonte: adaptado (<sup>63</sup>).

Três mutações *missense*<sup>(††)</sup> do gene da  $\alpha$ -sinucleína, localizadas no N-terminal e consideradas patogénicas, têm sido associadas às formas familiares da DP, nomeadamente as mutações A30P, A53T e E46K (figura 15). Foram identificadas manifestações clínicas e patológicas típicas da doença de Parkinson em doentes com qualquer uma destas mutações, embora também tenham sido notadas algumas manifestações atípicas.<sup>2, 44, 55, 57</sup> Embora sejam raras, estas mutações têm contribuído para a elucidação dos mecanismos moleculares relacionados com a acumulação intracelular de  $\alpha$ -sinucleína.<sup>2, 55, 57</sup> Efetivamente, estudos mostram que as formas mutantes da proteína têm uma maior tendência de agregação do que a proteína *wild-type* (WT). Mais ainda, a mutação A53T contribui para a disfunção do armazenamento

<sup>(††)</sup> **Mutação *missense*** - codificação de um aminoácido diferente do normal.



vesicular da dopamina, levando à sua libertação no citosol e promovendo o stresse oxidativo resultante do metabolismo da DA.<sup>55, 65</sup>

Uma forma de evitar a neurotoxicidade produzida pelas proteínas anormais é através da sua degradação. Sabe-se que a proteína  $\alpha$ -sinucleína pode ser degradada por duas vias: sistema ubiquitina proteassoma (SUP) ou via autofágica. No entanto, a acumulação da proteína modificada é capaz de afetar ambas as vias, diminuindo a degradação das proteínas anormais.<sup>62</sup>

Curiosamente, não apenas as mutações *missense*, mas também o excesso de expressão de  $\alpha$ -sinucleína aumenta a propensão para a agregação de  $\alpha$ -sinucleína. Na verdade, duplicações e triplicações<sup>(††)</sup> do gene SNCA também são causadores da DP autossómica dominante, com uma correlação coerente entre o número total de cópias do gene e a gravidade da doença. A multiplicação do gene pode conduzir a níveis de mRNA e de proteína 1,5 a 2 vezes maiores em relação aos níveis normais de expressão e é geralmente associada à ocorrência familiar de um fenótipo DP clássico com início precoce.<sup>2,36,38,55,62,65</sup>

A triplicação genómica do gene SNCA é responsável por duplicar a expressão da  $\alpha$ -sinucleína no tecido cerebral e está maioritariamente associada a um início precoce da doença com demência.<sup>36</sup> Os achados neuropatológicos em duas famílias DP com triplicação SNCA incluem também a presença de corpos de *Lewy* no tronco cerebral e córtex.<sup>2</sup>

Por um lado, foi demonstrado que o aumento de expressão de  $\alpha$ -sinucleína pode causar a despolarização mitocondrial e afetar os componentes da cadeia de transporte de eletrões, resultando na geração excessiva de ROS nos neurónios dopaminérgicos. Por outro, o stresse oxidativo pode precipitar a desnaturação e agregação de  $\alpha$ -sinucleína, perpetuando um círculo vicioso prejudicial.<sup>62</sup>

Ainda, se as mutações que aumentam a expressão de  $\alpha$ -sinucleína contribuem para a neurotoxicidade, então os mecanismos que conduzem a uma acumulação desta proteína também contribuem. São exemplo a diminuição da degradação de  $\alpha$ -sinucleína e o aumento da transcrição/tradução do gene SNCA. De facto, há evidências que sugerem o envolvimento de ambos os mecanismos na DP, mais propriamente a observação de que tanto no envelhecimento normal como na DP, os níveis intracelulares

---

<sup>(††)</sup> **Multiplicação de genes (Duplicações, triplicações, etc.)** - quando um segmento de um cromossoma apresenta-se duplicado, triplicado, etc.



de proteína  $\alpha$ -sinucleína na *SNpc* estão elevados, e disfunções no SUP conduzem à acumulação de  $\alpha$ -sinucleína na DP. <sup>36, 62</sup>

#### ✚ LRRK2 (PARK8)

Mutações no gene LRRK2 (*leucine-rich repeat serine/threonine-protein kinase 2*) que aumentem a sua função têm sido identificadas como a causa mais comum da DP hereditário, representando até 10% dos casos de DP autossómicas dominantes familiares. <sup>11,15,18</sup>

LRRK2, localizada no cromossoma 12, é um gene com 51 exões que codifica uma proteína com 2527 aminoácidos e com múltiplos domínios conservados. A função fisiológica da LRRK2 ainda não é clara, mas parece interagir com proteínas centrais na DP, como a proteína parkina. <sup>11, 65, 69</sup>

Após uma extensa investigação do LRRK2 durante vários anos, foram identificadas 5 mutações possivelmente patogénicas (C1441C/G/H, Y1699C, G2019S, I2020T e G2385R) e muitas outras em que o potencial patogénico não foi identificado. G2019S, que ocorre no domínio cinase, é a mutação mais frequente e causa um aumento da atividade cinase da proteína que, por sua vez, induz a sinalização de cascatas patogénicas. <sup>15,65</sup>

### 2.4.9.2. MUTAÇÕES AUTOSSÓMICAS RECESSIVAS RELACIONADAS COM A DP

#### ✚ Parkina (PARK2)

Mutações no gene Parkina, que causam uma diminuição da sua expressão, estão associadas à DP autossómica recessiva, constituindo a causa mais comum de DP de início precoce. Os doentes com mutação neste gene apresentam uma progressão lenta da doença, manifestam sinais motores típicos da DP e respondem bem ao tratamento com levodopa. <sup>15,69</sup> Patologicamente, estas mutações estão relacionadas com uma perda de neurónios na *SNpc*, mas não estão tipicamente associadas a corpos de *Lewy*. <sup>20,69</sup>

Parkina é um gene localizado no cromossoma 6q25.2-q27 que codifica para uma proteína de 465 aminoácidos. <sup>20,69</sup> Esta proteína funciona como uma proteína *ligase* de ubiquitina E3 no processo de ubiquitinação, uma forma de modificação pós-tradução



que conjuga a ubiquitina a resíduos de lisina de proteínas alvo, marcando-as para sofrerem degradação pelo proteassoma.<sup>11,15,20</sup> Desta forma, a Parkina contribui para a remoção de proteínas deformadas e prejudiciais. A ubiquitinação mediada por Parkina também é necessária para promover a degradação de várias proteínas da membrana mitocondrial externa, uma etapa que precede a remoção de mitocôndrias disfuncionais.<sup>20,62</sup>

As alterações neste gene incluem mutações pontuais, inserções e deleções.<sup>69</sup> A frequência de mutações de Parkina diminui com o aumento da idade no início da doença, sendo raras em doentes com início tardio da doença.<sup>65</sup> A deleção<sup>(§§)</sup> do exão 3 é a mutação mais frequente e a mutação *missense* C924T no exão 7 é a segunda mais frequente.<sup>20,62</sup>

#### DJ-1 (PARK7)

Mutações no gene DJ-1, que diminuem a função da proteína codificada, estão associadas a DP autossómica recessiva com início precoce. É um oncogene constituído por 6 exões que está presente no citoplasma e mitocôndrias dos neurónios.<sup>38</sup>

Estudos mostram que a perda de função da proteína DJ-1 torna as células neuronais mais vulneráveis ao stresse oxidativo, enquanto o excesso de expressão de DJ-1 oferece proteção celular. Estes resultados sugerem que o DJ-1 pode ser uma proteína anti-oxidante na medida em que elimina peróxido de hidrogénio e protege as células contra a morte celular induzida pelo peróxido de hidrogénio e desempenha um papel na regulação da expressão ou estabilidade das proteínas mitocondriais SLC25A14 e SLC25A27 em neurónios dopaminérgicos da *SNpc* e atenua o estresse oxidativo induzido pela entrada de cálcio nos neurónios.<sup>38,70</sup> Até à data foram identificadas duas alterações neste gene, uma deleção e uma substituição (L166P), que conduzem à perda da função da proteína codificada.<sup>65</sup>

#### PINK1 (PARK6)

Mutações no gene PINK1 constituem a segunda maior causa de DP autossómica recessiva, com uma frequência entre 1-9%, variável consoante a etnia.<sup>65,71</sup> O gene está

---

<sup>(§§)</sup> **Deleção** - um ou mais pares de bases que falta a uma sequência de nucleótidos de uma molécula de ADN;



localizado no cromossoma 1p35-p36 e codifica para a proteína “*PTEN-induced putative kinase*”, que contem um domínio cinase serina-treonina conservado.<sup>65</sup>

A função de PINK1 ainda não foi totalmente revelada mas pensa-se que tem um efeito protetor sobre os neurónios contra o stresse oxidativo, potencialmente por fosforilação de proteínas mitocondriais.<sup>65</sup> Interessantemente, estudos recentes fornecem evidências que as proteínas Parkina e PINK participam numa via comum na eliminação de mitocôndrias danificadas.<sup>34, 62, 71</sup>

As mutações no gene PINK1 incluem mutações *missense*, *nonsense*<sup>(\*\*\*)</sup> e deleções e foram encontradas em populações de origens geográficas, tais como Europa, Ásia e América do Norte.<sup>65</sup> Constata-se ainda que a maior parte destas mutações afetam o domínio cinase da proteína, enfatizando o papel da atividade enzimática da PINK1 na patogénia da DP.<sup>71</sup>

## 2.5. MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DA DOENÇA DE PARKINSON

Diagnosticar a doença de Parkinson pode ser muito complicado. Isto acontece porque existem outras condições patológicas com manifestações clínicas semelhantes à DP, mas não o são. Tome-se como exemplo a doença do tremor essencial. Então, para um diagnóstico correto da DP, é fundamental que o médico observe todas as manifestações clínicas que o doente apresenta e que obtenha toda a história clínica do doente.<sup>11</sup>

As manifestações motoras características da DP incluem o tremor, acinesia, rigidez muscular e alteração dos reflexos posturais. Na maioria dos doentes, o tremor é a manifestação inicial. Ocorre de forma unilateral e só numa fase mais avançada da doença é que se manifesta de forma bilateral. É geralmente um tremor de repouso com uma frequência de 4-6 Hz, atingindo sobretudo os membros superiores (mão: “contar moedas”). Aumenta de amplitude com a ansiedade e desaparece durante o sono e execução de movimentos propositados. Há ainda doentes que apresentam tremor postural (frequência 6-8 Hz).<sup>11, 29, 72</sup>

A rigidez muscular é caracterizada por um aumento da resistência à mobilização passiva dos membros e tronco, tanto nos músculos flexores e extensores. Com efeito,

---

(\*\*\*) **mutações nonsense** – determinado codão de resíduo de aminoácido é substituído por um codão de terminação (por exemplo na mutação UGG → UGA).



contribui para a postura em flexão que os doentes vão adquirindo e que se vai agravando com o decurso da doença.<sup>18,69,72</sup>

O termo acinesia significa a dificuldade no movimento e engloba várias manifestações clínicas conhecidas como “pobreza dos movimentos”. Uma das manifestações é a hipocinesia que consiste na redução da amplitude e frequência dos movimentos espontâneos, sendo mais acentuada em movimentos automáticos. A bradicinesia é outro tipo de acinesia que se caracteriza por redução da velocidade quando se inicia e executa um movimento. Como ambas estão associadas contribuem, entre outras, para as perturbações da marcha (em pequenos passos – festinação - e com diminuição do balanceio dos braços), da escrita (micrografia) e ausência de associação de movimentos do dia-a-dia, dificultando movimento “simples” como por exemplo o levantar de uma cadeira.<sup>11, 29, 72</sup>

A alteração dos reflexos posturais, que surge geralmente mais tarde, conduz a uma dificuldade em recuperar a posição de equilíbrio. Por exemplo, o doente é puxado para trás e tem dificuldade em manter-se em pé, podendo cair em bloco sobre o observador; ao caminhar os doente desequilibra-se nas “voltas”. Estas manifestações clínicas são as mais incapacitantes da doença.<sup>72</sup>

Numa fase mais avançada da doença pode ocorrer episódios de congelação da marcha no qual os pés do doente parecem estar colados ao chão. Este fenómeno acontece geralmente em portas, freios ou elevadores e, por vezes, pode ser superado através da visualização de uma obstrução ao passar.<sup>72</sup>

Para além das manifestações apresentadas acima, os doentes também podem apresentar sintomas não motores. Estes cada vez mais adquirem uma maior importância pois têm um grande impacto na qualidade de vida dos doentes. Estes sintomas estão relacionados com os processos da doença, integrando o quadro clínico da mesma e alguns podem surgir anos antes dos sintomas motores, a chamada “fase pré-motora” da DP. Alguns dos sintomas não motores mais importantes da DP são a astenia, obstipação, perda de peso, dificuldades urinárias, dores, parestesias. Com alguma frequência os doentes apresentam perturbações do sono e depressão, e mais raramente alteração das funções cognitivas.<sup>15,72</sup>



## 2.6. AVALIAÇÃO CLÍNICA E DIAGNÓSTICO

O diagnóstico da doença de Parkinson é baseado em critérios clínicos, uma vez que, atualmente, não há nenhum teste ou biomarcador que consiga revelar o diagnóstico com certeza. Na prática clínica, este diagnóstico é tipicamente baseado na presença de uma combinação de manifestações clínicas motoras, na ausência de critérios que sugere outra patologia e na resposta ao tratamento com levodopa.<sup>11,15,18,20</sup>

A primeira fase do diagnóstico passa pela identificação de todas as manifestações clínicas características da DP, assim como perceber quando estas começaram.<sup>11</sup> O médico, mesmo desde a primeira consulta, deve estar atento ao comportamento do doente, tentando identificar manifestações típicas da DP como a bradicinesia. Também pode pedir ao doente para executar algumas tarefas como por exemplo levantar-se de uma cadeira para ver se o doente apresenta alguma dificuldade; andar por uma distância curta para tentar identificar sinais de rigidez; ou mesmo pedir ao doente para assinar o nome para notar sinais de micrografia. Nesta etapa, o médico deve identificar pelo menos 2 das características típicas da DP (tabela 2).<sup>11</sup>

**Tabela 2 - Características típicas da DP**

**Bradicinesia**

Pelo menos uma das seguintes características:

- Rigidez Muscular
- Tremor de repouso
- Instabilidade postural

Fonte: adaptado (73)

Numa segunda fase do processo de diagnóstico são averiguadas e excluídas outras causas para o parkinsonismo.<sup>15</sup> É essencial a recolha cuidadosa da história clínica completa do doente, incluindo a revisão metódica do consumo atual e prévio de fármacos, sobretudo antipsicóticos, e possível exposição a substâncias tóxicas.<sup>11, 15</sup> A informação obtida nesta fase permite ao médico excluir outras doenças em que as manifestações clínicas se assemelhem com a doença de Parkinson. Alguns critérios de exclusão estão indicados na tabela 3.<sup>4</sup>



**Tabela 3 – Sinais clínicos que devem alertar para a possibilidade de um diagnóstico que não Doença de Parkinson**

Simetria dos sintomas, principalmente no início da doença;
Alterações posturais ou quedas frequentes nas fases iniciais, principalmente no primeiro ano da doença;
Agravamento clínico rápido da doença;
Ausência de tremor (ao longo de todo o curso da doença);
Resposta clínica insuficiente à levodopa em dose adequada;
Perda de autonomia marcada nas fases iniciais da doença;
Alterações nos movimentos oculares;
Demência ou psicose grave nas fases iniciais, principalmente no primeiro ano da doença.

Fonte: adaptado <sup>(15)</sup>

Segue-se um exame neurológico detalhado e a pesquisa de alterações sistêmicas que passam a sugerir a causa do parkinsonismo. Estes exames complementares auxiliam no rastreio de causas secundárias para o parkinsonismo e os exames de neuro-imagem estrutural cerebral permitem a exclusão de lesões macroestruturais que possam ser a causa ou contribuir para o quadro clínico, sendo possível, por vezes, encontrar sinais sugestivos da etiologia do parkinsonismo na ressonância magnética cerebral. <sup>11, 15</sup> O SPECT-ioflupano (DaTscan®) pode confirmar o diagnóstico de parkinsonismo degenerativo, mas não indica a etiologia específica do mesmo. O custo deste exame é extremamente elevado, pelo que apenas em circunstâncias bem fundamentadas deverá ser solicitado, de preferência por um perito em Doenças do Movimento. <sup>11, 15</sup>

Por fim, são identificados sinais que suportam positivamente o diagnóstico de DP, tal como explicitado na tabela 4.

**Tabela 4 – Critérios positivos que suportam o diagnóstico de Doença de Parkinson**

Início unilateral da doença
Presença do tremor de repouso
Doença progressiva
Excelente resposta à levodopa
Resposta à levodopa durante 5 anos ou mais
Curso clínico de 10 anos ou mais

Fonte: adaptado <sup>(73)</sup>



Esta é a metodologia de diagnóstico expressa no *UK Parkinson's Disease Society Brain Bank Clinical Criteria*, que apresenta sensibilidade<sup>(†††)</sup> de 90.4% e especificidade<sup>(†††)</sup> de 98.1%.<sup>15</sup>

## 2.7. FATORES DE PROGNÓSTICO

Com o desenvolvimento de novos tratamentos foi necessária a formulação de escalas para avaliar a doença composta de cinco estágios. Essas escalas avaliam desde a condição clínica geral, incapacidades, função motora e mental até a qualidade de vida dos doentes. Uma das escalas utilizadas é a escala de Hoehn e Yahr criada em 1967 (Tabela 5).<sup>1, 14</sup>

**Tabela 5 - Escala de Hoehn e Yahr**

Estados	Caraterísticas
0	Nenhum sinal da Doença;
1	Doença unilateral;
1,5	Envolvimento unilateral e axial;
2	Doença bilateral sem deficit de equilíbrio;
2,5	Doença bilateral leve, com recuperação no “teste do empurrão”;
3	Doença bilateral leve a moderada; Alguma instabilidade postural; Capacidade de viver independente;
4	Incapacidade grave; Ainda capaz de caminhar ou permanecer de pé com ajuda;
5	Forçado a estar numa cama ou cadeira de rodas, exceto com ajuda.

Fonte : adaptado <sup>(1)</sup>

Outra escala utilizada é a “Unified Parkinson’s Disease Rating Scale” (UPDRS). É uma ferramenta de avaliação padronizada que facilita o registo da progressão da doença e da resposta à terapêutica que pode auxiliar na decisão da terapêutica a implementar e no registo detalhado da progressão da doença. Esta escala está dividida em 4 partes e

<sup>(†††)</sup> **Sensibilidade** - é a capacidade que o teste diagnóstico/triagem apresenta de detetar os indivíduos verdadeiramente positivos, ou seja, de diagnosticar corretamente os doentes.

<sup>(†††)</sup> **Especificidade** - é a capacidade que o teste diagnóstico/triagem tem de detetar os verdadeiros negativos, isto é, de diagnosticar corretamente os indivíduos que não têm a doença.



mede os efeitos mentais do doente, as limitações nas atividades diárias, o comprometimento motor e a resposta ao tratamento das manifestações e sintomas da doença.<sup>14,16,20</sup>

A UPDRS foi originalmente desenvolvida em 1980 e tornou-se a escala de avaliação clínica mais amplamente usada na DP. No entanto, em 2001, o “Movement Disorder Society” (MDS) patrocinou uma crítica à UPDRS, na qual elogiou as vantagens da escala, mas também identificou uma série de equívocos, fraquezas e áreas que necessitam de ser incluídas na escala de modo a refletir os atuais avanços científicos. Então desenvolveram uma nova versão da UPDRS, designada de MDS-UPDRS, que mantêm a estrutura de quatro partes da versão original, mas que resolve os problemas identificados e, especialmente, incorpora uma série de problemas clinicamente relevantes relacionados com a DP que estavam mal interpretados na versão original.<sup>74</sup>

## 2.8. TRATAMENTO DA DOENÇA DE PARKINSON

Não existe uma cura para a DP e, até à data, nenhuma terapêutica demonstrou capacidade clara para atrasar a progressão da doença. Perante isto, o tratamento atual tem como objetivo o controle das manifestações clínicas e sintomas que os doentes apresentam (tratamento sintomático).<sup>14-16</sup>

Atualmente a terapêutica farmacológica inclui a levodopa, agonistas dopaminérgicos, inibidores da monoamina-oxidase B (IMAO-B) e da catecol-O-metil-transferase (COMT) e anticolinérgicos. Em casos mais avançados da doença poderá ser necessário optar por medidas mais invasivas como a cirurgia. Ainda podem ser implementadas medidas não farmacológicas, como por exemplo a fisioterapia.<sup>20</sup>

Considera-se que um doente com DP se encontra num estágio inicial da doença quando manifesta os sintomas à menos de 5 anos ou quando não desenvolve complicações motoras derivadas do uso de levodopa.<sup>20</sup>

Geralmente, o tratamento da DP é iniciado com a levodopa, quando há uma necessidade de melhorar a deficiência motora, em doentes com idade avançada ou em doentes que apresentam demência ou com outras complicações. Já doentes que não apresentem uma desabilidade motora muito acentuada ou quando se pretende diminuir o



risco de desenvolvimento de complicação motoras resultantes da terapêutica com levodopa, a terapêutica deve ser iniciada com AD.<sup>14,20</sup>

A DP numa fase tardia inclui doentes que já estão a ser tratados com levodopa/carbidopa mas que desenvolveram complicações motoras. Após 5 anos de tratamento com levodopa, cerca de 40 % dos doentes desenvolvem flutuações motoras e discinesia. Estas complicações podem ser tratadas com administração de agonistas da DA, inibidores MAO-B ou da COMT. Nesta fase pode ainda ser necessário recorrer a técnicas mais invasivas, como por exemplo a cirurgia.<sup>14,20</sup>

Além do tratamento farmacológico, é necessário acompanhamento de outros profissionais, como fisioterapeutas, psicólogos, nutricionistas e o constante acompanhamento de um médico neurologista, formando um tratamento multidisciplinar que ajudará os portadores a manterem uma melhor qualidade de vida.<sup>1</sup>

### 2.8.1. TRATAMENTO FARMACOLÓGICO

#### Levodopa

Como referido anteriormente, a deficiência de dopamina (DA) é a principal causa de DP, pelo que o tratamento farmacológico da doença é principalmente focado na restauração dos níveis deste neurotransmissor. Então, testaram a administração de DA, por via oral e injetável, como terapêutica da DP. No entanto, esta intervenção terapêutica não apresentou qualquer efeito no controlo das manifestações motoras. Rapidamente perceberam que a razão da falha terapêutica se devia à DA não atravessar a barreira hematoencefálica. Mais tarde descobriram que a levodopa, um precursor da DA, é capaz de ultrapassar esta dificuldade e começaram a testá-la como uma possível terapêutica na DP. Em 1960 a levodopa foi introduzida como arsenal terapêutico para a DP.<sup>11</sup>

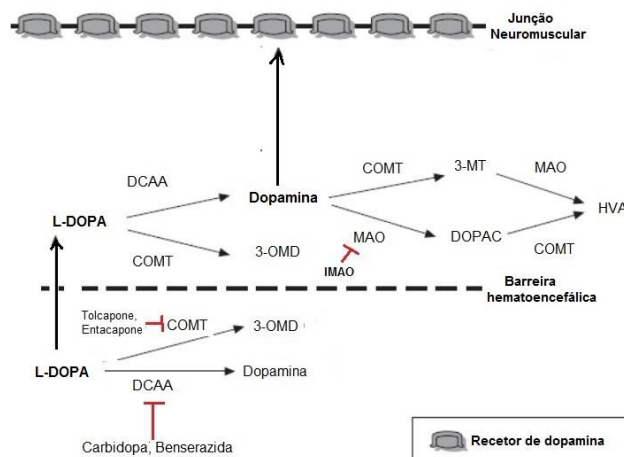
A levodopa (L-DOPA ou L-3,4-diidroxifenilalanina) é o precursor metabólico da DA e isoladamente é o fármaco mais eficaz para o tratamento da DP. Pode ser administrada por via oral e, neste caso, é rapidamente absorvida no intestino delgado pelo sistema transportador dos aminoácidos aromáticos. Também são estes transportadores que possibilitam a passagem da levodopa para o cérebro. Uma vez no cérebro, a levodopa é convertida a DA por descarboxilação. Esta reação ocorre



principalmente dentro das terminações pré-sinápticas dos neurónios dopaminérgicos e permite restabelecer os níveis de DA no corpo estriado.<sup>13</sup>

Na prática clínica, a levodopa é quase sempre administrada em conjunto com um inibidor da enzima descarboxilase, como a carbidopa ou benserazida que, por não penetrarem no SNC, apenas atuam na periferia. Se a levodopa for administrada isoladamente, mais de 95% do fármaco é rapidamente convertido a DA na periferia (trato gastrointestinal, fígado, etc.) por ação de uma enzima descarboxilase, fazendo com que apenas uma pequena porção de fármaco inalterado atravesse a barreira hematoencefálica para o corpo estriado (figura 16).<sup>11, 13, 14</sup> A associação de um inibidor da descarboxilase vai permitir um melhor aproveitamento do fármaco, possibilitando uma redução da dose de cerca de 80%. Vai permitir também, em grande medida, diminuir os efeitos colaterais periféricos deste fármaco (náuseas, vômitos, taquicardia, hipotensão...) ao evitar a sua transformação periférica em DA.<sup>11, 13,</sup>

Apesar da associação da levodopa com um inibidor da sua conversão periférica, o fármaco ainda pode ser metabolizado na periferia pela COMT, originando o metabolito inerte 3-O-metildopa (3-OMD). Consequentemente, a quantidade de fármaco que atinge o corpo estriado é menor. Para minimizar este efeito, pode-se associar um inibidor da COMT – tolcapona e entacapona.<sup>11, 12, 13, 75</sup>



**Figura 16 – Estratégias terapêuticas para aumentar a eficácia da levodopa na Doença de Parkinson**

**Abreviaturas:** L-DOPA, 3,4- dihidroxifenilalanina; DOPAC, 3,4 - ácido dihidroxifenilacético; HVA, ácido homovanílico; COMT, catecol-O-metil transferase; MAO, monoaminoxidase; DCAA, Descarboxilase de aminoácido L-aromáticos; 3-OMD, 3-O-metildopa ; 3-MT, 3-metoxitiramina, IMAO, inibidores da monoamina oxidase; Ach, acetilcolina. **Fonte:** <sup>(12)</sup>



Sem dúvida que a levodopa é o fármaco mais eficaz no tratamento da DP e cuja descoberta representou o grande salto qualitativo no tratamento da DP. No entanto, a levodopa está associada ao aparecimento de complicações motoras, incluindo discinesias de pico de dose (movimentos involuntários coreico-distônicos que surgem no período de resposta à terapêutica dopaminérgica, ou período *on*), *wearing-off* (agravamento motor previsível antes da toma seguinte), *delayed-on* (aumento do tempo para o início do benefício clínico), *no-on* (inexistência de resposta à medicação dopaminérgica) e períodos *off* súbitos. Estas complicações diminuem marcadamente a qualidade de vida dos doentes e surgem geralmente ao fim de poucos anos do início da terapêutica dopaminérgica.<sup>11-13,15</sup>

Estas flutuações na concentração plasmática de curto tempo de ação podem produzir um impacto direto no corpo estriado, fazendo com que os recetores de DA sejam expostos a níveis alternadamente elevados e baixos de DA no corpo estriado. Pensa-se que esta estimulação pulsátil dos recetores dopaminérgicos seja um fator chave no desenvolvimento destas complicações através da indução de alterações na plasticidade neuronal do corpo estriado e da desregulação de genes e proteínas.<sup>12</sup>

Nos estágios iniciais da doença, a intensidade da melhora do tremor, da rigidez e da bradicinesia pode ser praticamente total. Na DP em estágio inicial, a duração dos efeitos benéficos da levodopa pode ser maior que o tempo de permanência do fármaco no plasma, sugerindo que o sistema dopaminérgico *nigroestriatal* conserve alguma capacidade de armazenar e liberar dopamina. A limitação principal do uso prolongado da levodopa é que, com a evolução da doença, essa capacidade “tampão” aparente se perde e o estado motor do doente pode flutuar de modo drástico a cada dose de levodopa, condição conhecida como complicações motoras da levodopa.<sup>12, 13</sup>

Intuitivamente, é de esperar que um modo de administração da estimulação dopaminérgica menos pulsátil poderia diminuir a incidência das complicações motoras. De fato, quando os níveis de levodopa são mantidos constantes por meio de difusão intravenosa, as discinesias e as flutuações são significativamente reduzidas e a melhora clínica é mantida por vários dias depois de reiniciar o tratamento com levodopa oral.<sup>12, 13</sup> Outra forma de diminuir as discinesias é através da associação da levodopa a um inibidor da COMT e/ou da MAO-B, uma vez que estes aumentam o tempo de permanência do fármaco no corpo estriado.<sup>12</sup>



Perante tudo isto, a terapêutica com L-DOPA deve ser iniciada apenas quando os sintomas interferem com a atividade diária e as outras terapêuticas possíveis se revelam ineficazes. Deve ser iniciada com doses baixas que se vão progressivamente subindo até se obter uma boa resposta com um mínimo de efeitos secundários. Além disso, as tomas diárias devem ser afastadas das refeições ricas em proteínas para evitar a competição na absorção intestinal.<sup>12</sup>

Além das complicações motoras e das náuseas, vários outros efeitos podem ser associados ao tratamento com levodopa. Um dos mais frequentes e incómodos é a indução de alucinações e confusão, principalmente nos doentes idosos ou com disfunção cognitiva pré-existente. Esses efeitos adversos geralmente limitam a capacidade de controlar adequadamente os sintomas do parkinsonismo. Os anti-psicóticos convencionais são eficazes no controle da psicose induzida pela levodopa, mas podem causar agravamento acentuado do parkinsonismo, principalmente por ações no recetor D2 da dopamina. A clozapina e a quetiapina são os dois fármacos aparentemente mais eficazes e mais bem tolerados pelos doentes com DP avançada.<sup>13</sup>

#### Agonistas dos recetores da Dopamina

Uma alternativa para o tratamento com levodopa é utilizar fármacos que estimulam diretamente os recetores dopaminérgicos localizados nos neurónios pós-sinápticos do corpo estriado, chamados agonistas dopaminérgicos (AD). Esta terapêutica tem várias vantagens potenciais em relação à levodopa, uma vez que a sua atividade não depende da capacidade funcional dos neurónios *nigroestriatal* nem da ativação enzimática.<sup>13, 76</sup> Podem ser utilizados na fase inicial da doença, permitindo atrasar a introdução da L-DOPA e adiar, deste modo, o aparecimento dos efeitos adversos da terapêutica a longo prazo com este fármaco. Ou então são utilizados em doentes que representam complicações à terapêutica com levodopa. No entanto, nenhum dos AD é tão potente quanto a levodopa no controle dos sintomas parkinsonianos.<sup>11, 20, 13</sup> Por fim estes fármacos podem modificar a evolução da DP porque reduzem a liberação endógena deste neurotransmissor, bem como a necessidade de administrar levodopa exógena e, deste modo, diminuem a produção dos radicais.<sup>13</sup>

Atualmente existem duas classes de AD disponíveis para uso clínico na DP: AD ergolínicos e AD não ergolínicos (tabela 6). Os doentes que tomam esta medicação



devem começar por doses muito baixas e aumentar gradualmente até atingir a dose mínima eficaz, de modo a atenuar os efeitos adversos. Este processo de titulação pode demorar várias semanas, dependendo do AD em questão. Geralmente, os AD mais recentes (ropinirol e pramipexol) têm um menor tempo de titulação do que os mais antigos (bromocriptina e pergolida).<sup>13</sup>

**Tabela 6 – Classes dos Agonistas Dopaminérgicos**

Agonistas dopaminérgicos Ergolínicos	Agonistas dopaminérgicos Não ergolínicos
Bromocriptina	Apomorfina
Lisurida	Pramipexole
Pergolida	Ropinirol
Cabergolina	Piribedil

Fonte: <sup>(76)</sup>

Uma desvantagem do uso dos AD é o facto de estarem geralmente associados a mais efeitos adversos que a levodopa.<sup>76</sup> Dooley e Makhamo (1998) fizeram um levantamento dos mais comuns efeitos adversos da pramipexole em doentes com Doença de Parkinson. Numa fase inicial da doença, os doentes tratados com pramipexole apresentavam náuseas, vertigens, insónias, astenia e alucinações. Em doentes com DP avançada, os efeitos adversos mais comuns são vertigens, alucinações, anormalidades no sono, confusão, astenia, distonia, hipertonia, anormalidade na marcha, amnésia, frequência urinária e xerostomia<sup>(§§§)</sup>. Os autores concluíram com base neste levantamento que o Pramipexole é eficaz como adjuvante na terapia de Levodopa em doentes com DP avançada mas o seu efeito benéfico deve ser calculado devido à grande capacidade de induzir efeitos adversos.<sup>75</sup>

#### Inibidores da catecol-O-metiltransferase

Os fármacos disponíveis para o tratamento da DP incluem os inibidores da enzima COMT, que junto com a MAO, metaboliza a levodopa e a DA. A COMT transfere um grupo metilo do doador S-adenosil-L-metionina, formando um composto farmacologicamente inativo (3-O-metil-DOPA). Quando a levodopa é administrada por via oral, a maior parte do fármaco é metabolizado e não chega ao cérebro. Este pode ser convertido pela descarboxilase de aminoácidos L-aromáticos (DCAA) em DA, ou é metabolizado, a nível intestinal e hepático, pela COMT no metabolito 3-OMD. A

<sup>(§§§)</sup> Xerostomia – secura da boca ou boca seca.



associação da levodopa com a carbidopa reduz a formação periférica de dopamina, mas aumenta a fração de levodopa que é metilada pela COMT. Então é vantajoso associar também um inibidor da COMT, por exemplo a entacapona ou a tolcapona, para bloquear a conversão periférica de levodopa em 3-OMD. Assim, consegue-se ampliar a meia-vida a meia-vida plasmática do fármaco e a fração de fármaco que chega ao SNC<sup>13</sup>. Assim, pode-se utilizar um inibidor da COMT numa fase tardia da doença com a finalidade de diminuir as flutuações plasmáticas da Levodopa, tornando o tratamento com mais eficiente.<sup>14,20,75</sup>

#### Inibidores seletivos da MAO-B (IMAO-B)

As monoaminas são oxidadas por dois tipos de isoenzimas da MAO (MAO-A e MAO-B). A MAO-A metaboliza principalmente noradrenalina e serotonina; a MAO-B metaboliza principalmente a dopamina, sendo mais predominante no corpo estriado. Perante isto, começaram a utilizar como arsenal terapêutico da DP os inibidores seletivos da MAO-B, mais propriamente a selegilina e a rasagilina.<sup>12,14,20,75</sup>

Estas substâncias, quando usadas nas doses recomendadas, inibem irreversível e seletivamente a enzima MAO-B e produzem efeitos benéficos modestos nos sintomas da DP. Ao contrário dos inibidores inespecíficos da MAO (como a fenelzina, a tranicpromina e a isocarboxazida), os inibidores seletivos da MAO-B não inibem substancialmente o metabolismo periférico das catecolaminas.<sup>13</sup>

Supõe-se que a eficácia da selegilina no tratamento do parkinsonismo, esteja ligada a propriedades de retardar a degradação da dopamina no corpo estriado. A fim de diminuir o efeito de flutuações causadas pela Levodopa, utiliza-se a selegilina como adjuvante no tratamento, uma vez que ela intensifica e prolonga os efeitos antiparkinsonianos da levodopa, possibilitando assim a redução da sua dose. Porém, a metabolização da selegilina gera metabolitos como a anfetamina que pode aumentar os efeitos adversos provocados pela L-dopa (insónia e ansiedade).<sup>13</sup>

Ao contrário da selegilina, a rasagilina não gera metabolitos indesejáveis de anfetamina. Nos estudos randomizados e controlados, a monoterapia com rasagilina foi eficaz na DP em fase inicial e, quando utilizada com a levodopa, reduziu significativamente os sintomas de “desligamento” associados à levodopa nos doentes com DP avançada.<sup>13</sup>



### Antagonistas dos recetores muscarínicos

Os antagonistas dos recetores muscarínicos da acetilcolina foram amplamente utilizados no tratamento da DP, antes da descoberta da levodopa.<sup>13</sup> A sua utilização visa restabelecer o equilíbrio DA/Ach no estriado. Na DP há uma diminuição mais acentuada dos níveis de DA que conduz a uma menor inibição dos neurónios colinérgicos e consequente predomínio relativo da sua atividade. Os anticolinérgicos podem aliviar o tremor e a sialorreia, mas a sua eficácia na rigidez e bradicinesia é praticamente nula. Podem ser úteis nas fases iniciais da doença quando o tremor é um sintoma importante.<sup>13</sup>

Os fármacos anticolinérgicos usados atualmente no tratamento da DP incluem o trihexifenidil (Artane\*), o biperideno (Akineton\*) e a benztropina (Cogentin\*).<sup>13</sup>

Todos estes fármacos possuem atividade antiparkinsoniana modesta e são utilizados apenas no tratamento da DP em estágio inicial ou como coadjuvantes ao tratamento dopaminérgico. Os efeitos adversos são atribuídos às suas propriedades anticolinérgicas. As principais contraindicações à sua utilização são o glaucoma e o adenoma da próstata. Os efeitos secundários mais comuns são: secura da boca, náuseas, vômitos, obstipação e retenção urinária, e ainda perturbações amnésicas, alucinações e confusão mental (sobretudo no idoso).<sup>13</sup>

### Amantadina

É um antiviral usado para a profilaxia e tratamento de influenza A, que também possui atividade antiparkinsoniana. A amantadina parece alterar a liberação de DA no estriado, tem propriedades anticolinérgicas e bloqueia os recetores de glutamato do tipo NMDA. Contudo, ainda não está bem claro quais dos efeitos farmacológicos da amantadina são responsáveis pelas ações antiparkinsonianas. De qualquer forma, seus efeitos na DP são modestos e a amantadina é usada como tratamento inicial para doentes com manifestações brandas. Esse fármaco também pode ser útil como coadjuvante para doentes tratados com levodopa e que apresentam flutuações dependentes da dose e discinesias.<sup>13, 14</sup>



### 2.8.2. TRATAMENTO NEUROPROTETOR PARA DOENÇA DE PARKINSON

A terapia neuroprotetora da DP é ainda teórica, mas baseia-se no conceito de que os neurónios dopaminérgicos em risco na *SN* podem, de algum modo, ser protegidos do complexo processo degenerativo que causa a morte neuronal prematura e consequente depleção de dopamina no corpo estriado. Então, seria desejável desenvolver um tratamento que modificasse a degeneração progressiva responsável pela DP, em vez de simplesmente controlar seus sintomas. Hoje, as estratégias de pesquisa baseiam-se nos mecanismos patogénicos anteriormente descritos (por ex. metabolismo energético e stresse oxidativo) e com as descobertas relacionadas a nível genético.<sup>13</sup>

Vários potenciais agentes neuroprotetores têm mostrado alguma promessa em animais e/ou seres humanos e são submetidos a uma investigação mais aprofundada. São exemplo os IMAO-B (selegilina e rasagilina), os AD e moléculas que aumentam o metabolismo energético celular, como a coenzima Q10 (um cofator necessário à cadeia de transporte de eletrões nas mitocôndrias).<sup>76</sup>

### 2.8.3. TRATAMENTO DOS SINTOMAS NÃO MOTORES

Os dados baseados na evidência relativamente ao tratamento dos sintomas não motores (SNM) são menos sólidos, à exceção da demência. A terapêutica pode ser bastante difícil, até porque os fármacos dirigidos aos sintomas motores podem agravar alguns dos SNM, nomeadamente e a psicose. Sempre que possível devem usar-se medidas terapêuticas não farmacológicas e otimizar a terapêutica dos sintomas motores. Algumas intervenções farmacológicas possíveis nos SNM estão apresentadas na tabela 7.<sup>14, 15, 77</sup>

**Tabela 7 - Algumas intervenções farmacológicas possíveis nos SNM**

Sintoma não motor	Intervenção farmacológica
Insónia	Zolpidem, Trazodone, Clonazepam;
Sintomas psicóticos	Quetiapina ou clozapina, e/ou redução da medicação dopaminérgica e/ou anticolinérgica;
Depressão	Antidepressivos (inibidores seletivos da recaptção da serotonina, tricíclicos);
Demência	Inibidores das colinesterases (sobretudo rivastigmina ou memantina);
Hiperreflexia do detrusor	Cloreto de tróspio, oxibutinina;



Obstipação	Laxantes (por ex. bisacodilo);
Fadiga	selegilina ou amantadina;
Disfunção eréctil	Inibidores da fosfodiesterase 5 (sildenafil, vardenafil, tadalafil), redução ou suspensão de fármacos serotoninérgicos (por ex. antidepressivos);
Hipotensão ortostática	Deve-se parar com os medicamentos anti-hipertensivos que o doente tomar e elevar a cabeceira da cama do doente; Se estas medidas não ajudarem deve-se considerar a utilização de fludrocortisona.

Fonte: (14, 15, 77)

#### 2.8.4. TRATAMENTO NÃO FARMACOLÓGICO

As intervenções não farmacológicas são imperativas num bom controlo em doentes com DP - estas incluem a educação do doente e familiares, serviços de apoio (grupos de apoio e serviços de reabilitação) e exercícios. Conselhos nutricionais também são frequentemente úteis e os doentes precisam de ser ensinados para a possível competição de aminoácidos provenientes da dieta com a levodopa para absorção no trato gastrointestinal e para o transporte para o cérebro, potencialmente causando uma resposta imprevisível com a terapia com levodopa. É prudente avisar os doentes para evitar uma refeição rica em proteínas 45 min antes e 30 min depois de tomar a levodopa.<sup>12, 20</sup>

#### 2.8.5. TERAPÊUTICA CIRÚRGICA

A cirurgia na DP tem indicações específicas, quando a resposta à terapêutica farmacológica não é satisfatória, permitindo aliviar alguns dos sintomas da doença ou das complicações que surgem no decurso da terapêutica com L-DOPA. Esta técnica de tratamento está a tornar-se mais comum devido ao avanço das técnicas de imagem cerebral (Tomografia computadorizada e Ressonância Magnética). No entanto, é preciso ter em conta que a terapia será aceitável para os doentes só se os benefícios sintomáticos são maiores do que os riscos cirúrgicos inerentes e, se reduz de forma mais eficaz do que o tratamento medicamentoso ideal o peso da doença.<sup>20, 14</sup>

Hoje em dia são utilizadas técnicas de cirurgia altamente diferenciadas que permitem provocar lesões em áreas muito precisas dos núcleos da base (Palidotomia e



talamotomia) ou estimular estruturas cerebrais relacionadas com a doença, como a estimulação cerebral profunda (ECP).<sup>11, 20, 77</sup>

#### Palidotomia e talamotomia

A realização da talamotomia (destruição das células selecionadas no tálamo) mostrou aliviar principalmente os tremores associados à DP.<sup>11</sup> A palidotomia (destruição das células selecionadas no globo pálido) mostrou ser mais eficaz em doentes com acinesia e rigidez muscular.<sup>1, 11, 78</sup>

#### Estimulação Cerebral Profunda

Talvez a cirurgia de Parkinson mais comum realizada atualmente é chamada de estimulação cerebral profunda. Esta técnica desenvolvida a partir da compreensão de que estimular eletricamente as células do cérebro poderia controlar ou ajustar a sua ação, apresenta a vantagem de não provocar lesões cerebrais definitivas e de poder ser realizada bilateralmente.<sup>1, 11, 78</sup>

O NST é o alvo mais frequente para a Estimulação Cerebral Profunda (ECP). Essencialmente, esta terapêutica implica a estimulação elétrica contínua de alta frequência para o NTS através de um dispositivo implantado cirurgicamente. Os resultados mostram melhorias em algumas manifestações motoras, como o tremor, a rigidez muscular e a acinesia, e redução das flutuações motoras.<sup>11</sup>

### 2.8.6. TERAPIA GÉNICA

A terapia génica engloba um conjunto de procedimentos através dos quais novo material genético é introduzido dentro das células somáticas com o intuito de produzir efeitos benéficos nos doentes.<sup>14, 79</sup>

Várias características da Doença de Parkinson fazem desta doença uma boa candidata para a terapia génica. A lesão neuropatológica básica assim como a deficiência bioquímica primária, isto é a ausência de dopamina no corpo estriado, é claramente identificada. Além disso, a lesão neuropatológica fundamental permanece localizada numa área anatómica claramente definida. Com estas características em mente, pelo menos 3 estratégias de terapia génica diferentes têm sido sugeridas para a DP. A primeira, e mais explorada, estratégia visa manipular células para sintetizar e libertar levodopa ou dopamina. Os genes mais estudados para estas estratégias são os



envolvidos na síntese e liberação de dopamina e, uma vez que tenta reduzir a magnitude dos sintomas, é vista como uma abordagem sintomática. A segunda estratégia é considerada protetora e propõe começar a prevenir a morte celular e a degeneração. O método mais direto para alcançar esta proposta é através da criação de células que produzem fatores de crescimento dentro do cérebro, dentro ou perto da área onde a degeneração ocorre. A terceira estratégia, que é considerada como uma abordagem reconstituente ou regenerativa, é baseada nas células estaminais que são capazes de expressar, ou de induzir a expressão, um fenótipo dopaminérgico substituto para os neurónios dopaminérgicos degenerados.<sup>79-81</sup>

### 3. FARMACOGENÓMICA

Segundo a Agencia Europeia do Medicamento (EMA), a farmacogenômica é o estudo das variações das características de DNA e RNA relacionadas com a resposta a fármacos, sendo definida de forma mais ampla como a aplicação de tecnologias genômicas para elucidar suscetibilidade à doença, descoberta de fármacos, a função farmacológica e a resposta terapêutica. Teoricamente, na prática clínica a Farmacogenômica pode fornecer informações que permitirá prever a resposta individual a fármacos em relação à eficácia e toxicidade ou então prever se um individuo está mais suscetível para desenvolver determinada doença.<sup>82</sup>

#### 3.1. POLIMORFISMOS GENÉTICOS COM POTENCIAL EFEITO NO RISCO DA DOENÇA DE PARKINSON

##### 3.1.1. POLIMORFISMOS NA MAO-A E MAO-B

Os polimorfismos em genes que codificam para a MAO-A e MAO-B têm sido examinados como potenciais moduladores da patogenia da DP.<sup>82</sup> Tanto o gene MAO-A como MAO-B possuem uma organização idêntica (15 exões e 14 intrões), mas apresentam diferentes especificidades para os substratos e inibidores, e estão codificados em diferentes genes localizados no cromossoma X.<sup>83-85</sup> MAO-A localiza-se principalmente em órgãos periféricos e contribui para aproximadamente 80% da atividade total da MAO no trato gastrointestinal. MAO-B é a principal isoforma presente no cérebro, sendo abundante nos núcleos da base. Os inibidores de MAO-B,



uma vez que reduzem a depleção de DA no corpo estriado, são uma classe de fármacos utilizados como arsenal terapêutico na DP e o principal alvo dos estudos de farmacogenómica.<sup>82</sup>

Já foram descritos vários *single nucleotide polymorphism*<sup>(\*\*\*\*)</sup> (*SNP*) no gene MAO-B mas apenas o polimorfismo A/G no intrão 13 (rs1799386) foi identificado em todas as populações humanas. Uma vez que o polimorfismo A/G se encontra numa região não codificante (intrão 13), a sequência codificadora da proteína não é alterada. No entanto, este polimorfismo pode influenciar o *splicing* do pré-mRNA, podendo ter um papel importante na expressão da proteína codificada e, conseqüentemente, na patogenia da DP.<sup>83, 85, 86</sup> De facto, o estudo publicado por Jakubauskiene et al. (2012) sugere uma maior expressão da proteína MAO-B, contribuindo para o aumento da sua atividade enzimática em portadores do alelo A.<sup>83</sup>

Vários estudos de associação têm sido realizados com o intuito de perceber qual a relação entre o polimorfismo A/G no intrão 13 do gene MAO-B e o risco de DP. Todavia os resultados nem sempre são concordantes.<sup>87</sup>

Começo por apresentar os resultados do estudo publicado por Costa et al. (1997), no qual procurou a associação entre a DP e o polimorfismo A/G no intrão 13 do gene MAO-B, numa amostra caucasiana. Os resultados obtidos neste estudo (tabela 8) sugerem uma associação entre o alelo G e o risco de DP, uma vez que o alelo G é mais comum nos indivíduos com DP em relação ao controlo. Da mesma forma, verificou-se uma maior percentagem de indivíduos com o genótipo G/A ou G/G do polimorfismo estudado no grupo com DP em relação ao grupo controlo. No entanto, é de referir que a pequena amostra utilizada pode limitar a interpretação dos resultados.<sup>88</sup>

**Tabela 8 – Distribuição alélica e do genótipo do polimorfismo rs1799386 no gene MAO-B em casos de Doença de Parkinson e indivíduos saudáveis**

Homem, Genótipo	casos (N = 37)		Controlos (N = 50)		RP ±	(95% CI)
	No.	(%)	No.	(%)		
A	18	(48.6)	32	(64.0)	1	
G	19	(51.4)	18	(36.0)	1.87	(0.78–4.47)
Mulher, Genótipo	casos (N = 25)		Controlos (N = 29)		RP ±	(95% CI)
	No.	(%)	No.	(%)		
AA	3	(12.0)	12	(41.4)	1	
GA	15	(60.0)	12	(41.4)	5.00	(1.13–22.1)
GG	7	(28.0)	5	(17.2)	5.60	(1.01–30.9)

Abreviações: A, Adenina; G, Guanina; N, número de indivíduos; RP, Razão de Probabilidades; CI, Intervalo de Confiança. Fonte: <sup>(88)</sup>

<sup>(\*\*\*\*)</sup> *SNP* - polimorfismo que ocorre em único nucleótido, ou seja, são trocas ocorridas no ADN onde um nucleótido é trocado por outro qualquer (A/T, A/G, A/C, G/C, G/T) e vice-versa.



Contrariando estes resultados, Kang et al. (2006) analisaram uma extensa amostra de indivíduos caucasianos e observaram uma associação positiva entre as mulheres com o alelo A do polimorfismo A/G no intrão 13 no gene MAO-B e a suscetibilidade para a DP. No entanto, os resultados no gênero masculino seguiram uma tendência contrária mas não significativa, ou seja, o alelo A foi menos comum nos indivíduos com a doença do que em indivíduos saudáveis. Embora não haja uma razão biológica óbvia para o gene MAO-B poder ser um fator de risco nas mulheres e não nos homens, é possível que diferenças ambientais específicas para gêneros ou diferenças biológicas, como o tabaco ou hormonas, possam conduzir a efeitos genéticos diferentes.<sup>89</sup>

Torkaman-Boutorabi et al. publicara um artigo em 2012 o qual tinha como objetivo determinar o efeito dos polimorfismos genéticos nos genes MAO-B e COMT (abaixo apresentado) no risco de desenvolver a Doença de Parkinson na população Iraniana. Os resultados obtidos (tabela 9) não demonstram nenhuma diferença significativa entre a frequência do genótipo MAO-B no grupo de doentes com DP e no controlo. Contudo, os resultados sugerem que a presença do alelo A pode estar associada a um maior risco de DP. Uma vez que o gene MAO-B localiza-se no cromossoma X, a distribuição de alelos também foi avaliada em ambos os gêneros. Os resultados mostram uma maior frequência do genótipo G/G no grupo de mulheres controlo em comparação com as mulheres com DP (RP = 8.18, 95% IC 0.91-72.91,  $p < 0.05$ ), sugerindo um papel protetor do alelo G em mulheres. No entanto esta diferença não foi significativa. Sendo assim, os autores sugerem que o gene MAO-B não tem um papel importante na patogenia da doença de Parkinson em Iranianos.<sup>87</sup>

**Tabela 9– Frequência dos genótipos MAO-B**

Genótipo	Doentes: (n = 103)	Control: (n = 70)	$\chi^2$	RP (IC 95%)
<b>Todos os indivíduos</b>				
A, A/A	75 (72.8%)	44 (62.9%)	1.92	0.63 (0.33-1.21)
AG	16 (15.5%)	12 (17.1%)	0.08	1.12 (0.49-2.55)
G, G/G	12 (11.7%)	14 (20%)	2.27	1.89 (0.81-4.39)
<b>Homens</b>				
A	61 (84.7%)	34 (81.0%)	0.27	0.76 (0.28-2.08)
G	11 (15.3%)	8 (19.0%)		
<b>Mulheres</b>				
A/A	14 (45.2%)	10 (35.7%)	0.54	0.67 (0.23-1.92)
A/G	16 (51.6%)	12 (42.9%)	0.45	0.70 (0.25-1.96)
G/G	1 (3.2%)	6 (21.4%)	4.66	8.18 (0.91-72.91)

Abreviações: RP, Razão de probabilidade. Fonte: adaptado (<sup>87</sup>).



Apesar dos resultados apresentados sobre a associação do polimorfismo A/G no intrão 13 no gene MAO-B com o risco para a DP não serem concordantes, no geral estes e outros estudos não apresentados nesta dissertação sugerem que este polimorfismo não possui um papel importante na patogenia da DP.<sup>10</sup>

Um outro polimorfismo identificado no gene MAO-B e com potencial envolvimento no risco da DP é *dinucleotide repeat polymorphism (DNRP)*, mais propriamente a repetição polimórfica (GT) no intrão 2.<sup>84</sup> No estudo publicado em 1999 por Mellick et al. foi investigada a potencial associação da repetição polimórfica (GT) no gene MAO-B numa grande coorte de indivíduos Australianos. Neste estudo os indivíduos testados apresentaram um número de repetições (GT) entre 172 – 184 pares de base (pb) e, tanto para o grupo de doentes como para o grupo controlo, a diferença da frequência alélica entre géneros não foi considerada significativa. Comparando a frequência alélica entre o grupo controlo e o grupo de doentes com DP (tabela 10), os autores verificaram que os alelos com 186 pb e  $\geq 188$ pb tiveram uma maior distribuição no grupo dos doentes do que no grupo controlo; mas o mesmo não aconteceu com os alelos com  $\leq 178$ , 180 e 182 pb. Perante estes resultados, os autores sugeriram uma associação entre o maior número de repetições (GT) e a DP. É importante referir que após o ajuste de possíveis variáveis de confundimento através de um modelo de regressão logística (tabela 11), esta associação mantém-se. Os autores especulam que os resultados obtidos se devem a uma possível interação deste polimorfismo com uma mutação, ainda não identificada, na região codificante no gene MAO-B; à influência direta da maior cadeia de repetições (GT) na função do gene MAO-B, mais propriamente através da regulação da transcrição do gene; ou então devido ao stresse oxidativo resultante do maior metabolismo da DA pela MAO-B. Contudo, não há nenhuma evidência de que a estrutura ou expressão de MAO-B esteja alterada em doentes com DP para confirmar estas especulações.<sup>84</sup>



**Tabela 10 – Distribuição alélica do polimorfismo de repetições GT no intrão 2 de MAO-B em doentes com DP e indivíduos controlo\***

Alelo	≤178	180	182	184	186	≥188	Total
Doentes *	45	54	36	77	46	26	284
Controlo	80	84	72	101	48	10	395
RP	0.74	0.87	0.65	1.08	1.40	3.88	

$\chi^2=20.09$  ( $p<0.01$ ); Fonte: <sup>(84)</sup>

**Tabela 11 – Risco de Doença de Parkinson por regressão logística\***

Variável	Razão de probabilidades	p	IC a 95%
Idade	1.02	0.02	1.00 – 1.04
Género	0.99	0.95	0.68 – 1.43
Ataque	0.18	<0.00005	0.08 – 0.41
Fumador	0.70	0.09	0.46 – 1.06
História Familiar	3.99	<0.00005	2.07 – 7.70
<b>Polimorfismo G/A</b>			
Alelo G (A alelo de referência)	0.80	0.51	0.42 – 1.53
<b>(alelo com ≤178pb referência)</b>			
Alelo com 180 pb	1.18	0.55	0.68 – 2.04
Alelo com 182 pb	0.91	0.75	0.51 – 1.62
Alelo com 184 pb	1.51	0.12	0.89 – 2.56
Alelo com 186 pb	1.85	0.05	1.04 – 3.42
Alelo com ≥ 188 pb	4.60	<0.00005	1.97 – 10.77

Apenas os fatores que parecem estar independentemente associados à DP foram incluídos no modelo de regressão. **Abreviaturas:** bp, pares de base; G, Guanina; A, Adenina; T, Timina. Fonte: <sup>(84)</sup>

Para verificar se os resultados obtidos no estudo anteriormente apresentado não apresentavam diferenças étnicas, o mesmo autor publicou um outro estudo em 2000, no qual investigou a associação da região polimórfica do intrão 2 do gene MAO-B com a doença de Parkinson utilizando uma população chinesa residente em Hong Kong. O comprimento da sequência repetida GT encontrada varia entre 166 e 202 pares de base (pb) e os resultados das frequências deste polimorfismo estão representadas na tabela 12. As frequências alélicas quer para o grupo de doentes quer para o grupo controlo não diferem significativamente entre homens e mulheres. Também, não foram observadas diferenças significativas entre a frequência alélica no grupo de doentes com DP e o grupo de indivíduos saudáveis. Perante estes resultados, os autores sugerem que este polimorfismo não aumenta o risco de DP na população Chinesa. <sup>90</sup>



**Tabela 12 – O número de alelos observados para o polimorfismo no intrão 2 do gene MAO-B em doentes com DP e indivíduos saudáveis chineses**

Alelo	Doentes (n = 262) *	Controlo (n= 307)	RP	IC de 95%
≤ 178	60 ± 0.23	76 ± 0.25	0.90	0.61–1.33
180	33 ± 0.13	33 ± 0.11	1.20	0.72–2.00
182	37 ± 0.14	37 ± 0.12	1.20	0.74–1.96
184	86 ± 0.33	94 ± 0.30	1.11	0.78–1.58
186	34 ± 0.13	49 ± 0.16	0.79	0.49–1.26
≥ 188	12 ± 0.04	18 ± 0.06	0.77	0.36–1.63

$\chi^2=2.48$  ( $p<0.75$ ); Fonte: <sup>(90)</sup>

Analisando os resultados obtidos nestes dois estudos publicados por Mellick et al., verificamos que são contraditórios, sugerindo que a influência do gene MAO-B na patogénia da DP difere consoante a população em estudo. Os autores especulam que estas diferenças étnicas podem ser explicadas por inconsistências na metodologia do estudo ou então devido a diferenças étnicas na etiologia específica da DP. Consideram também que a DP resulta da interação entre fatores genéticos e fatores ambientais e é quase certo que os indivíduos Chineses e Australianos estão expostos a diferentes stresses ambientais, tais como variações na dieta ou na exposição a possíveis agentes neurotóxicos ou neuroprotetores. <sup>90</sup>

Parsian et al. (2003) investigaram o papel do DNRP no intrão 2 do gene MAO-B numa larga população de doentes com DP (hereditária ou esporádica) em comparação com o grupo controlo. O comprimento da repetição (GT) no intrão 2 identificada nos indivíduos analisados varia entre os 172 - 184 pb e os resultados (tabela 13) não revelam nenhuma diferença significativa da frequência alélica entre géneros em cada grupo. <sup>91</sup>



**Tabela 13 – Distribuição da frequência alélica da repetição polimórfica do dinucleótido (AG) no gene da MAO-B num grupo de doentes com DP hereditária, num grupo de doentes com DP esporádica e no grupo controlo**

Grupos	Alelos (frequência) <sup>a</sup>							Total
	1	2	3	4	5	6	7	
<b>DPH <sup>b</sup></b>								
Homem	10 (0.18)	11 (0.20)	12 (0.22)	12 (0.22)	7 (0.13)	2 (0.04)	—	54
Mulher	16 (0.19)	27 (0.32)	18 (0.21)	11 (0.13)	11 (0.13)	1 (0.01)	—	84
<b>DPE <sup>c</sup></b>								
Homem	33 (0.33)	21 (0.21)	23 (0.23)	12 (0.12)	12 (0.12)	—	—	101
Mulher	22 (0.17)	24 (0.19)	34 (0.27)	31 (0.25)	9 (0.07)	3 (0.02)	3 (0.02)	126
<b>Controlos</b>								
Homem	5 (0.06)	15 (0.19)	21 (0.27)	19 (0.24)	7 (0.09)	6 (0.08)	5 (0.06)	78
Mulher	16 (0.08)	34 (0.17)	58 (0.29)	38 (0.19)	29 (0.15)	16 (0.08)	7 (0.03)	198

(a) O tamanho do alelo varia entre 172 – 184 pares de base; Comparação das frequências alélicas entre (b) total de FPD ( $\chi^2=27.94$ ,  $p=0.000001 \pm 0.0000$  SE), (c) total de SPD ( $\chi^2=41.86$ ,  $p=0.000001 \pm 0.0000$  SE), e o total do controlo. **Abreviações:** DPH, Doença de Parkinson hereditária; DPE, Doença de Parkinson esporádica. **Fonte:** (<sup>91</sup>)

Já na comparação da distribuição alélica do polimorfismo no intrão 2 do gene MAO-B entre os doentes com DP hereditária, ou os doentes com DP idiopática, e o grupo controlo, os autores observaram uma diferença significativa. É ainda importante realçar que a frequência do alelo 1 (maior fragmento) foi quase 3 vezes maior no grupo de doentes com DP hereditária, e mais de 3 vezes maior no grupo de doentes com DP idiopática, do que no controlo, sugerindo uma maior associação dos alelos de maior comprimento com o risco para a DP. <sup>91</sup>

Neste mesmo estudo conduzido por Parsian et al. foi também analisada a influência da sequência repetida (GT) no intrão 2 do gene MAO-A na Doença de Parkinson, obtendo-se os resultados da tabela 14. Perante estes resultados, os autores não observaram uma diferença significativa entre géneros em cada grupo. Ao comparar a frequência alélica do MAO-A entre o total de doentes com DP hereditária, ou o total de doentes com DP esporádica, e o grupo controlo, os autores observaram uma diferença considerada significativa. <sup>91</sup>



**Tabela 14 – Distribuição da frequência alélica da repetição polimórfica do dinucleótido (AG) no gene da MAO-A num grupo de doentes com DP hereditária, num grupo de doentes com DP esporádica e num grupo controlo**

Grupo	Alelos (frequência) <sup>a</sup>									Total
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
<b>DPH</b> <sup>b</sup>										
Homem	1 (0.02)	4 (0.08)	6 (0.12)	0 (0.00)	2 (0.04)	10 (0.19)	26 (0.50)	3 (0.06)	—	52
Mulher	4 (0.05)	3 (0.03)	8 (0.09)	3 (0.03)	2 (0.02)	17 (0.20)	40 (0.47)	6 (0.07)	3 (0.03)	86
<b>DPE</b> <sup>c</sup>										
Homem	5 (0.05)	7 (0.07)	14 (0.14)	5 (0.05)	5 (0.05)	23 (0.23)	34 (0.34)	5 (0.05)	2 (0.02)	100
Mulher	2 (0.02)	4 (0.03)	12 (0.09)	2 (0.02)	13 (0.10)	25 (0.20)	53 (0.42)	7 (0.06)	8 (0.06)	126
<b>Controlo</b>										
Homem	6 (0.07)	10 (0.13)	7 (0.09)	1 (0.01)	12 (0.15)	27 (0.34)	15 (0.19)	—	1 (0.01)	79
Mulher	12 (0.06)	21 (0.10)	28 (0.14)	13 (0.07)	13 (0.07)	60 (0.30)	39 (0.19)	7 (0.03)	7 (0.03)	200

(a) O tamanho do alelo varia entre 108 – 126 pares de base, sendo que 1 representa o maior alelo enquanto 9 representa o mais curto; Comparação das frequências alélicas entre (b) o total de DPH o ( $\chi^2=46.81$ ,  $p=0.000001 \pm 0.0000$  SE) ou (c) total de SPD ( $\chi^2=34.51$ ,  $p=0.000001 \pm 0.0000$  SE), e o total do controlo. **Abreviações:** **DPH**, Doença de Parkinson hereditária; **DPE**, Doença de Parkinson esporádica. **Fonte:** <sup>(91)</sup>

Então, segundo os resultados obtidos do estudo publicados por Parsian et al. (2003), podemos dizer que há uma associação positiva entre o polimorfismo no intrão 2 do gene MAO-A e MAO-B com a doença de Parkinson hereditária e esporádica, na população Caucasiana. <sup>91</sup>

Apesar de Parsian et al. (2003) observar uma associação entre o polimorfismo no intrão 2 do gene MAO-A e o risco para DP, há um outro estudo publicado por Nanko et al. (1997) que não encontrou qualquer associação. <sup>10</sup>

Mais uma vez, os estudos de associação são contraditórios e apesar de sugerirem que o alelo  $\geq 188$  pb do polimorfismo MAO-B pode conferir alguma suscetibilidade, o papel deste gene na patogénia da DP ainda não é claro. <sup>10</sup>

### 3.1.2. POLIMORFISMOS NA COMT

A catecol-O-metiltransferase é outro gene alvo para a farmacogenómica nesta patologia. Está localizado no cromossoma 22 e codifica duas diferentes formas da proteína COMT, uma solúvel (S-COMT) e uma ligada à membrana (MB-COMT), sendo esta última a mais predominante no cérebro. <sup>82</sup> Sabe-se ainda que os níveis enzimáticos de COMT são altamente polimórficos, que os polimorfismos encontrados apresentam diferenças étnicas e que diferenças na atividade da COMT podem afetar a suscetibilidade individual à DP. <sup>92</sup>



Um dos polimorfismos do gene COMT mais estudado é a substituição de uma guanina (G) por uma adenina (A) no exão 4 (G1947A ou rs4680), o que resulta na substituição de uma valina (Val) por uma metionina (Met) na posição 158 da MB-COMT (Val158Met). Esta substituição origina uma proteína termolábil de baixa atividade - alelo A (alelo A COMT L/L), em oposição ao alelo G de elevada atividade (alelo G ou COMT H/H).<sup>82, 87, 93</sup> Vários estudos de associação têm sido realizados para investigar a relação entre o polimorfismo no gene COMT e o risco de desenvolver doença de Parkinson. Na tabela 15 estão indicados alguns desses estudos realizados.<sup>92</sup>

**Tabela 15 – Estudos que relacionam o polimorfismo no gene COMT e a doença de Parkinson**

Referências	Grupo étnico	Sujeitos (N)	Frequência genótipa			Associação com DP
			H/H	H/L	L/L	
Wu, 2000	Tailandeses	C = 191	0.61	0.33	0.06	Não
		PD = 222	0.56	0.36	0.08	
Xie, 1997	Chineses, HK	C = 62	0.60	0.30	0.10	Não
		PD = 70	0.63	0.30	0.07	
Kunugi, 1997	Japoneses	C = 153	0.48	0.46	0.06	Sim, L/L é maior na DP
		PD = 109	0.42	0.43	0.15	
Yoritaka, 1997	Japoneses	C = 156	0.44	0.49	0.07	Sim, H/H é maior na DP
		PD = 176	0.57	0.35	0.08	
Hodal, 1996	Caucasianos, UK	C = 173	0.23	0.51	0.26	Não
		PD = 139	0.23	0.50	0.27	

Abreviações: C, controle; DP, doença de Parkinson, UK, Reino Unido; HK, Hong Kong. Fonte: (92)

Num artigo publicado por Kiyohara et al. (2011) utilizando uma população Japonesa, foi observada uma associação positiva entre o genótipo L/L e o risco de DP, em comparação com o genótipo H/H (RP=1.86, 95% CI=.98 – 3.50; tabela 16) ou com pelo menos um alelo H (RP = 1.70, 95% CI=1.12 – 2.58). Estes resultados apoiam os reportados por Kunugi et al. (1997), ou seja, o genótipo COMT L/L aumenta a suscetibilidade de doença de Parkinson na população Japonesa.<sup>94</sup>

**Tabela 16 – Associação do polimorfismo na COMT e a doença de Parkinson**

Polimorfismo	Casos (%) (n = 238)	Controlos (%) (n = 369)	RP <sup>±</sup> ajustado a (95% CI)
COMT rs4680			
HH (ancestral)	98 (41.2)	179 (48.5)	1.0
HL	116 (48.7)	166 (45.0)	1.26 (0.88 - 1.79)
LL	24 (10.1)	24 (6.5)	1.86 (0.98 - 3.50)
HL + LL vs. HH	140 (58.8)	190 (51.4)	1.33 (0.95 - 1.87)

\*RP ajustado através da idade, género, status de fumador, status de álcool e exposição a pesticidas. Abreviaturas: n, número de indivíduos; RP, razão de probabilidades; Fonte: (94)



Como a COMT degrada a dopamina e fármacos dopaminérgicos, como a levodopa, são utilizados como arsenal terapêutico na Doença de Parkinson inibidores da COMT, que têm mostrado um efeito benéfico no tratamento da doença. Então, era de esperar uma associação entre o genótipo da COMT com maior atividade (alelo G) e a suscetibilidade da DP, em vez do genótipo de menor atividade (alelo A). Porém, é importante ter em conta que o efeito benéfico da utilização de inibidores da COMT no tratamento da DP apenas é estabelecido devido à redução de flutuações motoras e da estabilização dos níveis sanguíneos da levodopa. Além disso, uma vez que a dopamina e outras catecolaminas são metabolizadas pela COMT e MAO, uma diminuição da atividade da COMT pode conduzir a um aumento do metabolismo das catecolaminas pela MAO e, desta forma, aumentar o stresse oxidativo prejudicial para os neurónios. Assim sendo, é vantajoso avaliar o efeito dos dois polimorfismos da COMT e MAO-B na suscetibilidade da DP.<sup>95</sup>

Torkaman-Boutorabi et al. (2002) para além de determinar a associação entre os genótipos da MAO-B e da COMT na suscetibilidade da DP, também averiguou o efeito aditivo dos polimorfismos nos genes COMT e MAO-B na DP, na população Iraniana. No que diz respeito ao efeito dos genótipos da COMT na suscetibilidade da DP não foi encontrada qualquer associação significativa entre o genótipo L/L e o risco de desenvolver DP.<sup>87</sup> Já no que diz respeito ao efeito aditivo dos polimorfismos nos dois genes, foi identificada uma maior incidência, embora sem significado estatístico, da combinação do alelo A da MAO-B com o genótipo COMT L/L (RP= 0.48; 95% CI 0.21-1.20, p=0.08), resultando numa maior metabolização da DA pela MAO-B e consequente aumento do stresse oxidativo que, por sua vez, aumenta a suscetibilidade para a DP.<sup>87</sup> Em contradição com os resultados deste estudo refiro a análise realizada numa população Tailandesa e conduzida por Wu et al. (2002) na qual sugeriu um aumento da associação entre os doentes com o alelo G da proteína MAO-B e a DP quando o genótipo COMT L/L está presente.<sup>87,96</sup>

É também sabido que a distribuição do genótipo COMT varia com a etnia. Há dados que indicam que 25% da população Caucasiana apresentam o genótipo COMT L/L, 25% são homozigóticos para o alelo G da COMT (COMT H/H) e 50% são heterozigóticas (COMT H/L). A frequência do genótipo COMT H/H no sudoeste Asiático é semelhante à frequência reportada para os Caucasianos (25%), mas a



frequência reportada para a população do noroeste Asiático e Africano é apenas de 10%.<sup>97</sup> Especula-se ainda que diferenças étnicas possam refletir diferentes interações gene-ambiente, interações gene-gene que possam alterar a suscetibilidade para a DP e explicar diferenças nos resultados apresentados nos estudos acima.<sup>94</sup>

Yiguan Wang e Xiaorong Yang (2012) conduziram uma meta-análise incluindo 24 estudos (tabela 17) utilizando como amostra total indivíduos de diferentes etnias. Nesta meta-análise não foi observada nenhuma evidência que suporte a associação significativa entre o alelo A da COMT e a suscetibilidade da DP quando comparado com o alelo G (RP = 0.98, 95% CL [0.92, 1.05]). Fizeram também uma análise estratificada de acordo com a região geográfica, mas também não observaram qualquer associação entre o alelo A e a DP nos três subgrupos analisados: Ásia (RP= 1.02, 95% CL [0.93, 1.12]), Europa (RP= 0.92, 95% CL [0.83, 1.03]) e Norte da América (RP= 0.10, 95% CL [0.88, 1.37]). É importante referir que na análise estratificada por regiões, a África não foi incluída devido à ausência de estudos publicados. Apesar de nesta meta-análise não ter sido observada qualquer associação entre Val158Met e a DP, não é excluída a possibilidade de este polimorfismo constituir um fator de risco para a DP visto que os autores não tiveram em conta a interação com outros genes potencialmente envolvidos na patogenia da DP.<sup>93</sup>

**Tabela 17– Características dos estudos incluídos na meta-análise**

Autor inicial	Ano	País do estudo	Género (masculino/feminino)		Genótipo (GG/GA/AA)	
			Casos	Controlos	Casos	Controlos
Hoda et al.	1996	United Kingdom	—	—	32/70/37	40/88/45
Kunugi et al.	1997	Japan	55/54	75/78	46/47/16	74/70/9
Syvanen et al.	1997	Finland	87/71	36/40	39/80/39	14/35/27
Xie et al.	1997	Hong Kong	31/39	24/38	44/21/5	37/19/6
Yoritaka et al.	1997	Japan	—	—	100/62/14	69/77/10
Mizuta et al.	2000	Japan	—	—	85/71/15	88/90/21
Shao et al.	2000	China	61/44	54/61	63/30/12	60/49/6
M. S. Lee et al.	2001	South Korea	33/40	—	40/27/6	26/21/2
Shao et al.	2001	China	80/60	74/70	84/41/15	75/62/7
Wu et al.	2001	Taiwan, China	162/62	145/52	125/79/18	117/62/12
Eerola et al.	2002	Finland	87/60	50/87	30/71/46	31/71/35
Goudreau et al.	2002	United States	191/115	72/115	59/163/84	50/82/55
Hernan et al.	2002	E	101/112	203/236	50/106/57	112/220/107
Xu et al.	2002	China	93/51	93/108	80/54/10	105/86/10
Lynch et al.	2003	United States	71/29	30/36	29/45/25	20/30/16
Watanabe et al.	2003	Japan	49/72	85/15	57/47/14	47/49/4
Zhao et al.	2003	China	78/66	91/97	80/54/10	98/81/9
Bialecka et al.	2005	Poland	112/98	75/77	49/103/58	29/64/59
Dai et al.	2005	China	54/46	50/50	64/27/9	51/45/4
Zhao et al.	2005	China	84/51	62/76	74/52/9	70/60/8
Bialecka et al.	2007	Poland	75/59	37/29	39/61/34	18/31/17
Bialecka et al.	2008	Poland	191/131	207/150	78/160/84	80/166/111
Kalinderi et al.	2008	Greece	—	—	48/54/32	40/49/36
Chikako et al.	2011	Japan	91/147	140/228	98/116/24	179/166/24

**Abreviações:** E, países da Europa mas que não foram mencionados em detalhe no artigo original; **Fonte:** <sup>(93)</sup>



Apesar de em alguns estudos observarem uma associação entre o genótipo COMT L/L e a suscetibilidade da DP na população Japonesa, esta associação não foi confirmada nos Caucásios e outras populações. Assim sendo, não se pode retirar nenhuma conclusão quanto a associação da COMT e o risco de DP.<sup>10</sup>

### 3.1.3. POLIMORFISMOS NOS RECEPTORES DOPAMINÉRGICOS

A dopamina e os agonistas dopaminérgicos ligam-se a receptores D1-D5 e, assim, a resposta terapêutica da DP está diretamente relacionada com a estrutura genética dos genes que codificam estes receptores.<sup>82</sup>

O receptor de dopamina 1 (DRD1) está localizado no cromossoma 5 mas dos diferentes *SNPs* detetados neste gene nenhum mostrou influenciar a ligação dos substratos ao receptor codificado.<sup>82</sup>

O receptor DRD2 está localizado no cromossoma 11 e têm sido alvo de vários estudos com o intuito de associar polimorfismo neste gene e a DP. O gene DRD2 contém vários polimorfismos mas apenas alguns têm-se mostrado relevantes na DP: rs1799732 (-141C Inserção/deleção na região do promotor), rs6277 (C957T), Taq 1A (T32806C) e Taq 1B (A7423G).<sup>82</sup>

O alelo T (Taq 1A) do polimorfismo T32806C do gene DRD2 tem sido associado a uma redução na densidade dos receptores dopaminérgicos D2 no cérebro, a uma diminuição da ligação ao receptor e a uma redução da atividade dopaminérgica no SNC. Já o polimorfismo rs1799732 tem sido associado com uma maior densidade de receptores DRD2 no corpo estriado e um aumento na expressão do mRNA. Contudo ainda não é bem conhecido o impacto destes polimorfismos na Doença de Parkinson.<sup>82, 94, 98</sup>

Na tabela 18 estão sumarizados alguns estudos de associação entre os polimorfismos Taq1A e Taq1B do gene DRD2 e a suscetibilidade da DP realizados anteriormente. No entanto, e devido à importância da reprodutibilidade de dados num estudo de associação genética, deve-se proceder à realização de mais estudos de associação para confirmar os resultados apresentados anteriormente.<sup>99</sup>



**Tabela 18- Sumário de alguns estudos de associação entre os polimorfismos Taq1A e Taq1B do gene DRD2 com a suscetibilidade à DP**

Ano do estudo	Étnia	DP	Controlo	DP:Controlo				Associação
				Alelo		Genótipo		
				A1	B1	A1A1	B1B1	
1/1991 <sup>17</sup>	Caucasiano	17	108	3:24				Não
2/2000 <sup>10</sup>	Caucasiano	125	202	45:75		4:8		Não
		152	231		44:63		1:4	
3/2000 <sup>12</sup>	Caucasiano	135	202	56:59	47:43	4:5	4:2	Sim
4/2000 <sup>9</sup>	Caucasiano	72	81	30:19	1:1			Sim

Abreviações: DP, doença de Parkinson; A1, alelo T do polimorfismo rs32806; A2, alelo C do polimorfismo rs32806; B1, alelo A do polimorfismo Taq 1B; B2, alelo G do polimorfismo Taq B. Fonte: adaptado (<sup>99</sup>)

Neste seguimento, Tan et al. (2003) procederam à análise da associação dos polimorfismos Taq1A e Taq1B do gene DRD2 e a suscetibilidade da DP, numa amostra de casos e controlos. Perante os resultados obtidos nesta análise (tabela 19) não foi encontrada nenhuma associação significativa entre os polimorfismos e a DP na população Chinesa. <sup>99</sup>

**Tabela 19 – Frequências dos génotipos dos polimorfismos Taq 1A e Taq 1B do gene DRD2**

	Doença de Parkinson, n(%)	Controlos, n(%)	RP	IC a 95%
<b>Taq1A</b>				
<b>Alelo</b>				
A1	166 (40.7)	170 (39.4)	1.06	(0.80-1.39)
A2	242 (59.3)	262 (60.6)		
Total	408	432		
<b>Genótipo</b>				
A1A1	36 (17.6)	35 (16.2)		
A1A2	94 (46.1)	100 (46.3)		
A2A2	74 (36.3)	81 (37.5)		
Total	204	216		
<b>Taq1B</b>				
<b>Alelo</b>				
B1	181 (44.4)	181 (41.9)	1.11	(0.84-1.45)
B2	227 (55.6)	251 (58.1)		
Total	408	432		
<b>Genótipo</b>				
B1B1	44 (19.6)	43 (19.9)		
B1B2	101 (49.5)	95 (44.0)		
B2B2	63 (30.9)	78 (36.1)		
Total	204	216		

Abreviações: A1, alelo T do polimorfismo rs32806; A2, alelo C do polimorfismo rs32806; B1, alelo A do polimorfismo Taq B; B2, alelo G do polimorfismo Taq B; RP, razão de probabilidades; IC, intervalo de confiança; n, número de sujeitos. Fonte: adaptado (<sup>99</sup>)

No estudo publicado por Singh et al. (2008) observou-se que a frequência do alelo variante da Taq 1A é menor nos indivíduos doentes do que no grupo controlo, sugerindo um menor risco para DP no alelo variante. Os mesmos resultados foram obtidos para o polimorfismo Taq 1B. No entanto, estas diferenças (tabela 20) não foram consideradas significativas. Assim, este estudo não encontrou uma diferença significativa entre os polimorfismos Taq 1A e Taq 1B e a suscetibilidade da DP na população do Norte Indiano. <sup>100</sup>



**Tabela 20 – Frequência alélica do genótipo da Taq A1**

Genótipo e frequência alélica	Controlo <i>N</i> = 100	Casos <i>N</i> = 70	RP (IC a 95%)	P	RP ajust. (IC a 95%)	P
<i>DRD2 (Taq1A)</i>						
CC	49 (49%)	38 (54%)	1.0 (ref.)			
CT	37 (37%)	28 (40%)	0.97 (0.51–1.86)	0.94	0.89 (0.45–1.73)	0.73
TT	14 (14%)	4 (6%)	0.36 (0.11–1.21)	0.09	0.31 (0.09–1.04)	0.06
CT + TT	51 (51%)	32 (46%)	0.80 (0.43–1.49)	0.49	0.72 (0.38–1.37)	0.32
C/T	0.68/0.32	0.74/0.26				

**Abreviaturas:** Ref, referência; RP, razão de probabilidades; IC, intervalo de confiança, RP ajust., RP ajustado para a idade e género; \* P<0.05 é considerado significativo. **Fonte:** adaptado (100)

Já no estudo publicado por McGuire et al. (2011) observou-se uma associação positiva entre a variante homozigótica C/C do polimorfismo Taq1A e a DP em caucasianos. No entanto, o polimorfismo Taq1A apresentou uma associação inversa com a DP em afro-americanos com pelo menos uma cópia do alelo variante Taq 1A (T/C, C/C), sugerindo que nestes o alelo variante tem um efeito protetor.<sup>101</sup>

No estudo publicado por Kiohara et al. (2011) observou-se uma associação positiva entre o alelo C do polimorfismo Taq A1 e o risco para a DP em Japoneses (tabela 21), mas como esta diferença não foi considerada significativa, os autores concluíram que não foi observada nenhuma associação entre o polimorfismo rs1800497 e a suscetibilidade da DP.<sup>94</sup>

**Tabela 21 – Associação do polimorfismo rs1800497 e a doença de Parkinson**

Polimorfismo	Casos (%) n=238	Controlos (%) n=369	P	RP ajust. (IC a 95%)
<i>DRD2 rs1800497</i>				
TT (ancestral)	29 (12.2)	52 (14.1)		1.0
TC	117 (49.2)	192 (52.0)		1.04 (0.61 - 1.77)
CC	92 (38.7)	125 (33.9)	0.460	1.32 (0.77 - 2.28)
		$P_{HWE} = 0.111$		$P_{trend} = 0.204$
CC vs. TC + TT				1.28 (0.90 - 1.82)

**Abreviações:** RP ajust., Razão de probabilidades ajustado para a idade, sexo, história familiar da DP, região, estado fumador, estado de bebidas alcoólicas e exposição a pesticidas; T, timina; C, citosina. **Fonte:** adaptado (94)

Apesar destes resultados, outros dois estudos encontraram uma associação significativa entre este polimorfismo e o risco para a DP, sugerindo a possibilidade de diferenças étnicas no impacto da Taq A1 e a DP.<sup>94</sup>



Arinami et al. (1997) descreveu um polimorfismo funcional putativo no recetor localizado a 141 pares de bases a montante do local de iniciação da transcrição, na região do promotor. É uma inserção deleção (ins/Del) no qual o fenótipo de inserção é caracterizado por duas citosinas adjacentes e o fenótipo da deleção é caracterizado pela ausência da segunda citosina. Estudos de expressão *in vitro* têm mostrado um aumento de duas vezes na expressão do recetor na presença do fenótipo homocigótico Ins (Ins/Ins) quando comparado com o fenótipo homocigótico Del (Del/Del).<sup>102</sup>

No estudo publicado por Maude et al. (2001) foi analisada a associação do polimorfismo inserção/deleção a posição -141C e o risco de DP num grupo de indivíduos com DP e num grupo controlo. Perante os resultados, os autores não encontraram qualquer associação entre este polimorfismo e a DP na população Caucasiana analisada.<sup>102</sup> Apesar destes resultados, foram publicados outros estudos nos quais se encontrou uma associação entre o polimorfismo inserção/deleção na posição -141C e a suscetibilidade da DP.<sup>10</sup>

Tendo em conta todos estes resultados é sugerido que os polimorfismos DRD2 possam estar envolvidos no risco de DP. No entanto é necessário proceder a mais estudos e meta-análises para verificar os resultados.<sup>10</sup>

Também tem sido proposto que variantes no DRD3 possam influenciar o risco de DP. Um exemplo é o polimorfismo rs6280 no gene DRD3, que codifica a substituição de uma serina (ser) por uma glicina (Gli) na posição 9. Mas segundo o estudo publicado por Keeling et al. em 2009, este polimorfismo não apresenta nenhuma associação com o risco de DP em Americanos. No entanto, é necessário realizar mais estudos para confirmar este resultado.<sup>103</sup>

O gene DRD4 também é bastante polimórfico, em particular no terceiro exão, uma vez que apresenta entre 2 até 10 unidades, com 48pb cada, repetidas. Este recetor é altamente expresso no córtex frontal, amígdala, hipocampo e mesencéfalo, e nos núcleos da base mas em níveis mais baixos.<sup>104</sup> Estudos reportam que indivíduos saudáveis com mais do que 5 unidades repetidas demonstram maiores resultados na procura de novas sensações (NS)<sup>104</sup>, enquanto os doentes com DP apresentam uma menor procura de novas sensações<sup>105</sup>.



Em 1998, Ricketts et al. publicaram os resultados de um estudo no qual analisaram a frequência das variantes do exão 3 do gene DRD4 num grupo controlo e num grupo de doentes com DP caucasianos. Neste os autores verificaram que todos os alelos com mais de 4 repetições tendem a ser mais representados no grupo dos doentes em relação ao controlo, sugerindo que o genótipo que codifica uma cadeia maior pode aumentar a suscetibilidade da DP em populações caucasianas.<sup>104</sup>

Contrariamente a este estudo, uma análise publicada por Kronenberg et al. (1999), também em indivíduos caucasianos, não observou qualquer relação entre os polimorfismos do gene DRD4 e a suscetibilidade à DP. De facto, a diferença dos genótipos com mais repetições (6 até 8 repetições da unidade com 48 pares de base) entre o grupo controlo e o grupo com DP não foi significativa.<sup>105</sup>

Estes resultados em conjunto com a meta-análise realizada por Tan et al. (2000) sugerem que o DRD4 não desempenha um papel principal na doença de Parkinson.<sup>10</sup>

#### 3.1.4. POLIMORFISMOS NO TRANSPORTADOR DE DOPAMINA

O transportador de dopamina (DAT) está normalmente presente nos terminais de neurónios originários na SN, liberta DA no corpo estriado e está envolvido na captação de MPP<sup>+</sup> para o interior dos neurónios dopaminérgicos. Por estas razões, DAT é um possível candidato à suscetibilidade da DP.<sup>10, 106</sup>

O gene DAT, também conhecido como SLC6A3, está no cromossoma 5 e contém uma região altamente polimórfica na região 3' não traduzida: um VNTR (*variable number tandem repeat*) de 40 pb. Na população normal já foram identificadas cópias entre 3 a 11 repetições da unidade com 40 pb. Vários estudos de associação entre o polimorfismo VNTR e a suscetibilidade da DP têm sido publicados, mas os resultados são muito discrepantes e variam consoante a etnia em análise. De seguida são apresentados os resultados de vários estudos em diferentes populações.<sup>10</sup>

No estudo publicado por Mercier et al. (1999) realizado numa população caucasiana francesa, foram identificados alelos com 7, 8, 9, 10 e 11 cópias, mas os mais frequentes, tanto no grupo de doentes com DP como no grupo controlo, foram os alelos com 9 e 10 cópias (tabela 22). Nesta análise os autores não encontraram uma diferença



significativa entre a frequência alélica do polimorfismo VNTR do DAT os dois grupos analisados.<sup>107</sup>

**Tabela 22 - Número de indivíduos observados e frequência dos genótipos e alelos do polimorfismo VNTR do DAT no grupo de doentes com DP e no grupo controle**

VNTR		Doentes (n = 75)		Controlo (n = 78)	
Número de cópias	(bp)	Número	Frequência (%)	Número	Frequência (%)
<b>Genótipo</b>					
7/10	(360/480)	1	1.3	0	
8/10	(400/480)	0		1	1.3
9/9	(440/440)	10	13.3	8	10.2
9/10	(440/480)	26	34.7	36	46.1
10/10	(480/480)	36	48.0	32	41.0
9/11	(440/520)	2	2.7	0	
10/11	(480/520)	0		1	1.3
<b>Alelos</b>					
7	(360)	1	0.6	0	
8	(400)	0		1	0.6
9	(440)	48	32.0	52	33.3
10	(480)	99	66.0	102	65.4
11	(520)	2	1.3	1	0.6

Fonte: (<sup>107</sup>)

No estudo publicado por Kim et al. (2000) foi reportado o alelo com 10 cópias como o mais comum na população coreana estudada. No entanto, dos alelos identificados na amostra (alelos com 9, 10 e 11 cópias), apenas o alelo 9 mostrou uma diferença significativa entre o grupo de doentes com DP e o grupo controle, sugerindo um maior risco para a DP na população coreana (tabela 23).<sup>106</sup>

**Tabela 23 - Distribuição da frequência do genótipo VNTR e frequência alélica no grupo de doentes com DP e no grupo controle**

Número de Cópias VNTR	Doentes n=116 (%)	Controlos n=128 (%)
<b>Frequência alélica</b>		
9	32 (13.8)	37 (14.5)
10	179 (77.2)	209 (81.6)
11*	21 (9.1)	10 (3.9)
<b>Frequência genótipa</b>		
9/9	12 (10.3)	15 (11.7)
10/9	7 (6.0)	6 (4.7)
10/10	84 (72.4)	101 (78.9)
11/9	1 (0.8)	1 (0.8)
11/10	4 (3.4)	1 (0.8)
11/11	8 (6.9)	4 (3.1)

\* p<0.02, odds ratio = 2.45 (intervalo de confiança de 95%, 1.1 – 5.7). Fonte: (<sup>106</sup>)

No estudo efetuado numa população Tailandesa por Lin et al. (2003) foram identificados os alelos com 6, 7, 8, 9, 10 e 11 cópias do polimorfismo VNTR. No



entanto, o alelo mais comum entre no grupo de doentes e no grupo controlo foi o alelo 10 (88.6% e 91.5%, respetivamente). Foi também observada uma diferença significativa entre o genótipo 10/10 do polimorfismo VNTR entre o grupo de doentes e o controlo ( $\chi = 54.569$ ;  $RP = 0.66$ ;  $95\% \text{ CI} = 4.45-0.97$ ;  $p=0.033$ ), sugerindo que a variante tem um risco reduzido para a DP. Os autores especulam que o genótipo 10/10 da DAT pode resultar numa expressão mais estável da proteína, conferindo uma proteção contra toxinas e, assim, prevenir a toxicidade nos neurónios dopaminérgicos.<sup>108</sup>

Em suma, estes e outros resultados sugerem que o alelo 11 é mais frequente na população coreana e está associado positivamente ao risco da DP<sup>106</sup>. Este resultado é especialmente interessante porque as variantes VNTR da DAT incluem sítios de ligação para fatores de transcrição e, desta forma, podem influenciar diretamente a expressão da DAT. Especula-se que o polimorfismo com 11 cópia do VNTR da DAT pode aumentar a sua expressão, aumentando o transporte de toxinas, como o MPP<sup>+</sup>, para o terminal nervoso e probabilidade de formação de produtos tóxicos para os neurónios dopaminérgicos.<sup>107,108</sup> Além disso, o alelo 10 do VNTR mostrou ser mais frequente na população tailandesa mas, ao contrário do estudo anterior, parece conferir alguma proteção para a DP.<sup>108</sup> Por fim, parece não haver uma associação significativa entre este polimorfismo e a DP em chineses<sup>109,110</sup> e caucasianos<sup>107</sup>.

### 3.1.5. POLIMORFISMOS NO GENE TIROSINA HIDROXILASE

O gene da tirosina hidroxilase (TH) está localizado no cromossoma 11 e a enzima codificada tem uma função limitante na síntese de dopamina, pelo que variantes neste gene podem estar envolvidas na patogénese da doença Parkinson.<sup>10</sup>

Um dos potenciais polimorfismos no gene TH envolvidos na patogenia da DP é a substituição de uma valina por uma metionina na posição 81 (Val81Met), embora o seu efeito na atividade da enzima não seja claro.<sup>10</sup>

No estudo apresentado por Kunugi et al. (1998) foram genotipados uma amostra japonesa constituída por 99 doentes com DP e 161 controlos para o polimorfismo Val81Met no gene TH, mas os autores não encontraram uma associação alélica ou genotípica do polimorfismo Val81Met com DP.<sup>111</sup>

Então, segundo este estudo, o gene TH não parece ter um papel relevante na patogenia de DP. No entanto, é necessário realizar mais estudos para confirmar estes



resultados e mesmo realizar estudos em outras populações para verificar se não há diferenças étnicas.<sup>10</sup>

### 3.1.6. POLIMORFISMOS NO GENE SNCA

A  $\alpha$ -sinucleína é uma proteína pré-sináptica altamente expressa no cérebro e, apesar da sua função ainda não estar totalmente esclarecida, há evidências de que esta proteína está envolvida na doença de Parkinson. De facto, têm sido encontradas mutações no gene SNCA em doentes com DP autossómica dominante e identificou-se a  $\alpha$ -sinucleína como o principal constituinte dos corpos de Lewy. Além disso,  $\alpha$ -sinucleína parece estar envolvida na plasticidade sináptica, no transporte das vesículas sinápticas, na diferenciação neuronal e na sobrevivência dos neurónios dopaminérgicos. Por estes motivos, tem sido especulado que uma alteração da função normal da  $\alpha$ -sinucleína pode ser importante para a patogénese da DP. Então, para investigar o papel da  $\alpha$ -sinucleína na DP têm sido realizados estudos de associação entre polimorfismo no gene SNCA e a suscetibilidade da DP.<sup>112</sup>

Um polimorfismo numa sequência micro-satélite (designada NACP-Rep1), cerca de 10 kb a montante do local de início da transcrição do SNCA, exhibe cinco tamanhos de alelos comuns na população humana. O *loci* consiste num motivo  $(TC)_x(T)_2(TC)_y(TA)_2(CA)_w$ , com demonstradas diferenças de expressão relacionadas com o tamanho. O alelo mais comum em indivíduos da Europa ancestral foi designado de (+1) no artigo original por Xia et al., com designações alélicas alternativas representativas dos tamanhos relativos de micro-satélite; o alelo (0) é dois pb mais curto do que o alelo (+1) e os alelos (+2) e (+3) são de dois e quatro pb mais longos do que o alelo (+1) alelo, respetivamente. Usando esta convenção, os cinco alelos observados em populações humanas são: -1 (265pb), 0 (267pb), +1 (269pb), +2 (271pb) e +3 (273pb). O alelo (+1) exhibe uma expressão 3 vezes maior do que o alelo (0), enquanto os alelos (+2) e (+3) mostram expressões intermédias (1,5 e 2,5 mais expressas relativamente ao alelo (0), respetivamente).<sup>112-114</sup>

Spadafora et al. (2003) publicou os resultados de um estudo no qual genotiparam a sequência NACP-Rep1 em indivíduos com DP e saudáveis do sul da Itália. Nesta genotipagem foram identificados 4 alelos do polimorfismo NACP-Rep1 (-1, 0, +1 e +2) e, perante a análise das frequências alélicas e genótipas (tabelas 24 e 25,



respetivamente), não houve diferenças significativas entre o grupo de doentes e o grupo controlo. Assim, neste estudo não foi mostrada qualquer associação entre NACP-Rep1 e o risco para a DP.<sup>112</sup>

**Tabela 24 - Frequência alélica do polimorfismo NACP-Rep1 em doentes com doença de Parkinson e controlos**

Alelo (pb)	DP (%; n = 378)	Controlo (%; n = 364)	RP (IC a 95%)
265	1 (0.3)	4 (1.1)	0.23 (0.04–1.50)
267	99 (26.2)	105 (28.8)	0.88 (0.64–1.22)
269	250 (66.1)	234 (64.3)	1.0
271	28 (7.4)	21 (5.8)	1.24 (0.69–2.25)

RP foi ajustada consoante a idade e género por regressão logística. **Abreviações:** pb, pares de base; DP, Doença de Parkinson; RP, razão de probabilidades. Fonte: <sup>(112)</sup>

**Tabela 25 - Frequência do genótipo do polimorfismo NACP-Rep1 em doentes com doença de Parkinson e controlos**

Genótipo (pb)	DP (%; n = 189)	Controlo (%; n = 182)	RP (IC a 95%)
265/269	1 (0.5)	4 (2.2)	0.35 (0.04–3.51)
267/267	11 (5.8)	13 (7.1)	1.02 (0.36–2.91)
267/269	71 (37.6)	74 (40.7)	0.84 (0.49–1.44)
267/271	6 (3.2)	5 (2.7)	0.90 (0.23–3.44)
269/269	78 (41.3)	70 (38.5)	1.0
269/271	22 (11.6)	16 (8.8)	1.12 (0.49–2.56)

**Abreviações:** pb, pares de base; DP, Doença de Parkinson; RP, razão de probabilidades. Fonte: <sup>(112)</sup>

Os autores comparam ainda os seus resultados com outros estudos realizados anteriormente e em outras populações (tabela 26). Em 1999, de Kruger et al. mostrou que o alelo de 263 pb do locus NACP-REP1, no gene SNCA, foi associado a um risco 2,2 vezes maior risco de desenvolver a DP na população alemã. Essa associação entre o locus NACP-REP1 e DP foi também confirmada por outros autores que analisaram outras populações caucasianas. No entanto, não foi possível demonstrar uma associação entre um alelo NACP-REP1 e a DP em uma amostra da população do sul da Itália. Todavia, estes resultados foram consistentes com os relatados por Khan et al. numa população do Reino Unido. Interessantemente, os estudos que encontraram uma associação entre o polimorfismo NACP-REP1 e a DP foram conduzidos em populações em que o alelo de 271 pb apresenta maior frequência, ao passo que não foi encontrada nenhuma associação entre o alelo NACP-Rep1 no Reino Unido ou populações no sul da Itália (presente estudo), em que o alelo mais comum foi o de 269 pb. Entre os estudos



em que o 271 bp foi o alelo mais frequente, apenas Parsian et al. não encontrou nenhuma associação entre o locus NACP-REP1 e a DP. Este resultado não era surpreendente porque a amostra de que os autores analisaram era bastante pequeno para se obter resultados significativos. De fato, uma meta-análise dos três estudos publicados por Tan et al., Parsian et al. e Kruger et al. (1999) confirmaram uma associação significativa entre o polimorfismo NACP-REP1 e a DP. Em comparação com populações caucasianas, os estudos realizados em populações asiáticas mostraram uma frequência de alelos diferentes e resultados contrastantes sobre a associação entre o alelo de 273 pb e DP.<sup>112</sup>

**Tabela 26– Revisão de estudos analisando a associação do polimorfismo RCP-Rep1 e a suscetibilidade da Doença de Parkinson**

		Alelos						
		263 bp	265 bp	267 bp	269 bp	271 bp	273 bp	275 bp
Associação Positiva	America	Referência Bibliográfica						
		Kruger et al.						
					20.2	69.1	10.7	
					22.8	72	5.2	
	America	Tan et al.						
					21	70	9.0	
					28	69.5	2.5	
	America	Farrer et al.						
				0.2	20.6	70.3	8.8	0.2
				0.8	29.1	62.4	7.4	0.3
Ásia	Tan et al.							
				31	30	37		
				41	34	23		
Associação Negativa	Itália	This study						
			0.3	26.2	66.1	7.4		
			1.1	28.8	64.3	5.8		
	Reino Unido	Khan et al.						
				25.1	69.4	5.5		
				26.1	65.5	8.4		
	America	Parsian et al.						
					23.3	70.6	6.0	
					35.4	57.5	6.9	
	Ásia	Izumi et al.						
			0.25	40.7	24.7	33	1.2	
		0.4	0.2	39	32	27	1.2	
Ásia	Tan et al.							
				41	26	31		
				40	25	33		

Os alelos foram codificados consoante o tamanho reportado em primeiro lugar por Xia et al. **Fonte:** <sup>(112)</sup>

Spadafora et al. sugerem ainda que os resultados contraditórios obtidos nos estudos acima referidos poderiam ser devido a diferenças na estratificação da população, o tamanho reduzido da amostra, controlos mal combinados ou artefactos estatísticos. A frequência dos vários alelos, entre as diferentes populações, pode influenciar esta associação também. Farrer et al., demonstrou uma considerável variabilidade na composição das repetições dinucleotídicas NACP-REP1 com o mesmo comprimento, sugerindo que estes sub-alelos poderiam mascarar uma verdadeira associação entre o alelo NACP-Rep1 e a DP.<sup>112</sup>



Em conclusão, outros estudos baseados na arquitetura sub-alélicas do NACP-REP1 ou polimorfismos vizinhos ou genes candidatos que estão em desequilíbrio de ligação com NACP-REP1 local poderia fornecer informações úteis sobre o possível papel da NACP-REP1 na DP. <sup>112</sup>

### 3.1.7. POLIMORFISMOS EM ENZIMAS METABOLIZADORAS DE XENOBIÓTICOS

Os investigadores têm postulado que certas enzimas do sistema citocromo P450 (CYP) proporcionam um mecanismo de proteção contra neurotoxinas ambientais. <sup>10</sup> Existem mais de 35 enzimas P450, mas apenas 6 têm sido estudadas no âmbito da DP: CYP2D6, CYP1A1, CYP2C9, CYP2C19, CYP1A2 e CYP2E1. <sup>115</sup>

O CYP2D6 tem sido o gene mais estudado. Este localiza-se no cromossoma 22 e codifica a enzima de fase I debrisoquina 4-hidroxilase, que metaboliza uma grande variedade de substâncias, incluindo o MPTP. <sup>10</sup> Nesse caso, alterações na expressão do CYP2D6 podem influenciar a neurotoxicidade do MPTP; níveis elevados de CYP2D6 são neuroprotectores enquanto níveis baixos reduzem a neuroproteção. Além disso, estudos sugerem que os níveis de CYP2D6 em doentes com DP estão aumentados e, uma vez que CYP2D6 pode sintetizar tiramina e metaboliza-la em dopamina, especula-se que este aumento do CYP2D6 na *SN* constitui um mecanismo compensatório para a perda de DA ou para aliviar a neurotoxicidade existente na *SN*. Perante isto, tem sido proposto que variantes genéticas no gene CYP2D6 que codificam para enzimas não funcionais aumentam o risco de DP. <sup>116</sup>

As frequências populacionais do fenótipo do CYP2D6 podem ser agrupadas em três categorias: metabolizadores rápidos (MR, "normais"), metabolizadores intermédios (IM) e metabolizadores lentos (ML). Há também um número muito pequeno de indivíduos que têm uma atividade enzimática extremamente rápida (metabolizadores ultra-rápidos). A atividade fenotípica de CYP2D6 é principalmente, mas não exclusivamente, controlada pelas diferentes variantes (ou alelos) do gene CYP2D6. De todos os alelos do CYP2D6 que resultam num fenótipo de ML, os mais frequentes são: CYP2D6\*3 (CYP2D6A; 2549a> *del*, uma alteração que provoca um *frameshift*), CYP2D6\*4 (CYP2D6B; 1846 G>A na junção do intrão3 com exão4) e CYP2D6\*5 (CYP2D6D;



uma deleção completa do gene); CYP2D6\*6 (CYP2D6T) e CYP2D6\*7 (CYP2D6E).  
115, 117

Nas tabelas 27 e 28 estão sumarizadas as conclusões da associação do CYP2D6 e a DP em estudos fenótipos e genótipos, respetivamente. Dos fenótipos estudados apenas 1 apresentou uma associação significativa entre o fenótipo ML do CYP2D6 e a DP. Apenas 7 dos 17 genótipos apresentados mostraram uma correlação entre a DP e CYP2D6B estatisticamente significativa; as restantes não mostraram nenhuma associação significativa. Perante estes resultados, é sugerido que o gene CYP2D6B não esteja implicado na DP.<sup>115</sup>

**Tabela 27 – CYP2D6 e Doença de Parkinson - estudos sobre fenótipos**

População	Controlos	DP	ML e DP	Referência Bibliográfica
Canada	40 (8%)	40 (10%)	Sim	Barbeau et al.
Canada	100 (?)	100 (?)	Não	Poirier et al.
EUA A.	19 (?)	35 (?)	Não	Comella et al.
Canada	19 (?)	35 (?)	Não	Tanner et al.
Grã-Bretanha	18 (11%)	66 (9%)	Não	Steventon et al.
Grã-Bretanha	18 (?)	66 (?)	Não	Steventon et al.
Japão	? (?)	49 (11%)	Não	Chiba et al.
Espanha	(6%)	87 (3%)	Não	Benitez et al.
França	(15%)	20 (20%)	Não	Meillard et al.
Suécia	(7%)	34 (3%)	Não	Gudjonsson et al.
Finlândia	(5%)	97 (4%)	Não	Kallio et al.
Grã-Bretanha	143 (9%)	80 (18%)	Não	Steiger et al.
China	29 (0%)	55 (0%)	Não	Liu et al.
Japão	84 (2%)	71 (0%)	Não	Yoshino et al.

Os números representam o número de indivíduos controlo e com Doença de Parkinson em cada estudo; os números entre parêntesis representam a percentagem de indivíduos daquele grupo que apresentaram um fenótipo de metabolizador lento do CYP2D6. **Abreviações:** DP, Doença de Parkinson; ML, metabolizadores lentos; **Sim**, correlação entre a DP e ML estatisticamente significativa; **Não**, sem correlação entre a DP e ML. **Fonte:**<sup>(115)</sup>



**Tabela 28 - CYP2D6 e Doença de Parkinson - estudos sobre genótipos**

População	Controlos	DP	CYP2D6B and DP	Referência Bibliográfica
Grã-Bretanha	72 (0%, 17%)	53 (2%, 40%)	Sim	Armstrong et al.
Grã-Bretanha	720 (4%, 30%)	193 (10%, 26%)	Sim	Smith et al. †
Europa	110 (5%, 29%)	50 (10%, 46%)	Sim	Kurth & Kurth
França	? (?)	105 (2%, 29%)	Não	Bordet et al.
Grã-Bretanha	17 (21%*)	19 (37%*)	Sim	Rempfer et al.
Espanha	150 (3%, 17%)	90 (1%, 16%)	Não	Agundez et al.
Rússia	70 (1%, 20%)	38 (0%, 42%)	Sim	Akhmedova et al.
Grã-Bretanha	720 (5%*)	272 (12%*)	Sim	Chaudhuri et al.
EUA	? (21%*)	113 (20%*)	Não	Kurth et al.
EUA	78 (21%*)	113 (20%*)	Não	Kurth et al.
França	130 (2%, 35%)	130 (2%, 29%)	Não	Bordet et al.
Alemanha	23 (? , 30%)	20 (? , 30%)	Não	Kosel et al.
Portugal	196 (5%, 32%)	132 (5%, 26%)	Não	Goncalves et al.
Alemanha	73 (4%, 32%)	115 (6%, 30%)	Não	Gasser et al.
França	47 (2%, 17%)	47 (11%, 28%)	Sim	Lucotte et al.
Luxemburgo	106 (7%, 26%)	48 (4%, 38%)	Não	Diederich et al. †

Os números representam o número de indivíduos controlo e com Doença de Parkinson em cada estudo; o primeiro número entre parêntesis representa a percentagem de homocigóticos (A/A) do alelo CYP2D6B; o segundo número entre parêntesis representa a percentagem de heterocigóticos (G/A) do alelo CYP2D6B; \* os autores não especificaram se a percentagem é para homocigóticos ou heterocigóticos. **Abreviações:** DP, Doença de Parkinson; **Sim**, correlação entre a DP e CYP2D6B estatisticamente significativa; **Não**, sem correlação entre a DP e CYP2D6B. **Fonte:** adaptado de <sup>(115)</sup>

Na tabela 29 estão sumarizados estudos que relacionam o genótipo do CYP2D6B com a Doença de Parkinson de Início Precoce (considerada pelos autores < dos 50 anos). Dos 5 estudos apresentados apenas 2 mostram uma associação significativa entre a DPIP e o CYP2D6B. No entanto é importante realçar que estes dois estudos utilizaram uma amostra pequena. Já o estudo publicado por Sandy et al., em que a amostra era bastante maior (n=108), não encontrou nenhuma associação <sup>(115)</sup>

**Tabela 29 - CYP2D6 e Doença de Parkinson de Início Precoce - estudos genótipos**

População	Controlos	DPIP	CYP2D6B and DPIP	Referências Bibliográficas
Suíça	81 (22%*)	52 (36%*)	Sim	Taeschner et al.
Espanha	150 (3%, 17%)	33 (0%, 48%)	Sim	Agundez et al.
EUA	236 (20%*)	108 (14%*)	Não	Sandy et al.
Luxemburgo	106 (7%, 26%)	20 (5%, 30%)	Não	Diederich et al.
Alemanha	73 (4%, 32%)	40 (18%*)	Não	Gasser et al.

Os números representam o número de indivíduos controlo e com Doença de Parkinson em cada estudo; o primeiro número entre parêntesis representa a percentagem de homocigóticos (A/A) do alelo CYP2D6B; o segundo número entre parêntesis representa a percentagem de heterocigóticos (G/A) do alelo CYP2D6B; \* os autores não especificaram se a percentagem é para homocigóticos ou heterocigóticos. **Abreviações:** DPIP, Doença de Parkinson de Início Precoce; **Sim**, correlação entre a DPIP e CYP2D6B estatisticamente significativa; **Não**, sem correlação entre a DPIP e CYP2D6B. **Fonte:** <sup>(115)</sup>

Num outro estudo publicado por Singh et al. (2008) mostraram que o genótipo heterocigótico era mais frequente em doentes com DP em comparação com indivíduos saudáveis enquanto o genótipo homocigótico (A/A) não mostrou uma diferença significativa entre a expressão no grupo controlo e no grupo dos doentes (tabela 30).



Estes resultados sugerem uma associação entre os metabolizadores lentos para o CYP2D6 e um aumento do risco de DP em Norte Indianos.<sup>100</sup>

**Tabela 30 - Frequência alélica e do genótipo do CYP2D6\*4**

Genótipo e frequência alélica	Controles N = 100	Casos N = 70	RP (IC a 95%)	P	RP ajust. (IC a 95%)	P e
<i>CYP2D6*4(1934G/A)</i>						
GG	80 (80%)	48 (68.5%)	1.0 (ref.)			
GA	18 (18%)	21 (30%)	1.94 (0.94–4.01)	0.06	1.85 (0.89–3.83)	0.10
AA	2 (2%)	1 (1.5%)	0.84 (0.08–8.98)	0.44	0.68 (0.05–8.43)	0.76
GA + AA	20 (20%)	22 (31.5%)	1.83 (0.91–3.70)	0.08	1.73 (0.85–3.53)	0.13
G/A	0.89/0.11	0.84/0.16				

**Abreviações:** Ref, referência; RP, razão de probabilidades; IC, intervalo de confiança, RP ajust., Razão de Probabilidades ajustado para a idade e género; \* P<0.05 é considerado significativo. **Fonte:** adaptado (<sup>100</sup>)

Por fim, refiro as conclusões do estudo publicado por Bialecka et al. (2007) e no qual não foi encontrada nenhuma associação entre o genótipo do CYP2D6 e a DPIP (diagnosticados antes do 50 anos de idade) e DPIT (Doença de Parkinson de Início Tardio; diagnosticados depois dos 60 anos de idade), na população Caucasiana.<sup>118</sup>

Perante estes estudos, a relação entre os polimorfismos no gene CYP2D6 e o risco de Doença de Parkinson continua a ser uma questão controversa.

O gene CYP2E1 está localizado no cromossoma 1 e codifica para uma enzima induzida por etanol aparentemente envolvida na ativação de neurotoxinas, que aumentam o stresse oxidativo e causam depleção da glutathione.<sup>10, 119</sup>

Têm sido reportados vários polimorfismos na região regulatória 5' do gene CYP2E1, como por exemplo o *SNP* no sítio de restrição Rsa I (CYP2E1\*5B; -1019C>T). Estudos sugerem que este polimorfismo afeta a transcrição do gene, sendo associado a aumento da transcrição do gene, a maiores níveis proteicos e a uma maior atividade enzimática, aumentando a formação de ROS responsáveis pela morte neuronal da SN. No entanto, a relação entre este gene e a suscetibilidade para a DP ainda não está completamente esclarecida.<sup>120</sup>

Na tabela 31 estão apresentados os resultados do estudo publicado por Wu et al. (2002) no qual o foi testar a hipótese de que o alelo T do CYP2E1\*5B pode aumentar o risco relativo da DP e que esta associação pode ser mais evidente em doentes com DP de início precoce (DPIP), numa população tailandesa. Esta hipótese não foi confirmada uma vez que os autores não encontraram uma diferença significativa do alelo C entre os doentes e os controlos de cada grupo, assim como não encontraram nenhuma associação



entre o polimorfismo e a DPIP. Os autores ainda compararam a frequência do polimorfismo CYP2E1\*5B no grupo controlo Tailandeses com frequência descritas em outros estudos realizados noutras populações (tabela 32). Foi notória a diferença étnica na frequência deste polimorfismo, sendo que a frequência do alelo T do CYP2E1\*5B maior na população Tailandesa, Chinesa ou Japonesa (populações Asiáticas) do que na população Caucasiana.<sup>120</sup>

**Tabela 31 - Distribuição da frequência alélica e do genótipo do polimorfismo CYP2E1\*5B**

Polimorfismo CYP2E1*5b	Doentes N (%)	Controlos N (%)	p	RP (IC a 95%)
<b>DPIT</b>	178	175		
<b>Total de alelos</b>			0.858	
C	276 (77.5)	269 (76.9)		
T	80 (22.5)	81 (23.1)		1.039 (0.731-1.477)
<b>Genótipo</b>			0.895	
C/C	106 (59.5)	101 (57.7)	0.747	1.079 (0.706-1.648)
C/T	64 (36.0)	67 (38.3)	0.601	0.905 (0.588-1.394)
T/T	8 (4.5)	7 (4.0)	1.000	1.129 (0.401-3.184)
<b>DPIP</b>	56	76		
<b>Total de alelos</b>			0.569	
C	82 (73.2)	116 (76.3)		
T	30 (26.8)	36 (23.7)		0.848 (0.484-1.487)
<b>Genótipo</b>			0.791	
C/C	29 (51.8)	43 (56.6)	0.601	0.824 (0.412-1.649)
C/T	24 (42.9)	30 (39.5)	0.723	1.150 (0.570-2.319)
T/T	3 (5.3)	3 (3.9)	0.698	1.377 (0.267-7.093)

**Abreviações:** DPIT, Doença de Parkinson de Início Tardio (>50 anos de idade); DPIP, Doença de Parkinson de Início Precoce (<50 anos de idade); RP, razão de probabilidades. **Fonte:** <sup>(120)</sup>

**Tabela 32- Distribuição étnica do polimorfismo CYP2E1 RsaI em indivíduos controlo**

Etnia	Frequência do CYP2E1 RsaI *	Referência
Tailandeses (n = 251)	0.23	Este estudo
Tailandeses (n = 120)	0.28	Stephens et al. (1994)
Chineses (n=150)	0.23	Wang et al. (2000)
Japoneses (n = 49)	0.27	Kato et al. (1992)
Japoneses (n=75)	0.20	Iwahashi et al. (1997)
Coreanos (n = 31)	0.17	Lee et al. (1997)
Caucasianos (n = 107)	0.02	Kato et al. (1992)
Euro-Americanos (n = 449)	0.04	Stephen set al. (1994)
Suecos (n = 202)	0.05	Persson et al. (1993)
Afro-Americanos (n = 126)	0.01	Stephen set al. (1994)

\* As frequências do polimorfismo CYP2E1 RsaI foram baseadas nos indivíduos controlo dos estudos populacionais. **Fonte:** adapt.<sup>(120)</sup>

Confirmando as diferenças étnicas entre a frequência alélica do CYP2E1\*5B, Singh et al. (2008) encontrou uma associação positiva entre o genótipo heterozigótico (C/T) do polimorfismo CYP2E1\*5B e a DP numa população Indiana, uma vez que o genótipo



C/T foi sobre expresso no grupo de doentes. No entanto, o genótipo homocigótico (T/T) não foi identificado quer no grupo dos doentes quer no grupo controlo.<sup>100</sup>

Num outro estudo publicado por Shahabi et al. (2009) foi investigada a associação entre alguns polimorfismos do CYP2E1 [Rs915906 (C/T no intrão 2); rs915908 (G/A no intrão 5); rs2070676 (C/G no intrão 7; CYP2E1 1B); rs915907 (C/A no intrão 4); rs743534 (A/C no intrão 6) e rs2249695 (C/T no intrão 8)] e a doença de Parkinson, numa população Sueca. Os resultados (tabela 33 e 34) indicam uma possível associação entre o polimorfismo rs2070676 e a doença de Parkinson, uma vez que o alelo C do CYP2E1 1B foi mais comum no grupo de doentes com DP do que no grupo controlo.<sup>119</sup>

**Tabela 33 – Frequência alélica de SNPs no gene CYP2E1**

Polimorfismo	Alelo (%)		p
	T	C	
<b>rs 915906</b>			
Doentes	566 (86.3)	90 (13.7)	0.932
Controlos	430 (86)	70 (14)	
RP (IC de 95%)			0.977 (0.70–1.37)
<b>rs915907</b>			
Doentes	562 (82.6)	118 (17.4)	0.536
Controlos	447 (84)	85 (16)	
RP (IC de 95%)			1.104 (0.81–1.50)
<b>rs915908</b>			
Doentes	568 (85.5)	96 (14.5)	0.466
Controlos	448 (83.9)	86 (16.1)	
RP (IC de 95%)			0.880 (0.64–1.21)
<b>rs743534</b>			
Doentes	582 (90.9)	58 (9.1)	0.181
Controlos	385 (88.3)	51 (11.7)	
RP (IC de 95%)			0.752 (0.51–1.12)
<b>rs2070676</b>			
Doentes	607 (90.9)	61 (9.1)	<b>0.026</b>
Controlos	465 (86.8)	71 (13.2)	
RP (IC de 95%)			0.658 (0.46–0.95)
<b>rs2249695</b>			
Doentes	547 (80.4)	133 (19.6)	0.718
Controlos	423 (79.5)	109 (20.5)	
RP (IC de 95%)			0.944 (0.71–1.25)

p é baseado na comparação da frequência alélica entre doentes e controlos usando o teste de Fisher;  $p < 0.05$  é considerado como significativo. **Abreviaturas:** RP, Razão de probabilidades; IC, Intervalo de confiança; T, timina; C, citosina; A, adenina; G guanina. **Fonte:** <sup>(119)</sup>

**Tabela 34 – Frequência genotípica do polimorfismo rs2070676 do gene CYP2E1**

Grupo	Genótipo (%)			$\chi^2$	P
	CC	CG	GG		
Doentes	273 (81.7)	61 (18.3)	0 (0)	7.245	<b>0.027</b>
Controlos	200 (74.6)	65 (24.3)	3 (1.1)		

P é baseado na comparação entre doentes e controlos usando o teste  $\chi^2$ ;  $p < 0.05$  é considerado como significativo. **Abreviações:** C, citosina; G, guanina. **Fonte:** <sup>(119)</sup>

Em suma, estes e outros resultados<sup>10</sup> sugerem que os polimorfismos no gene CYP2E1 não estão relacionados com a suscetibilidade da doença de Parkinson.<sup>10, 120</sup>



CYP1A1 é uma enzima indutível por dioxinas, que é responsável pela ativação de pró-carcinogêneos e poluentes ambientais, tais como o benzo(alfa)pireno e outros hidrocarbonetos aromáticos.

Têm sido identificados dois polimorfismos no gene CYP1A1: o polimorfismo Msp I na região 3' e um *SNP* no exão 7 (A>G; m1/m2 no exão 7) que conduz a uma substituição de aminoácido Ile462Val na proteína CYP1A1. Takakubo et al. (1996) investigou a possível associação genética entre estes polimorfismo e a suscetibilidade para a doença de Parkinson numa população Japonesa. Com a análise dos resultados foi observado uma associação positiva entre os polimorfismos do CYP2E1 estudado e a DP: o risco de desenvolvimento de DP nos homozigóticos m2/m2 foi de 2.34 maior do que nos homozigóticos m1/m1 (tabela 35) e o risco de DP dos homozigóticos para Val/Val foi 6.47 maior do que os homozigóticas Ile/Ile (tabela 36).<sup>121</sup>

**Tabela 35 – Genótipo (A) e frequência alélica (B) do polimorfismo Msp I do gene CYP1A1 em doentes com DP e controles**

(A)		Genótipo	Doentes com DP	Controlos	
*	□	tipo A (m1m1)	39	73	
		tipo B (m1m2)	62	83	
		tipo C (m2m2)	25	20	
		Total	126	176	
		<sup>*</sup> $\chi^2 = 5.19$	df = 1	p < 0.05	rr = 2.34
		<sup>**</sup> $\chi^2 = 1.78$	df = 1	p > 0.05	rr = 1.67
(B)		Alelo	Doentes com DP	Controlos	
***	□	m1	0.556 (140)	0.651 (229)	
		m2	0.444 (112)	0.349 (123)	
		<sup>***</sup> $\chi^2 = 5.19$ , df = 1, p < 0.05.			

P<0.05 como nível de significância; (B) os números entre parêntesis indicam o número de indivíduos observados.  
**Abreviações:** DP, Doença de Parkinson; **rr**, risco relativo. **Fonte:** (121)

**Tabela 36 - Genótipo (A) e frequência alélica (B) do polimorfismo Ile462Val no gene CYP1A1 em doentes com DP e controles**

(A)		Genótipo	Doentes com DP	Controlos	
*	□	Ile Ile	64	115	
		Ile Val	44	56	
		Val Val	18	5	
		Total	126	176	
		<sup>*</sup> $\chi^2 = 13.56$	df = 1	p < 0.001	rr = 6.47
		<sup>**</sup> $\chi^2 = 7.44$	df = 1	p < 0.01	rr = 3.82
(B)		Alelo	Doentes com DP	Controlos	
***	□	Ile	0.683 (172)	0.8125 (286)	
		Val	0.317 (80)	0.1875 (66)	
		<sup>***</sup> $\chi^2 = 12.83$ , df = 1, p < 0.001.			

P<0.001 como nível de significância; (B) os números entre parêntesis indicam o número de indivíduos observados.  
**Abreviações:** DP, Doença de Parkinson; **rr**, risco relativo; **Val**, valina; **Ile**; Isoleucina. **Fonte:** (121)



Chan et al. (2002) realizou um estudo para analisar a associação do polimorfismo Ile462Val no gene CYP1A1 e o risco de DP na população Chinesa, mas não encontrou nenhuma associação significativa.<sup>120</sup>

Em suma, estes e outros estudos sobre a correlação entre o CYP2E1 e a suscetibilidade da Doença de Parkinson foram inconclusivos.<sup>10</sup>

No geral, todos estes resultados não sugerem qualquer associação entre as enzimas P450 e o risco de Doença de Parkinson.<sup>10</sup>

### 3.2. POLIMORFISMOS ASSOCIADOS ÀS COMPLICAÇÕES MOTORAS INDUZIDAS PELO TRATAMENTO DA DP

O mecanismo envolvido no desenvolvimento das complicações motoras ainda não está totalmente elucidado. No entanto, especula-se que, em parte, envolva polimorfismos em genes que afetam a farmacodinâmica e farmacocinética da levodopa.<sup>10</sup>

#### 3.2.1. INFLUÊNCIA DAS VARIANTES NOS GENES MAO-B E COMT NA INDUÇÃO DE COMPLICAÇÕES MOTORAS PELA LEVODOPA

Como referido anteriormente, na prática clínica, a levodopa é quase sempre administrada em conjunto com um inibidor periférico da enzima descarboxilase. Este diminui a porção de fármaco convertido a dopamina na periferia mas, em contra partida, o metabolismo da L-dopa é deslocado predominantemente para a formação de 3-O-metildopa (3 -OMD) pela enzima COMT no fígado e em outros tecidos. Perante isto, especula-se que o polimorfismo da COMT pode afetar o metabolismo de L-dopa e contribuir para as diferenças notáveis observadas entre os doentes tratados com levodopa ou terapia combinada.<sup>97</sup>

O alelo A da COMT que codifica uma metionina (Met) é associado a uma diminuição da atividade enzimática, resultando numa maior biodisponibilidade de levodopa e em níveis de dopamina sináptica mais elevados. Assumindo o polimorfismo da COMT rs4680 como um contribuinte significativo na resposta cinética e dinâmica na resposta à levodopa, é de esperar que os doentes com o alelo A da COMT apresentem



uma AUC<sup>(††††)</sup>, C<sub>max</sub><sup>(††††)</sup> e tempo de meia-vida plasmática maior do que os doentes com o genótipo G/G ou G/A da COMT. Estas alterações farmacocinéticas podem ser combinadas com um efeito mais sustentado e uma melhor resposta motora no alelo A da COMT. <sup>97</sup> De fato, vários estudos nesta matéria têm documentado que doentes com o alelo COMT H/H de alta atividade metabólica experimentam com mais frequência discinesias graves e outras flutuações motoras, quando comparados com doentes com o genótipo COMT L/L. No entanto, há estudos que contrariam estes resultados. <sup>82, 122</sup>

Em 2005, Coutin et al. publicou os resultados de um estudo que tinha como objetivo explorar o efeito do polimorfismo Val158Met da COMT na farmacocinética e farmacodinâmica de uma dose *standard* de levodopa/bensarazida em doentes com DP. Neste estudo prospetivo foram incluídos 104 doentes com DP de origem Italiana, dos quais 19 doentes (18%) são homozigóticos para o genótipo da COMT de baixa atividade (A/A), 63 doentes (63%) têm o genótipo heterozigótico de atividade intermédia da COMT (A/G) e 22 doentes (21%) possuem o genótipo homozigótico de elevada atividade da COMT (G/G). Os autores observaram que 8 dos 19 doentes com genótipo A/A (42%), 23 dos 63 doentes (36%) do genótipo G/A e 7 dos 22 doentes (32%) apresentaram discinesias. No entanto as diferenças nestas percentagens não são consideradas significativas. Em conclusão, este estudo não identificou um efeito significativo do polimorfismo funcional G158A da COMT sobre a biodisponibilidade oral de uma dose padrão de levodopa/bensarazida numa amostra clínica e geneticamente definida de doentes Italianos com DP. <sup>97</sup>

Em 2011, Lonneke M.L. Lau et al. publicou os resultados de um estudo utilizando uma coorte prospetiva de 219 indivíduos com DP do Reino Unido, com o intuito de avaliar a associação entre o polimorfismo Val158Met da COMT e o desenvolvimento de discinesias nestes doentes. A genotipagem destes 219 doentes foi realizada com sucesso e, durante os quase 4 anos de seguimento destes doentes, 98 doentes (45%) desenvolveram discinesias. Consoante os diferentes genótipos da COMT (GG, AG, AA), a figura 47 mostra o *hazard ratio* (HRs) com um intervalo de confiança de 95% para a ocorrência de discinesias durante o tempo de seguimento. Os autores observaram

---

(††††) AUC – *Area under the curve*, representa graficamente a concentração do fármaco em função do tempo.

(††††) C<sub>max</sub> - representa a maior concentração sanguínea alcançada pelo fármaco após administração oral, sendo, por isso, diretamente proporcional à absorção.



que o alelo A, em especial o genótipo AA, está associado a um aumento significativo do risco de desenvolver discinesias durante o tempo de seguimento (modelo 1 da tabela 37). Verificaram também que este resultado não foi atenuado após um ajuste adicional na duração e dose do tratamento com levodopa e agonistas dopaminérgicos (modelo 2 da tabela 37). É ainda importante referir que neste estudo os autores tentaram limitar os potenciais vies<sup>(§§§§)</sup>, limitando as análises de doentes que não apresentaram discinesias numa linha de base e ajustando a duração da doença, a severidade da doença (Escala de Hoehn e Yahr), a dose diária de levodopa, a dose diária de agonistas dopaminérgicos e a duração do tratamento com levodopa e agonistas dopaminérgicos. Além disso, consideraram apenas a primeira ocorrência de discinesias durante o acompanhamento como o resultado de interesse, reduzindo assim a possível influência de alterações no regime de medicação iniciada após o início de complicações motoras relacionadas com a terapêutica.<sup>122</sup>

**Tabela 37 – Associação entre o polimorfismo Val158Met da COMT e o desenvolvimento de discinesias nestes doentes**

Genótipo	Modelo 1 HR (95% CI)	Modelo 2 HR (95% CI)
GG	1.00 (ref)	1.00 (ref)
AG	2.15 (1.16–3.97)	2.09 (1.07–4.06)
AA	2.61 (1.40–4.86)	2.81 (1.43–5.54)

Modelo 1: ajustado de acordo com a idade, género, duração da doença e severidade da doença (Escala de Hoehn e Yahr); Modelo 2: ajustado de acordo com a idade, género, duração da doença e severidade da doença (Escala de Hoehn e Yahr), dose diária de levodopa, dose diária de agonistas dopaminérgicos e duração do tratamento com levodopa e agonistas dopaminérgicos. **Abreviações:** **HR**, *hazard ratio*; **Ref**, valor de referência; **A**, adenina; **G** guanina. **Fonte:** <sup>(122)</sup>

Em 2012 foi publicado um outro estudo por Torkaman-Boutorabi et al. no qual investigaram uma possível associação dos polimorfismos da COMT e MAO-B com a dose diária efetiva em 5 anos de tratamento na população Iraniana. A amostra total constituída por 72 homens e 31 mulheres com DP foi dividida em dois grupos: o grupo 1 é constituído por 44 doentes tratados com uma dose de levodopa  $\leq 500$  mg/24h enquanto o grupo 2 é constituído por 59 doentes tratados com uma dose de levodopa  $\geq 500$  mg/24h. Em 5 anos de tratamento com levodopa, foram diagnosticadas discinesias em 12 dos doentes do grupo 1 (27.3%) e 29 doentes do grupo 2 (49.2%). Ao analisar os resultados obtidos (tabela 38), não foi encontrada qualquer associação entre os

<sup>(§§§§)</sup> **Vies** - erro sistemático ou tendenciosidade.



polimorfismos rs4680 da COMT e rs1799386 da MAO-B com a ocorrência de discinesias. No entanto, o genótipo COMT L/L apresentou uma maior frequência no grupo 2, sugerindo uma relação do genótipo COMT L/L com as discinesias em doentes Iranianos. Este resultado contraria os resultados reportados por Bialecka et al. (2004), ou seja, que uma maior incidência do genótipo COMT L/L no grupo que recebe menores doses diárias de levodopa.<sup>123</sup>

**Tabela 38 – Frequência do genótipo COMT e MAO-B em doentes Iranianos que desenvolveram discinesias**

Genótipo	Grupo 1 (n=44)	Grupo 2 (n=59)	RP (IC de 95%)
<b>COMT</b>			
HH	4 (33.3%)	8 (27.6%)	1.31 (0.30–5.59)
HL	3 (25%)	11 (37.9%)	0.54 (0.12–2.46)
LL	5 (41.7%)	10 (34.5%)	1.35 (0.34–5.39)
<b>MAOB</b>			
A, AA	2 (16.7%)	3 (10.3%)	1.73 (0.25–11.96)
AG	8 (66.7%)	24 (82.6%)	0.41 (0.08–1.94)
G, GG	2 (16.7%)	2 (6.9%)	2.70 (0.33–21.8)

**Abreviações:** COMT, Catecol-O-metil transferase; MAOB, Monoamina oxidase B; RP, razão de probabilidades.  
**Fonte:** adaptado<sup>(123)</sup>

Se a COMT tivesse um papel significativo na determinação da resposta à levodopa, seria esperado que os doentes com o genótipo L/L (proteína de baixa atividade) mostrassem uma maior magnitude de resposta à levodopa, em comparação com os outros genótipos.<sup>124</sup> No entanto, há estudos que não apresentam uma associação significativa entre a resposta a uma única dose de levodopa/bensarazida e os genótipos que determinam a atividade da COMT.<sup>97</sup>

Os inibidores da COMT não aumentam o pico de concentração plasmática de levodopa ou reduzir o tempo para atingir a concentração máxima. No entanto, mantêm os níveis de levodopa durante um período de tempo mais longo e prolonga a duração da ação da levodopa. Portanto, pode-se também supor que os doentes com genótipo COMT L/L teriam uma resposta mais sustentada à levodopa do que os doentes com os outros genótipos (COMT L/H, COMT L/L).<sup>124</sup> No entanto, um estudo publicado em 2010 por Corvol et al. mostrou que a duração média do efeito terapêutico não difere entre os três genótipos.



Perante todos estes resultados em conjunto, parece que a COMT não determina a resposta à levodopa em doentes com DP. No entanto, são necessários mais estudos para clarificar esta questão.<sup>10</sup>

#### 4. CONCLUSÃO

Nos últimos anos, o crescente interesse nas interações entre fatores genéticos e ambientais incitou um grande número de estudos de associação. Estes oferecem uma abordagem potencialmente poderosa para identificar variantes genéticas que influenciam a suscetibilidade à DP. Os genes candidatos foram sugeridos com base no conhecimento da fisiopatologia da DP e incluem principalmente os genes relacionados com a síntese, metabolismo e transporte da dopamina. No entanto, de todos os possíveis genes envolvidos na patogenia da DP apenas alguns parecem estar relacionados com a suscetibilidade da DP, como por exemplo o alelo da MAO-B com mais de 188pb. É também importante realçar que, uma vez que as frequências dos polimorfismos genéticos variam com o grupo étnico em estudo, o efeito dos polimorfismos estudados na suscetibilidade da DP pode ser diferente em consoante populações.<sup>10, 109</sup>

Da mesma forma, os estudos de associação são úteis na análise da correlação entre a suscetibilidade dos indivíduos desenvolverem complicações motoras induzidas pelo tratamento com levodopa. No entanto, os estudos de associação realizados até então não permitem retirar uma conclusão.<sup>10, 109</sup>

No futuro, o entendimento da associação dos polimorfismos nos genes envolvidos na patologia da DP assim como no tratamento ajudarão a desenvolver novas terapias mais precisas que melhorem a qualidade de vida dos doentes e, idealmente curem a doença. Para tal, é sugerido que estudos futuros examinem novos polimorfismos que possam estar associadas ao risco da DP, tais como neurotransmissores, por exemplo, a encefalina e neuropeptídeos. Sugere-se ainda a construção de uma base de dados universal que inclua todos os estudos de associação de genes sobre polimorfismo relacionados com a DP, a fim de facilitar o planeamento de estratégias futuras<sup>10</sup>.



## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Steidl, E. M. S., Ziegler, J. R. & Ferreira, F. V. Doença de Parkinson: Revisão Bibliográfica. *Discip. Sci.* **8**, 115–129 (2007).
2. Crosiers, D., Theuns, J., Cras, P. & Van Broeckhoven, C. Parkinson disease: insights in clinical, genetic and pathological features of monogenic disease subtypes. *J. Chem. Neuroanat.* **42**, 131–41 (2011).
3. Peixinho, A., Azevedo, A. L. & Simões, R. M. Alterações Neuropsiquiátricas da Doença de Parkinson. *Rev. do Serviço Psiquiatr. do Hosp. Fernando Fonseca* **3**, 12–30 (2006).
4. Ropper, A. H. & Brown, R. H. "Abnormalities of Movement and Posture due to Disease of the Basal Ganglia" in *Adams Victor's Princ. Neurol.* 55–70 (McGraw-Hill Medical Publishing Division, 2005).
5. Crittenden, J. R. & Graybiel, A. M. Basal Ganglia disorders associated with imbalances in the striatal striosome and matrix compartments. *Front. Neuroanat.* **5**, 59 (2011).
6. Björklund, A. & Dunnett, S. B. Dopamine neuron systems in the brain: an update. *Trends Neurosci.* **30**, 194–202 (2007).
7. Varçin, M., Bentea, E., Michotte, Y. & Sarre, S. Oxidative stress in genetic mouse models of Parkinson's disease. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2012**, 25 (2012).
8. Simunovic, F. *et al.* Gene expression profiling of substantia nigra dopamine neurons: further insights into Parkinson's disease pathology. *Brain* **132**, 1795–809 (2009).
9. Ali, S. F., Binienda, Z. K. & Imam, S. Z. Molecular Aspects of Dopaminergic Neurodegeneration: Gene-Environment Interaction in Parkin Dysfunction. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **8**, 4702–13 (2011).
10. Gilgun-Sherki, Y., Djaldetti, R., Melamed, E. & Offen, D. Polymorphism in candidate genes: implications for the risk and treatment of idiopathic Parkinson's disease. *Pharmacogenomics J.* **4**, 291–306 (2004).
11. Goldstein, N. *GENES & DISEASE - Parkinson's disease.* Chelsea House Publ. 1–128 (Chelsea House, 2009).
12. Lim, E. A walk through the management of Parkinson s disease. *Ann. Acad. Med. Singapore* **34**, 188–95 (2005).
13. Brunton, L. L. ., Chabner, B. A. . & Knollmann, B. "Tratamento dos distúrbios degenerativos do sistema nervoso central " in *As bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman & Gilman.* 610–619 (Mc Graw Hill, 2012).
14. Khatri, I. A. & Chaudhry, U. S. PARKINSON ' S DISEASE - A REVIEW. *Pakistan J. Neurol. Sci.* **4**, 33–43 (2009).
15. Massano, J. Doença de Parkinson Atualização Clínica. *Acta Med. Port.* **24**, 827–834 (2011).
16. Paulo, E., Picon, D., Inez, M. & Gadelha, P. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas Doença de Parkinson. *Portaria SAS/MS nº228, 10 Maio 2010* (2010).
17. Goetz, C. G. The history of Parkinson's disease: early clinical descriptions and neurological therapies. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **1**, a008862 (2011).



18. Jankovic, J. Parkinson ' s disease : clinical features and diagnosis. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **79**, 368–376 (2008).
19. Limongi, J. C. P. *Conhecendo melhor a Doença de Parkinson - uma abordagem multidisciplinar com orientações práticas para o di-a-dia*. (2001). at <http://www.misteriosdocotidiano.com.br/materias/download-do-livro-conhecendo-melhor-a-doenca-de-parkinson-pdf-online/>
20. RAO, S. S., HOFMANN, L. A. & SHAKIL, A. Parkinson disease diagnosis and treatment. *Am. Fam. Physician* **74**, 2046–2054 (2006).
21. Aragon, A. *et al. The Professional ' s Guide to Parkinson ' s Disease*. 1–172 (Parkinson's Disease Society, 2007).
22. Hélio, T. A. Etiopatogenia da Doença de Parkinson. *Rev. Neurociências* **13**, 201–214 (2005).
23. Seeley, R. R., D.Stephens, T. & Tate, P. "Cérebro" in *Anatomia & Fisiologia*. 453–454 (Lusociência, 2003).
24. SANTENS, P., BOON, P., ROOST, D. VAN & CAEMAERT, J. The pathophysiology of motor symptoms in Parkinson ' s disease. *Acta Neurol. Belg.* **1033**, 129–134 (2003).
25. Squire, L. *et al. "The Basal Ganglia" in Fundamental Neuroscience*. 725–745 (Academic Press, 2008).
26. Machado, A. "Estrutura e Funções dos Núcleos da Base e Centro Branco Medular do Cérebro" in *Neuroanatomia Funcional, Aesculapios*, 249–253 (2002).
27. Aosaki, T., Miura, M., Suzuki, T., Nishimura, K. & Masuda, M. Acetylcholine-dopamine balance hypothesis in the striatum: An update. *Geriatr. Gerontol. Int.* **10**, 148–157 (2010).
28. Kandel, E. R., Schwartz, J. H. & Jessell, T. M. *Principles of Neural Science*. 854–865 (McGraw-Hill, 2000).
29. Rodriguez-Oroz, M. C. *et al. Initial clinical manifestations of Parkinson's disease: features and pathophysiological mechanisms. Lancet Neurol.* **8**, 1128–39 (2009).
30. Lewis, S. J. G., Caldwell, M. A. & Barker, R. A. Basal ganglia circuitry in Parkinson's disease. *Cambridge Univ. Press* (2003). at [http://journals.cambridge.org/fulltext\\_content/ERM/ERM5\\_10/S1462399403006008sup006.htm](http://journals.cambridge.org/fulltext_content/ERM/ERM5_10/S1462399403006008sup006.htm)
31. Calabresi, P., Picconi, B., Parnetti, L. & Filippo, M. Di. A convergent model for cognitive dysfunctions in Parkinson ' s disease : the critical dopamine – acetylcholine synaptic balance. *Lancet Neurol.* **5**, 974–983 (2006).
32. Lester, D. B., Rogers, T. D. & Blaha, C. D. Acetylcholine-dopamine interactions in the pathophysiology and treatment of CNS disorders. *CNS Neurosci. Ther.* **16**, 137–62 (2010).
33. Calabresi, P., Centonze, D., Gubellini, P., Pisani, a & Bernardi, G. Acetylcholine-mediated modulation of striatal function. *Trends Neurosci.* **23**, 120–6 (2000).
34. Moore, D. J., West, A. B., Dawson, V. L. & Dawson, T. M. Molecular pathophysiology of Parkinson's disease. *Annu. Rev. Neurosci.* **28**, 57–87 (2005).
35. Maruyama, W. & Naoi, M. Cell death in Parkinson's disease. *J. Neurol.* **249** (2 *supp*), ii06–ii10 (2002).



36. Horowitz, MP; Greenamyre, J. Gene-Environment Interactions in Parkinson's Disease: The Importance of Animal Modeling. *Natl. Institutes Heal.* **94**, 1–19 (2010).
37. Giuliano, V. A stem cell cure for Parkinson's Disease – so close and yet so far away. *AGING Sci. – Anti-Aging Firewalls* (2012). at <<http://www.anti-agingfirewalls.com/2012/06/30/a-stem-cell-cure-for-parkinsons-disease-so-close-and-yet-so-far-away/>>
38. Kim, Y., Kim, Y., Hwang, O. & Kim, D. J. "Pathology of Neurodegenerative Diseases" in *Brain Damage - Bridg. Between Basic Res. Clin. Dr Alina Gonzalez-Quevedo* 111–120 (InTech, 2012).
39. Uversky, V. N. Neurotoxicant-induced animal models of Parkinson's disease: understanding the role of rotenone, maneb and paraquat in neurodegeneration. *Cell Tissue Res.* **318**, 225–41 (2004).
40. Schapira, A. H. . Mitochondria in the aetiology and pathogenesis of Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat. Disord.* **5**, 139–143 (1999).
41. Miller, R. L., James-Kracke, M., Sun, G. Y. & Sun, A. Y. Oxidative and inflammatory pathways in Parkinson's disease. *Neurochem. Res.* **34**, 55–65 (2009).
42. Przedborski, S. & Vila, M. MPTP: a review of its mechanisms of neurotoxicity. *Clin. Neurosci. Res.* **1**, 407–418 (2001).
43. Smeyne, R. J. & Jackson-Lewis, V. The MPTP model of Parkinson's disease. *Brain Res. Mol. Brain Res.* **134**, 57–66 (2005).
44. Dauer, W. & Przedborski, S. Parkinson ' s Disease : Mechanisms and Models. *Neuron* **39**, 889–909 (2003).
45. Rogers, J., Mastroeni, D., Leonard, B., Joyce, J. & Grover, A. Neuroinflammation in Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease: Are Microglia Pathogenic in Either Disorder? *Int. Rev. Neurobiol.* **82**, 235–246 (2007).
46. Ouchi, Y., Yoshikawa, E. & Sekine, Y. Microglial Activation and Dopamine Terminal Loss in Early Parkinson ' s Disease. *Ann. Neurol.* **1**, 168–175 (2005).
47. McGeer, P. L. & McGeer, E. G. Glial reactions in Parkinson's disease. *Mov. Disord.* **23**, 474–83 (2008).
48. Song, I.-U., Kim, Y.-D., Cho, H.-J. & Chung, S.-W. Is Neuroinflammation Involved in the Development of Dementia in Patients with Parkinson's Disease? *Intern. Med.* **52**, 1787–1792 (2013).
49. Tansey, M. G. & Goldberg, M. S. Neuroinflammation in Parkinson's disease: its role in neuronal death and implications for therapeutic intervention. *Natl. Institutes Heal.* **37**, 510–518 (2010).
50. Mosley, R. L., Hutter-saunders, J. A., Stone, D. K. & Gendelman, H. E. Inflammation and Adaptive Immunity in Parkinson's Disease. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **2**, 1–17 (2012).
51. Kumar, H. *et al.* The role of free radicals in the aging brain and Parkinson's disease: convergence and parallelism. *Int. J. Mol. Sci.* **13**, 10478–504 (2012).
52. Koppula, S. *et al.* Recent advances on the neuroprotective potential of antioxidants in experimental models of Parkinson's disease. *Int. J. Mol. Sci.* **13**, 10608–29 (2012).
53. Muñoz, P., Huenchuguala, S., Paris, I. & Segura-Aguilar, J. Dopamine oxidation and autophagy. *Hindawi Publ. Corp.* **2012**, 13 (2012).



54. Zieve, D. & Eltz, D. R. Substantia nigra and Parkinson's disease. *Mieline Plus* (2011). at <<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/imagepages/19515.htm>>
55. Perfeito, R. & Rego, A. C. Papel da alfa-sinucleína e da disfunção mitocondrial associada à doença de Parkinson. *Rev. Neurociências* **20**, 273–284 (2012).
56. Mounsey, R. B. & Teismann, P. Mitochondrial Dysfunction in Parkinson's Disease: Pathogenesis and Neuroprotection. *Sch. Med. Sci. Coll. Life Sci. Med. Univ. Aberdeen, Inst. Med. Sci.* **18** (2011). at <<http://www.hindawi.com/journals/ps/2011/617472/>>
57. Vekrellis, K., Xilouri, M., Emmanouilidou, E., Rideout, H. J. & Stefanis, L. Pathological roles of  $\alpha$ -synuclein in neurological disorders. *Lancet Neurol.* **10**, 1015–25 (2011).
58. Goldberg, A. L. Protein degradation and protection against misfolded or damaged proteins. *Nature* **426**, 895–9 (2003).
59. Jellinger, K. a. Formation and development of Lewy pathology: a critical update. *J. Neurol.* **256 Suppl**, 270–9 (2009).
60. Schulz-Schaeffer, W. J. The synaptic pathology of alpha-synuclein aggregation in dementia with Lewy bodies, Parkinson's disease and Parkinson's disease dementia. *Acta Neuropathol.* **120**, 131–43 (2010).
61. Werneck, A. L. S. Doença de Parkinson : Etiopatogenia , Clínica e Terapêutica. *Rev. Hosp. Univ. Pedro Ernesto* **9**, 10–20 (2010).
62. Valente, E. M., Arena, G., Torosantucci, L. & Gelmetti, V. Molecular pathways in sporadic PD. *Parkinsonism Relat. Disord.* **18 Suppl 1**, S71–3 (2012).
63. Venda, L. L., Cragg, S. J., Buchman, V. L. & Wade-Martins, R.  $\alpha$ -Synuclein and dopamine at the crossroads of Parkinson's disease. *Trends Neurosci.* **33**, 559–68 (2010).
64. Perez, R. G. & Hastings, T. G. Could a loss of alpha-synuclein function put dopaminergic neurons at risk? *J. Neurochem.* **89**, 1318–24 (2004).
65. Belin, A. C. & Westerlund, M. Parkinson's disease: A genetic perspective. *FEBS J.* **275**, 1377–83 (2008).
66. Moore, D. J. & Dawson, T. M. Value of Genetic Models in Understanding the Cause and Mechanisms of Parkinson ' s Disease. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* **8**, 288–296 (2008).
67. Houlden, H. & Singleton, A. B. The genetics and neuropathology of Parkinson's disease. *Acta Neuropathol.* **124**, 325–38 (2012).
68. Fujioka, S. & Wszolek, Z. K. Update on Genetics of Parkinsonism. *Neurodegener. Dis.* **10**, 257–260 (2012).
69. Barbosa, E. R. & Sallem, F. A. S. Doença de Parkinson – Diagnóstico. *Rev. Neurociências* **13**, 158–165 (2005).
70. UniprotKB. Q99497 (PARK7\_HUMAN). at <<http://www.uniprot.org/uniprot/Q99497>>
71. Klein, C. & Westenberger, A. Genetics of Parkinson Disease. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **2**, 1–15 (2012).
72. Golbe, L. I., Mark, M. H. & Sage, J. I. PARKINSON ' S DISEASE HANDBOOK. *Am. Park. Dis. Assoc. Inc.* 2007 (2007).



73. Lingor, P., Liman, J., Kallenberg, K., Sahlmann, C.-O. & Mathias Bahr. *Diagnosis and Differential Diagnosis of Parkinson's Disease*. InTech 1–274 (InTech Open Access Company, 2011).
74. Goetz, C. G. *et al.* Movement Disorder Society-sponsored revision of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS): Process, format, and clinimetric testing plan. *Mov. Disord.* **22**, 41–7 (2007).
75. Rodrigues, M. & Campos, L. C. Estratégia para o tratamento com levodopa na doença de parkinson. *Rev. Anal.* **23**, 44–51 (2006).
76. Ferraz, H. B. Agonistas Dopaminérgicos no tratamento da Doença de Parkinson. *Rev. Neurociências* **12**, 192–196 (2004).
77. Djaldetti, R. & Melamed, E. New drugs in the future treatment of Parkinson's disease. *J. Neurol.* **249 Suppl** , II30–5 (2002).
78. Dunnett, S. B. & Bjo, A. Prospects for new restorative and neuroprotective treatments in Parkinson's disease. *Nture* **399 (SUPP)**, A32–A39 (1999).
79. Segovia, J. Gene Therapy for Parkinson's Disease. *Am. J. Pharmacogenomics* **2**, 135–146 (2002).
80. Björklund, A. *et al.* Towards a neuroprotective gene therapy for Parkinson's disease: use of adenovirus, AAV and lentivirus vectors for gene transfer of GDNF to the nigrostriatal system in the rat Parkinson model. *Brain Res.* **886**, 82–98 (2000).
81. Bjorklund, T. & Kordower, J. H. Gene therapy for Parkinson's disease. *Mov. Disord.* **25 Suppl 1**, S161–73 (2010).
82. Kalinderi, K., Fidani, L., Katsarou, Z. & Bostantjopoulou, S. Pharmacological treatment and the prospect of pharmacogenetics in Parkinson's disease. *Int. J. Clin. Pract.* **65**, 1289–94 (2011).
83. Jakubauskiene, E., Janaviciute, V., Peciuliene, I., Söderkvist, P. & Kanopka, A. G/A polymorphism in intronic sequence affects the processing of MAO-B gene in patients with Parkinson disease. *FEBS Lett.* **586**, 3698–704 (2012).
84. Mellick, G. D. *et al.* Variations in the monoamine oxidase B (par;MAOB) gene are associated with Parkinson's disease. *Mov. Disord.* **14**, 219–224 (1999).
85. Costa-Mallen, P. *et al.* DNA sequence analysis of monoamine oxidase B gene coding and promoter regions in Parkinson's disease cases and unrelated controls. *Mov. Disord.* **19**, 76–83 (2004).
86. Balciuniene, J. & Jazin, E. E. Human monoamine oxidase: from genetic variation to complex human phenotypes. *Gene Funct. Dis.* **1**, 26–37 (2001).
87. Anahita Torkaman-Boutorabi, Shahidi, G. A., Choopani, S. & Zarrindast, M. R. Association of monoamina oxidase B and catechol-O-methyltransferase polymorphisms with sporadic Parkinson's disease in an Iranian population. *Folia Neuropathol.* **50**, 382–389 (2012).
88. Costa, P. *et al.* Association of a Polymorphism in Intron 13 of the Monoamine Oxidase B Gene With Parkinson Disease. *Am. J. Med. Genet. (Neuropsychiatric Genet.)* **74**, 154–156 (1997).
89. Kang, S. J. *et al.* Family-based case-control study of MAOA and MAOB polymorphisms in Parkinson disease. *Mov. Disord.* **21**, 2175–80 (2006).
90. Mellick, G. D. *et al.* The monoamine oxidase B gene GT repeat polymorphism and Parkinson's disease in a Chinese population. *J. Neurol.* **247**, 52–55 (2000).



91. Parsian, A., Racette, B., Zhang, Z. H., Rundle, M. & Perlmutter, J. S. Association of variations in monoamine oxidases A and B with Parkinson's disease subgroups. *Genomics* **83**, 454–60 (2004).
92. Tai, C.-H. & Wu, R.-M. Catechol-O-methyltransferase and Parkinson's Disease. *Acta Med. Okayama* **56**, 1–6 (2002).
93. Wang, Y. & Yang, X. Association of Catechol-O-Methyltransferase Polymorphism (Val108/158Met) with Parkinson's Disease: A Meta-Analysis. *J. Mot. Behav.* **44**, 365–372 (2012).
94. Kiyohara, C. *et al.* Genetic polymorphisms involved in dopaminergic neurotransmission and risk for Parkinson's disease in a Japanese population. *BMC Neurol.* **11**, 89 (2011).
95. Kunugi, H. *et al.* High and low activity alleles of catechol-O-methyltransferase gene : ethnic difference and possible association with Parkinson's disease. *Neurosci. Lett.* **221**, 202–204 (1997).
96. Goudreau, J. L. *et al.* Case-control study of dopamine transporter-1, monoamine oxidase-B, and catechol-O-methyl transferase polymorphisms in Parkinson's disease. *Mov. Disord.* **17**, 1305–11 (2002).
97. Contin, M. *et al.* Genetic polymorphism of catechol-O-methyltransferase and levodopa pharmacokinetic-pharmacodynamic pattern in patients with Parkinson's disease. *Mov. Disord.* **20**, 734–9 (2005).
98. Hirvonen, M. M. *et al.* C957T polymorphism of the human dopamine D2 receptor gene predicts extrastriatal dopamine receptor availability in vivo. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* **33**, 630–6 (2009).
99. Tan, E. *et al.* Dopamine D2 Receptor TaqIA and TaqIB Polymorphisms in Parkinson's Disease. *Mov. Disord.* **18**, 593–601 (2003).
100. Singh, M. *et al.* Polymorphism in environment responsive genes and association with Parkinson disease. *Mol. Cell. Biochem.* **312**, 131–8 (2008).
101. McGuire, V. *et al.* Association of DRD2 and DRD3 Polymorphisms with Parkinson's Disease in a Multiethnic Consortium. *J. Neurol. Sci.* **307**, 22–29 (2011).
102. Maude, S. *et al.* The -141C Ins / Del polymorphism of the dopamine D2 receptor gene is not associated with either migraine or Parkinson's disease. *Psychiatr. Genet.* **11**, 49–52 (2001).
103. Keeling, B. H. *et al.* DRD3 Ser9Gly and HS1BP3 Ala265Gly are not associated with Parkinson disease. *Neurosci. Lett.* **461**, 74–5 (2009).
104. Ricketts, M. *et al.* Association of long variants of the dopamine D4 receptor exon 3 repeat polymorphism with Parkinson's disease. *Clin. Genet.* **54**, 33–38 (1998).
105. Kronenberg, M. F. *et al.* Dopamine D4 receptor polymorphism and idiopathic Parkinson's disease. *Eur. J. Hum. Genet.* **7**, 397–400 (1999).
106. Kim, J. W., Kim, D.-H., Kim, S.-H. & Cha, J.-K. Association of the dopamine transporter gene with Parkinson's disease in Korean patients. *Korean Med. Sci.* **15**, 449–451 (2000).
107. Mercier, G., Turpin, J. C., Lucotte, G. & Blanche, H. M. Variable number tandem repeat dopamine transporter gene polymorphism and Parkinson's disease: no association found. *Neurology* **246**, 45–47 (1999).
108. Lin, J.-J. *et al.* The homozygote 10-copy genotype of variable number tandem repeat dopamine transporter gene may confer protection against Parkinson's disease for male, but not to female patients. *J. Neurol. Sci.* **209**, 87–92 (2003).



109. Gu, Z., Feng, X., Dong, X. & Chan, P. Smoking, genes encoding dopamine pathway and risk for Parkinson's disease. *Neurosci. Lett.* **482**, 31–4 (2010).
110. PW, L. *et al.* The dopamine transporter gene and Parkinson's disease in a Chinese population. *Neurology* **49**, 1577–1579 (1997).
111. Kunugi, H. *et al.* Association study of structural mutations of the tyrosine hydroxylase gene with schizophrenia and Parkinson's disease. *Am. J. Med. Genet.* **81**, 131–133 (1998).
112. Spadafora, P. *et al.* NACP-REP1 polymorphism is not involved in Parkinson's disease: a casecontrol study in a population sample from southern Italy. *Neurosci. Lett.* **351**, 75–78 (2003).
113. Myhre, R. *et al.* Multiple alpha-synuclein gene polymorphisms are associated with Parkinson's disease in a Norwegian population. *Acta Neurol. Scand.* **1**, 320–327 (2008).
114. Mellick, G. D., Maraganore, D. M. & Silburn, P. a. Australian data and meta-analysis lend support for alpha-synuclein (NACP-Rep1) as a risk factor for Parkinson's disease. *Neurosci. Lett.* **375**, 112–6 (2005).
115. Riedl, A. G., Watts, P. M., Jenner, P. & Marsden, C. D. P450 enzymes and Parkinson's disease: the story so far. *Mov. Disord.* **13**, 212–20 (1998).
116. Mann, A. *et al.* The neuroprotective enzyme CYP2D6 increases in the brain with age and is lower in Parkinson's disease patients. *Neurobiol. Aging* **33**, 2160–71 (2012).
117. Mellick, G. D. CYP450, genetics and Parkinson's disease: gene x environment interactions hold the key. *J. Neural Transm.* **70**, 159–165 (2006).
118. Bialecka, M. *et al.* Polymorphisms of catechol-O-methyltransferase (COMT), monoamine oxidase B (MAOB), N-acetyltransferase 2 (NAT2) and cytochrome P450 2D6 (CYP2D6) gene in patients with early onset of Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat. Disord.* **13**, 224–922 (2007).
119. Shahabi, H. N. *et al.* Cytochrome P450 2E1 gene polymorphisms/haplotypes and Parkinson's disease in a Swedish population. *J. Neural Transm.* **116**, 567–73 (2009).
120. Wu, R. M. *et al.* Genetic polymorphism of the CYP2E1 gene and susceptibility to Parkinson's disease in Taiwanese. *J. Neural Transm.* **109**, 1403–14 (2002).
121. Takakubo, F. *et al.* Genetic association between cytochrome P450IA1 gene and susceptibility to Parkinson's disease. *J. Neural Transm.* **103**, 843–849 (1996).
122. De Lau, L. M. L., Verbaan, D., Marinus, J., Heutink, P. & van Hilten, J. J. Catechol-O-methyltransferase Val158Met and the risk of dyskinesias in Parkinson's disease. *Mov. Disord.* **27**, 132–155 (2011).
123. Torkaman-boutorabi, A. *et al.* The catechol-O-methyltransferase and monoamine oxidase B polymorphisms and levodopa therapy in the Iranian patients with sporadic Parkinson's disease. *Acta Neurobiol. Exp. (Wars)*. **72**, 272–282 (2012).
124. Lee, M. S., Lyoo, C. H., Ulmanen, I., Syvanen, A. & Rinne, J. O. Genotypes of catechol-O-methyltransferase and response to levodopa treatment in patients with Parkinson's disease. *Neurosci. Lett.* **298**, 131–134 (2001).