



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
NEUROCIÊNCIAS E BIOLOGIA CELULAR**

MARIÂNGELA MORENO DOMINGUES

**“ALTERAÇÕES OXIDATIVAS EM PORTADORES DE DOENÇA DE
PARKINSON: CORRELAÇÃO COM CRITÉRIOS CLÍNICOS E
ESTÁGIOS DA DOENÇA”**

BELÉM

2012

MARIÂNGELA MORENO DOMINGUES

**“ALTERAÇÕES OXIDATIVAS EM PORTADORES DE DOENÇA DE
PARKINSON: CORRELAÇÃO COM CRITÉRIOS CLÍNICOS E
ESTÁGIOS DA DOENÇA”**

Tese de Dissertação de Mestrado em
neurociências do programa de pós-
graduação em neurociências e biologia
celular da Universidade Federal do Pará
orientada pela Dra Patrícia Danielle Lima de
Lima e co-orientada pela Dra Kátia Simone
Kietzer

BELÉM

2012

MARIÂNGELA MORENO DOMINGUES

**“ALTERAÇÕES OXIDATIVAS EM PORTADORES DE DOENÇA DE
PARKINSON: CORRELAÇÃO COM CRITÉRIOS CLÍNICOS E
ESTÁGIOS DA DOENÇA”**

Tese de Dissertação de Mestrado em
neurociências do programa de pós-
graduação em neurociências e biologia
celular da Universidade Federal do Pará
orientada pela Dra Patrícia Danielle Lima
de Lima e co-orientada pela Dra Kátia
Simone Kietzer

Data 31/08/2012

Prof.^a Dr.^a Patrícia Danielle Lima de Lima

Prof. Dr. Jofre Jacob da Silva Freitas

Prof. Dr. Robson José de Souza Domingues

Belém

2012

RESUMO

A doença de Parkinson (DP) constitui uma das mais prevalentes doenças neurológicas. Nesta doença, ocorre a neurodegeneração do sistema nigroestriatal com alteração da circuitaria neuronal dos núcleos da base levando ao comprometimento motor característico da doença. Os sintomas clássicos são o tremor de repouso, rigidez, acinesia ou bradicinesia e instabilidade postural. A patogênese da DP ainda permanece obscura. No entanto, estima-se que a disfunção mitocondrial e o desenvolvimento de estresse oxidativo na substância negra tenham papel relevante neste processo. O diagnóstico da DP é clínico e normalmente acontece tardiamente, quando a maioria dos neurônios nigrais está degenerada. Alguns trabalhos mostram o efeito neuroprotetor de medicações antiparkinsonianas e isto demonstra que quanto mais precoce a introdução do tratamento melhor o prognóstico à longo prazo da doença. Portanto o desenvolvimento de marcadores periféricos que ajudem no diagnóstico precoce da doença é importante para que se inicie o tratamento a tempo de retardar o avanço da morte neuronal. O objetivo deste trabalho foi verificar a existência de alterações em parâmetros oxidantes e antioxidantes no sangue de pacientes parkinsonianos e sua relação com o estágio da doença e critérios clínicos. Foram avaliados 30 portadores de DP e 30 indivíduos sem a doença. Para avaliar o estágio da doença e caracteres clínicos foram aplicadas as escalas de Hoehn & Yahr e a UPDRS (escala unificada para doença de Parkinson) nos pacientes parkinsonianos. Para avaliar a atividade oxidativa no plasma dos indivíduos, foi analisada a peroxidação lipídica através da mensuração de produtos da ação de Espécies Reativas de Oxigênio e Nitrogênio (ERON; TBARS) e para avaliar a resposta antioxidante foi feita a avaliação da Capacidade Antioxidante Total (TEAC). Nos grupos DP leve e DP moderado foi encontrado maior valor do TBARS e menor valor do TEAC em relação aos controles e DP grave ($p < 0,05$), confirmando a presença de estresse oxidativo nas fases precoces da DP. Nesta pesquisa esses parâmetros demonstraram serem bons marcadores periféricos do estresse oxidativo, colaborando para um diagnóstico precoce da DP.

Palavras chave: estresse oxidativo, Parkinson, oxidante, antioxidante

ABSTRACT

Parkinson's disease (PD) is a neurologic disease of the most prevalent. In this disease, have neurodegeneration in the nigrostriatal system with altered neuronal circuitry of the basal ganglia leading to motor impairment characteristic of the disease. The classic symptoms are resting tremor, rigidity, akinesia or bradykinesia and postural instability. The pathogenesis of PD remains unclear. However, it is estimated that the mitochondrial and the development of oxidative stress in the substantia nigra have an important role in this process. The diagnosis of PD is clinical and usually occurs late, when most neurons nigra is degenerate. Some studies have shown the neuroprotective effect of antiparkinsonian medications, and the earlier introduction of treatment better the long-term prognosis of the disease. Therefore, the peripheral development of markers to assist in early diagnosis is important for to start the treatment time delay the progress of neuronal death. The aim of this study was to verify the existence of alterations in oxidant and antioxidant parameters in blood of PD patients and its relationship with disease stage and clinical criteria. We evaluated 30 patients with PD and 30 individuals without the disease. To evaluate the stage of disease and clinical character were applied Hoehn & Yahr and UPDRS (unified scale for Parkinson's disease) scales in parkinsonian patients. To evaluate the oxidative activity in plasma of individuals, was analyzed by measuring lipid peroxidation products from the action of Reactive Oxygen and Nitrogen (Eron, TBARS) and to evaluate the antioxidant response was made to evaluate the Total Antioxidant Capacity (TEAC). In groups mild DP and moderate DP was found higher TBARS value and lower TEAC value compared to controls and impairment PD ($p < 0.05$), confirming the presence of oxidative stress in the early stages of PD. In this study these parameters proved to be good peripheral markers of oxidative stress, contributing to an early diagnosis of PD.

Keywords: oxidative stress, Parkinson, oxidant, antioxidant

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Via direta:excitatória_____	16
Figura 2	Via indireta:inibitória_____	16
Figura 3	Fisiopatologia da hipocinesia na DP_____	17
Figura 4	Redução tetravalente do oxigênio molecular na mitocôndria até a formação da água_____	23
Figura 5	Reação de Fenton _____	23
Figura 6	Reação de Haber-Weiss_____	23
Figura 7	Etapas da Peroxidação lipídica _____	24
Figura 8	Esquema de reações e respectivas enzimas envolvidas na formação das ERON_____	25
Figura 9	Interação dos mecanismos patológicos na Doença de Parkinson_____	28
Figura 10	Níveis de substâncias reagentes ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em indivíduos controle e pacientes com doença de Parkinson leve, moderada e grave_____	39
Figura 11	Medida da capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) em indivíduos controle e pacientes com doença de Parkinson leve, moderada e grave_____	40
Figura 12	Correlação entre os níveis de substâncias reagentes ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no plasma e a capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) em pacientes com doença de Parkinson em estágio leve_____	41
Figura 13	Correlação entre os níveis de substâncias reagentes ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no plasma e a capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) em pacientes com doença de Parkinson em estágio moderado _____	42
Figura 14	Correlação entre os níveis de substâncias reagentes ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no plasma e a capacidade antioxidante equivalente	

ao Trolox (TEAC) em pacientes com doença de Parkinson em estágio grave _____	42
Figura 15 – Correlação entre os níveis de substâncias reagentes ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no plasma e a capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) em pacientes com doença de Parkinson (todos os estágios) _____	43
Figura 16 – Correlação entre o tempo de uso do medicamento Levodopa e a capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) em pacientes com doença de Parkinson em estágio leve. _____	44
Figura 17 – Correlação entre o tempo de uso do medicamento Levodopa e a capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) em pacientes com doença de Parkinson em estágio moderado _____	45
Figura 18 – Correlação entre o tempo de uso do medicamento levodopa e a capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) em pacientes com doença de Parkinson em estágio grave. _____	45
Figura 19 – Correlação entre o tempo de uso do medicamento Levodopa e a capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) em pacientes com doença de Parkinson (todos os estágios). _____	46
Figura 20 – Correlação entre o tempo de uso do medicamento Levodopa e os níveis de substâncias reagentes ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no plasma em pacientes com doença de Parkinson em estágio leve. _____	47
Figura 21 – Correlação entre o tempo de uso do medicamento Levodopa e os níveis de substâncias reagentes ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no plasma em pacientes com doença de Parkinson em estágio moderado ____	48
Figura 22 – Correlação entre o tempo de uso do medicamento Levodopa e os níveis de substâncias reagentes ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no plasma em pacientes com doença de Parkinson em estágio grave _____	49
Figura 23 – Correlação entre o tempo de uso do medicamento Levodopa e os níveis de substâncias reagentes ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no plasma em pacientes com doença de Parkinson (todos os estágios) _____	50
Figura 24 – Correlação entre os níveis de TEAC no plasma e o resultado do Hoehn e Yahr em pacientes com doença de Parkinson _____	51

Figura 25 – Correlação entre os níveis de TBARS no plasma e o resultado do Hoehn e Yahr em pacientes com doença de Parkinson _____	52
Figura 26 – Correlação entre os níveis de TEAC no plasma e o resultado do UPDRS 1 em pacientes com doença de Parkinson _____	53
Figura 27 – Correlação entre os níveis de TBARS no plasma e o resultado do UPDRS 1 em pacientes com doença de Parkinson _____	54
Figura 28 – Correlação entre os níveis de TEAC no plasma e o resultado do UPDRS 2 em pacientes com doença de Parkinson _____	55
Figura 29 – Correlação entre os níveis de TBARS no plasma e o resultado do UPDRS 2 em pacientes com doença de Parkinson _____	56
Figura 30 – Correlação entre os níveis de TEAC no plasma e o resultado do UPDRS 3 em pacientes com doença de Parkinson _____	57
Figura 31 – Correlação entre os níveis de TBARS no plasma e o resultado do UPDRS 3 em pacientes com doença de Parkinson _____	58
Figura 32 – Correlação entre os níveis de TEAC no plasma e o resultado do UPDRS 4 em pacientes com doença de Parkinson _____	59
Figura 33 – Correlação entre os níveis de TBARS no plasma e o resultado do UPDRS 4 em pacientes com doença de Parkinson _____	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Variáveis demográficas e clínicas de pacientes com DP e Controles _____ 36

Tabela 2. Características clínicas e comorbidades dos pacientes parkinsonianos _____ 38

LISTA DE ABREVIATURAS

ABTS	2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina ácido-6-sulfônico-diamônio
AMPA	Ácido propionico alfa-amino-3-hidroxi-5-methylisoxazol
APP	Associação dos pacientes parkinsonianos
ATP	Adenosina trifosfato
BDNF	Fatores neurotróficos derivados de células cerebrais
DP	Doença de Parkinson
ERO	Espécies reativas ao oxigênio
ERON	Espécies reativas ao oxigênio e nitrogênio
GSH	Glutationa reduzida
GSSG	Glutationa oxidada
GSH-Px	Glutationa peroxidase
GSH-Rd	Glutationa redutase
H ₂ O	Água
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
MAO-B	Mono-amino-oxidase B
MDA	Malondialdeído
MPTP	1-Methyl-4Phenyl-1,2,3,6- tetrahydropyridine
NO [·]	Óxido nítrico
NMDA	N- metil-D-aspartato
O ₂	Oxigênio
O ₂ ^{·-}	Superóxido
ONOO ⁻	Peróxinitrito
OH [·]	Hidroxila
RPM	Rotações por minuto
SNC	Sistema nervoso central

SOD Superóxido dismutase

TBARS Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

TNF-alfa Fator de necrose tumoral alfa

UEAFTO Unidade de ensino e assistência de fisioterapia e terapia ocupacional

UEPA Universidade do Estado do Pará

SUMÁRIO

Resumo _____	3
Abstract _____	4
Lista de figuras _____	5
Lista de tabelas _____	8
Lista de abreviaturas _____	9
1. INTRODUÇÃO _____	13
2. REFERENCIAL TEÓRICO _____	15
2.1 DOENÇA DE PARKINSON _____	15
2.1.1 Histórico da doença de Parkinson _____	15
2.1.2 Fisiologia dos núcleos da base _____	15
2.1.3 Patogênese da Doença de Parkinson _____	17
2.1.4 Diagnóstico da DP _____	20
2.1.5 Tratamento _____	20
2.1.6 Estresse oxidativo na DP _____	21
3. OBJETIVO _____	29
3.1 Objetivo geral _____	29
3.2 Objetivos específicos _____	29
4. MÉTODOS _____	30
4.1 Critérios éticos da pesquisa _____	30
4.2 Sujeitos da pesquisa _____	30
4.2.1 Critérios de exclusão e de inclusão _____	30
4.2.2 Metodologia da Avaliação clínica _____	31
4.3 Coleta de sangue _____	32
4.4 Determinação de parâmetro oxidante _____	33
4.4.1 Análise da peroxidação lipídica _____	33
4.5 Determinação de parâmetro antioxidante _____	34
4.5.1 Capacidade antioxidante total equivalente ao Trolox (TEAC) _____	34
4.6 Análise estatística _____	35
5. Resultados _____	36
5.1 Perfil clínico dos pacientes _____	36
5.2 Peroxidação lipídica _____	39
5.3 Capacidade antioxidante total _____	40

5.4 Correlação entre TBARS e TEAC _____	41
5.5 Correlação entre parâmetros clínicos com TEAC e TBARS _____	44
5.6 Correlação entre TEAC e TBARS com as escalas H & Y e UPDRS _	51
6. DISCUSSÃO _____	61
7. CONCLUSÃO _____	66
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS _____	67
APÊNDICES _____	71
ANEXOS _____	75

1-INTRODUÇÃO

A Doença de Parkinson (DP) foi descrita inicialmente em 1817 pelo neurologista inglês James Parkinson e atualmente constitui uma das mais prevalentes patologias neurológicas. Estima-se que a DP acometa pelo menos 4 milhões de indivíduos no mundo (ALI; BINIENDA; IMAM, 2011). A DP geralmente acomete indivíduos acima dos 60 anos de idade, mas pode ocorrer precocemente. Cerca de 5 a 10 % dos casos tem início antes dos 50 anos (MARTIN; DAWSON; DAWSON, 2011).

Os sintomas clássicos são motores como o tremor de repouso, rigidez, acinesia ou bradicinesia e instabilidade postural. A DP foi inicialmente conhecida como “paralisia agitante” pela presença do tremor, ocorrendo também sintomas não motores como alterações cognitivas, autonômicas e psiquiátricas (ALI; BINIENDA; IMAM, 2011).

A DP é uma doença neurodegenerativa que acomete os neurônios dopaminérgicos da parte compacta da substância negra. Afeta o sistema nigroestriatal com alteração da circuitaria neuronal dos núcleos da base levando ao comprometimento motor característico da doença (ALI; BINIENDA; IMAM, 2011; KINCSES; VECSEI, 2011).

Várias teorias sobre a gênese da DP são descritas na literatura, mas uma das mais aceitas defende que o desenvolvimento da doença resulte de uma complexa interação entre fatores ambientais e genéticos, tendo a disfunção mitocondrial e o estresse oxidativo papéis relevantes neste processo (ALI; BINIENDA; IMAM, 2011; KINCSES; VECSEI, 2011; SHUKLA; MISHRA; PANT, 2011).

A disfunção mitocondrial foi sugerida na patogênese da DP porque em exames de necrópsia dos pacientes descreveu-se deficiência do complexo 1 da cadeia respiratória da mitocôndria nas células da substância negra. Esta disfunção leva à neurodegeneração por três mecanismos: estresse oxidativo, depleção energética e apoptose (VALKO *et al.*, 2007; KINCSES; VECSEI, 2011; SCHAPIRA; JENNER, 2011).

De qualquer forma, a morte dos neurônios nigrais nos pacientes, só é percebida tardiamente. Sabe-se que quando ocorrem os primeiros sintomas da

DP existe a perda de cerca de 60% dos neurônios dopaminérgicos (TEIVE, 2010). Os sintomas da doença são importantes para o diagnóstico que é essencialmente clínico; difícil de ser realizado, especialmente na fase leve. Por isso muitas vezes a DP é diagnosticada tardiamente e, tal fato, acarreta prejuízo para os pacientes pois o tratamento é iniciado tardiamente.

Alguns trabalhos mostram o efeito neuroprotetor de medicações antiparkinsonianas como a selegilina, vitamina E, agonistas dopaminérgicos e rasagilina e isto demonstra que quanto mais precoce a introdução do tratamento melhor o prognóstico à longo prazo da doença. Portanto o desenvolvimento de marcadores periféricos que ajudem no diagnóstico precoce da doença é importante para que se inicie o tratamento a tempo de retardar o avanço da morte neuronal (TEIVE, 2010).

Desta forma o presente estudo pretende verificar a existência de alterações nos parâmetros oxidantes e antioxidantes no sangue de pacientes parkinsonianos e sua correlação com os estágios da doença e critérios clínicos, corroborando na pesquisa de marcadores periféricos da DP que permitam contribuir para o diagnóstico precoce da doença.

2-REFERENCIAL TEÓRICO:

2.1-Doença de Parkinson

2.1.1-Histórico da Doença de Parkinson

Em 1817 o neurologista inglês James Parkinson publicou a monografia denominada “An Essay on Shaking Palsy” onde descreveu pela primeira vez a Doença de Parkinson. Relatou 6 pacientes com idade variando de 50 a 72 anos com presença de movimentos tremulantes involuntários, diminuição da força muscular, tendência á inclinação do tronco para a frente e alteração da marcha (festinação), sendo que os sentidos e intelecto estavam preservados.

Cerca de meio século após Jean-Martin Charcot descreveu no espectro clínico da doença duas formas: a tremulante e a rígido-acinética, relatou a disautonomia, e aludiu a presença de demência em alguns casos. Porém somente no século XX, em 1913, Lewy descreveu alterações histológicas no sistema nervoso dos pacientes com estas características clínicas. Notou a presença de inclusões eosinófilas em neurônios nigrais que constitui o principal marcador anatomopatológico da doença até hoje (BARBOSA; TEIVE, 2010).

2.1.2- Fisiologia dos núcleos da base

Na DP há o comprometimento de neurônios dopaminérgicos da substância negra que faz parte dos núcleos da base. Funcionalmente os núcleos da base recebem influência do córtex motor e modulam o movimento através da ação de duas vias: a via direta e a via indireta. A via direta consiste na ação inibitória do estriado sobre o globo pálido interno que deixa de inibir o tálamo que por sua vez tem aumentado seu efeito excitatório sobre o córtex motor pela via

tálamo cortical, sendo portanto, uma via excitatória (CAMPBELL, 2007).Vide figura 1.

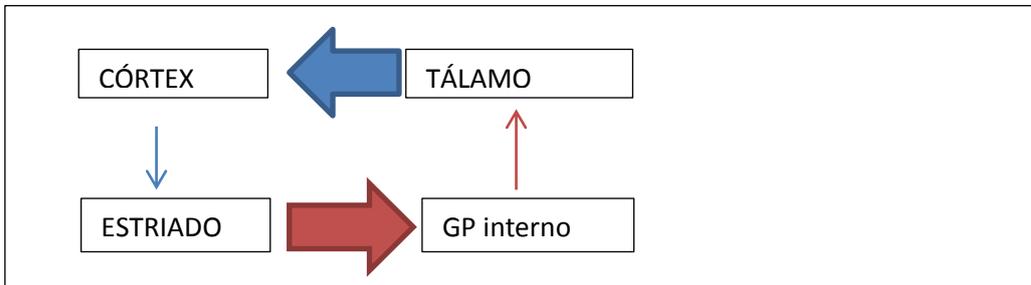


Figura 1: Via direta dos núcleos da base: excitatória, flexa azul: excitatória, flexa vermelha: inibitória, GP interno: globo pálido interno. Fonte: autora.

A via indireta consiste na ativação do estriado provocando inibição do globo pálido externo (GPe) diminuindo a ação inibitória do mesmo ao núcleo subtalâmico, que por sua vez excita o globo pálido interno a exercer maior ação inibitória sobre a via tálamo-cortical, inibindo o movimento (figura 2). Portanto através da ação dessas duas vias é que ocorre a modulação do movimento (CAMPBELL, 2007).

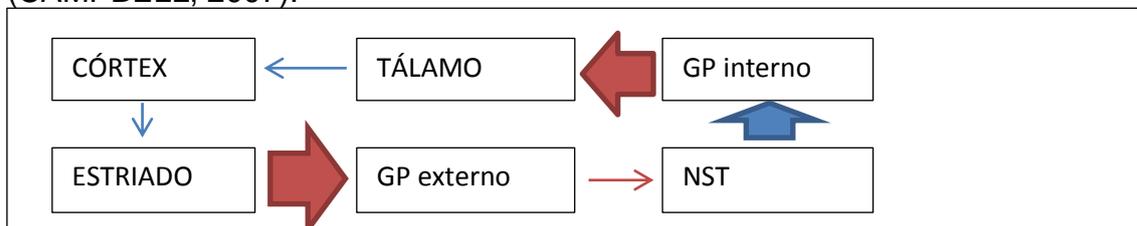


FIGURA 2: Via indireta dos núcleos da base: inibitória, flexa azul: excitatória, flexa vermelha: inibitória, GP externo: globo pálido externo, NST: núcleo subtalâmico. Fonte: autora.

A via nigroestriatal modula a atividade da via direta e indireta através da ação da dopamina que ativa receptores D1 no estriado ativando a via direta e inibindo os receptores D2 no estriado inibindo a via indireta, facilitando o movimento (CAMPBELL, 2007).

Na doença de Parkinson ocorre a degeneração dos neurônios dopaminérgicos levando à diminuição do efeito excitatório da via direta e ao aumento do efeito inibitório da via indireta levando aos sintomas motores hipocinéticos

característicos da doença, como demonstrado na figura 3 (CAMPBELL, 2007; ALI; BINIENDA; IMAM, 2011; KINCSES; VECSEI, 2011).

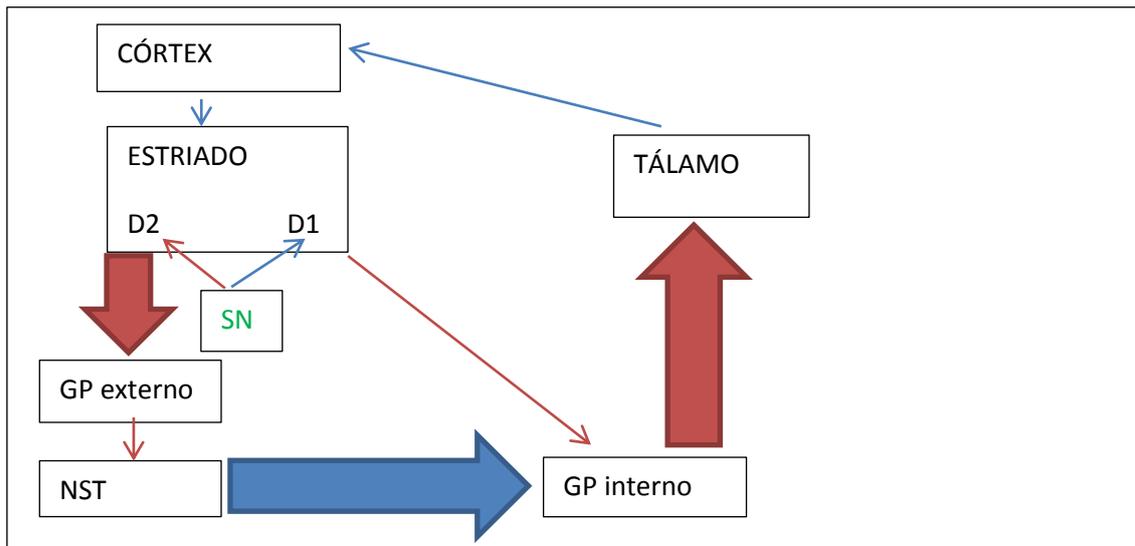


FIGURA 3: Fisiopatologia da hipocinesia na DP SN: substância negra, GP externo: globo pálido externo, NST: núcleo subtalâmico, GP interno: globo pálido interno, flexa azul: excitatória, flexa vermelha: inibitória. Fonte: autora.

2.1.3- Patogênese da Doença de Parkinson

Sabe-se que a DP é uma doença neurodegenerativa que afeta neurônios dopaminérgicos da parte compacta da substância negra, os quais tem agregação de proteína formando os corpos de lewy que são patognomônicos da doença (TEIVE, 2010).

Existem várias teorias que tentam explicar a degeneração neuronal dopaminérgica. A mais aceita considera que a soma de fatores genéticos e ambientais podem contribuir para o aumento do risco de desenvolvimento da doença de Parkinson. Os fatores ambientais envolvidos na gênese da DP são exposições á substâncias neurotóxicas como metais pesados, pesticidas como

rotenona e fungicidas como paraquat (ALI; BINIENDA; IMAM, 2011; MARTIN; DAWSON; DAWSON, 2011). Dentre os fatores genéticos, pesquisadores observaram que vários genes são implicados na patogênese da Doença de Parkinson familiar como ALFA-SINUCLEINA, PARKIN, PINK1, DJ-1. Os genes PINK1, PARKIN e DJ-1 são responsáveis por ajudar a manter a integridade da mitocôndria e conseqüentemente da célula.

Os possíveis mecanismos que levam à morte neuronal na Doença de Parkinson envolvem: estresse oxidativo, disfunção mitocondrial, agregação de proteínas, alterações inflamatórias e excitotoxicidade (FAROOQUI; FAROOQUI, 2011; KINCSES; VECSEI, 2011; SCHAPIRA; JENNER, 2011).

A mitocôndria tem a chave reguladora da sobrevivência e da morte celular. A sugestão do papel da disfunção mitocondrial na DP foi feita a partir da observação de exames de necrópsia dos pacientes com DP que apresentam deficiência do complexo 1 da mitocôndria na substância negra. O modelo experimental de Parkinson que utiliza a neurotoxina MPTP (1-Methyl-4Phenyl-1,2,3,6 tetrahydropyridine) que age como inibidora do complexo 1 da mitocôndria e leva à degeneração dopaminérgica também corrobora com essa hipótese. Além disso estudos genéticos com o gene parkin evidenciam que o mesmo produz alterações mitocondriais e suas mutações causam disfunção mitocondrial com declínio da produção de ATP (Adenosina trifosfato) e aumento da geração de radicais livres resultando em estresse oxidativo, deficiência de energia e morte neuronal (ALI; BINIENDA; IMAM, 2011).

Estudos recentes sugerem que modificações na atividade do gene parkin causados por estresse devido espécies reativas ao oxigênio e ao nitrogênio tem um importante papel na patogênese da Doença de Parkinson esporádica, não se sabendo o mecanismo molecular envolvido (ALI; BINIENDA; IMAM, 2011; CARLES *et al.*, 2011; KINCSES; VECSEI, 2011; MARTIN; DAWSON; DAWSON, 2011; SCHAPIRA; JENNER, 2011; VALKO *et al.*, 2007).

Na DP esporádica o maior componente dos corpos de Lewy encontrados nos neurônios dopaminérgicos é a alfa-sinucleína. Elevados níveis de alfa-sinucleína podem resultar em agregação, interferindo na função dos lisossomos e proteassomos da célula, contribuindo para a morte celular (KINCSES; VECSEI, 2011).

A descoberta da mutação no gene alfa-sinucleína que causa Doença de Parkinson familiar e que corpos de Lewy na forma esporádica têm alfa-sinucleína e outras proteínas despertaram o interesse no papel das alterações das proteínas na etiologia da doença. A superprodução e diminuição da remoção de proteínas por lisossomos e proteassomos pode ter um papel chave na patogênese da doença. (KINCSES; VECSEI, et al., 2011; SCHAPIRA; JENNER, 2011).

O achado de neuroinflamação com ativação microglial na substância negra nos estudos de necrópsia dos pacientes com DP inferem que a mesma pode contribuir para a progressão da doença, porém não se sabe se a ativação da micróglia é a causa primária da morte celular dopaminérgica ou é uma resposta do organismo à perda neuronal (SCHAPIRA; JENNER, 2011).

Níveis aumentados de fatores pró-inflamatórios como fator de necrose tumoral alfa (TNF alfa), interleucina 1 beta e interleucina 3 foram encontrados no cérebro e no líquido cefalorraquidiano de pacientes parkinsonianos, corroborando com o achado de neuroinflamação (KINCSES; VECSEI, 2011).

Outro mecanismo descrito na patogênese da doença é a excitotoxicidade ao glutamato nas células dopaminérgicas. O glutamato é o maior neurotransmissor excitatório do Sistema Nervoso Central (SNC), ativa receptores NMDA (N- metil-D-aspartato) , AMPA (Ácido propionico alfa-amino-3-hidroxi-5-methylisoxazol) , e canais de íons voltagem dependente, causando um influxo maciço do cálcio extracelular, iniciando o processo neurotóxico. As células dopaminérgicas da substância negra são particularmente sensíveis a esse mecanismo porque a redução da atividade dopaminérgica leva a um aumento compensatório do estímulo dos receptores glutamatérgicos para manter a concentração de dopamina estriatal constante (KINCSES; VECSEI, 2011).

A perda neuronal é progressiva e exponencial, sendo mais intensa nas fases iniciais atenuando-se com a progressão da doença. Os sinais cardiais motores aparecem quando há redução de 80% da dopamina estriatal com pelo menos 60% de perda neuronal nigral. Inicia unilateralmente por isso os primeiros sintomas são geralmente unilaterais, com a evolução da doença acomete

bilateralmente a substância negra, e os sintomas passam a ser bilaterais (TEIVE, 2010).

2.1.4- Diagnóstico da DP

O diagnóstico se faz pelo quadro clínico clássico de tremor de repouso nas extremidades, rigidez, bradicinesia e instabilidade postural que evoluem lentamente, sendo difícil o diagnóstico nas fases mais precoces da doença. Devido à extensa perda neuronal ocorrida antes de apresentar os sintomas, a investigação de métodos que ajudem no diagnóstico precoce da doença é muito importante para um tratamento adequado (TEIVE, 2010).

Há algumas escalas que ajudam tanto no diagnóstico quanto no acompanhamento dos sintomas. Na quantificação da gravidade do paciente a escala mais utilizada é a de Hoehn & Yahr: classifica os estágios da doença de Parkinson de acordo com os sinais, variando de 1 a 5, sendo considerados estágio leve da doença de 1 a 2, moderado de 2,5 a 3 e grave de 4 a 5 (HOEHN; YAHR, 1967).

Em estudos clínicos a escala mais utilizada para avaliação é a UPDRS-Unified Parkinson's Disease Rating Scale (KLEINER-FISMAN *et al.*, 2010; TEIVE, 2010). A escala UPRDS possibilita avaliar os sintomas não motores e motores da doença de Parkinson. Esta escala quantifica o grau de dependência nas atividades da vida diária e complicações da terapia, consequentemente permite uma visão global dos comprometimentos da Doença de Parkinson, e é a mais utilizada em ensaios clínicos de acordo com a literatura (SCALZO *et al.*, 2011).

2.1.5- Tratamento

Não há cura para a DP até o momento e a perda dos neurônios dopaminérgicos é irreversível. A terapia medicamentosa com levodopa foi introduzida nos anos 60 e é o tratamento sintomático mais eficaz até hoje (KINCSES; VECSEI, 2011).

Outra classe de medicamento eficaz na DP são os agonistas dopaminérgicos como a bromocriptina, pergolide e ropirinol que tiveram efeito de inativar

radicais livres e proteger contra toxicidade da dopamina, MPTP e óxido nítrico em modelos animais in vivo e in vitro. O Pramipexol mostrou efeito neuroprotetor não dependente do efeito no receptor dopaminérgico, mas agindo na excitotoxicidade ao glutamato e possivelmente com propriedades semelhantes ao fator de crescimento BDNF (fatores neurotróficos derivados de células cerebrais), porém este efeito neuroprotetor dos agonistas dopaminérgicos necessita ser confirmado em ensaios clínicos (KINCSES; VECSEI, 2011).

Os medicamentos inibidores da monoaminoxidase B (MAO-B) selegilina e especialmente a rasagilina demonstraram efeito neuroprotetor evitando a apoptose celular em ensaios animais in vivo e in vitro e em alguns ensaios clínicos recentes, sendo drogas promissoras (KINCSES; VECSEI, 2011).

O tratamento cirúrgico tem indicação naqueles pacientes que não responderam de forma satisfatória ao tratamento medicamentoso adequado. Há a cirurgia de ablação de estruturas do globo pálido por neurocirurgia estereotáxica (palidotomia), e outra técnica mais recente é a estimulação cerebral profunda, que é pouco realizada devido ao alto custo do equipamento (TEIVE, 2010).

No tratamento da DP o diagnóstico precoce é importante, pois com a perspectiva do advento de drogas neuroprotetoras, quanto mais precoce o tratamento mais poupados serão os poucos neurônios remanescentes. Por isso a pesquisa de marcadores periféricos para o diagnóstico precoce da doença são de elevado interesse clínico, corroborando para um melhor prognóstico dos pacientes (TEIVE, 2010).

2.1.6- Estresse Oxidativo na Doença de Parkinson

Radicais livres e peroxidação lipídica

O estresse oxidativo tem sido comumente relacionado com o envelhecimento e no processo fisiopatológico de algumas doenças como a Doença de Alzheimer,

Doença de Parkinson, Doença de Huntington e Esclerose Lateral Amiotrófica (CARLESI *et al.*, 2011; CRISTALLI *et al.*,2012; SHUKLA; MISHRA; PAN, 2011). Os principais responsáveis por esse processo de estresse oxidativo são os radicais livres que, quando produzidos em excesso, podem causar danos na estrutura celular e sua consequente morte (VALKO *et al.*,2007; VASCONCELOS *et al.*,2007).

O radical livre é um átomo ou molécula que possui um número ímpar de elétrons em sua última camada eletrônica, conferindo devido a isso um alto grau de reatividade com outras moléculas. Esta reatividade ocorre por reações de redução que implica em ganho de elétron, e de oxidação que implica em perda de elétron da última camada para outra molécula. Os radicais livres podem ser derivados do nitrogênio e do oxigênio,em conjunto são chamadas ERON,espécies reativas derivadas do nitrogênio e oxigênio (HALLIWELL; CHIRICO, 1993; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007; FERREIRA; MATSUBARA, 1997).

As espécies reativas derivadas do nitrogênio, como o óxido nítrico (NO[·]) tem efeito vasodilatador. Quando exposto ao oxigênio produz o peroxinitrito (ONOO⁻), altamente reativo, causando dano em moléculas biológicas (HALLIWELL; CHIRICO,1993; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007; VASCONCELOS *et al.*,2007).

No metabolismo celular aeróbico em condições fisiológicas o oxigênio sofre redução tetravalente resultando na formação de água (H₂O), neste processo são produzidos vários radicais livres, que por serem oriundos do metabolismo do oxigênio são coletivamente denominados espécies reativas ao oxigênio (ERO). Dentre estas espécies estão o radical superóxido (O₂^{-·}), hidroperoxila (HO₂[·]), e hidroxila (OH⁻), e o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) que apesar de não ser radical livre participa na formação do radical hidroxila, considerada a ERO mais reativa em sistemas biológicos (FERREIRA; MATSUBARA,1997), vide figura 4.

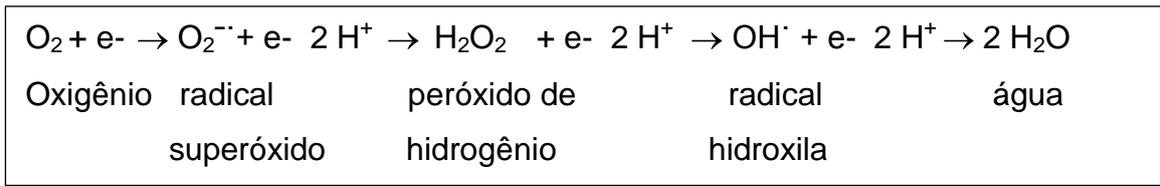


Figura 4-Redução tetravalente do oxigênio molecular na mitocôndria até a formação da água. Fonte: Ferreira e Matsubara, 1997.

As reações de oxidação de biomoléculas podem ser catalisadas por metais, especialmente pelo ferro, íon abundante no organismo, como demonstrado nas reações de Fenton e Haber-Weiss (figuras 5 e 6), produzindo o radical hidroxila (HALLIWELL; CHIRICO,1993; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007; FERREIRA; MATSUBARA,1997).

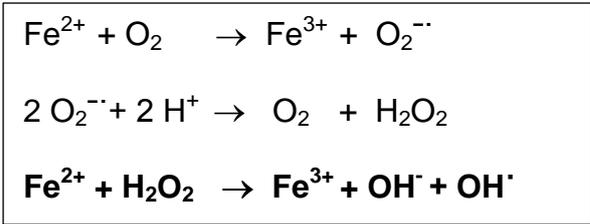


Figura 5-Reação de Fenton. Fonte: Ferreira e Matsubara,1997.

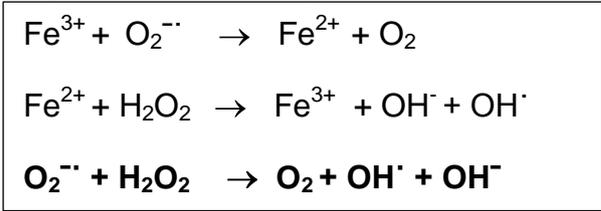


Figura 6-Reação de Haber-Weiss. Fonte: Ferreira e Matsubara,1997.

O radical hidroxila pode causar modificação no DNA, peroxidação lipídica,

danos nas proteínas e inativação enzimática (VASCONCELOS *et al*,2007).As espécies reativas ao oxigênio podem lesar a membrana celular pelo processo de peroxidação lipídica, causando perda da seletividade na troca iônica, liberação de conteúdo de organelas e formação de produtos citotóxicos como o malondialdeído, levando á morte celular (HALLIWELL; CHIRICO,1993; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007; FERREIRA; MATSUBARA,1997).

A peroxidação lipídica é uma reação em cadeia composta por etapas de iniciação, propagação e terminação (figura 7). A etapa de iniciação ocorre pelo sequestro do hidrogênio do ácido graxo poliinsaturado (LH) da membrana celular pelo radical hidroxila (OH[·]) ou alcoxila (LO[·]), com formação do radical lipídico (L[·]). A propagação ocorre pela reação do radical lipídico (L[·]) com o oxigênio (O₂) formando o radical peroxila (LOO[·]),que por sua vez ,sequestra novo hidrogênio do ácido graxo poliinsaturado formando novamente o radical lipídico (L[·]) na segunda reação de propagação.O término da reação ocorre quando os radicais lipídico (L[·]) e peroxila (LOO[·]) propagam-se até destruírem a si próprios.(HALLIWELL; CHIRICO,1993; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007; FERREIRA; MATSUBARA,1997).

$LH + OH^{\cdot} \text{ (ou } LO^{\cdot}) \rightarrow L^{\cdot} + H_2O \text{ (ou } LOH)$	Iniciação
$L^{\cdot} + O_2 \rightarrow LOO^{\cdot}$	Propagação
$LH + LOO^{\cdot} \rightarrow L^{\cdot} + LOOH$	Propagação
$LOO^{\cdot} + L^{\cdot} \rightarrow LOOL$	Terminação
$LOO^{\cdot} + LOO^{\cdot} \rightarrow LOOL + O_2$	Terminação

Figura 7-Etapas da Peroxidação lipídica. Fonte: Ferreira e Matsubara, 1997.

Antioxidantes

No organismo para contrabalançar os efeitos oxidantes das ERON há os antioxidantes que constituem um mecanismo de defesa contra o estresse oxidativo agindo por meio da inativação dos radicais livres. São subdivididos em enzimáticos como a superóxido-dismutase (SOD), catalase e a glutaciona-

peroxidase (GSH-Px) e os não enzimáticos como a glutathiona reduzida (GSH), tocoferóis, ascorbato, e ácido úrico. (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; VASCONCELOS *et al.*, 2007; SHUKLA; MISHRA; PANT, 2011).

Nos antioxidantes enzimáticos há a glutathiona-peroxidase (GSH-Px) que catalisa a conversão do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) às custas da conversão da GSH em GSSG. A catalase é uma enzima que catalisa a redução do H_2O_2 em H_2O e O_2 ; e a superóxido – dismutase (SOD) que é uma enzima que catalisa a dismutação do radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) em H_2O_2 e O_2 na presença do próton H^+ (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; BARBOSA; MEDEIROS; AUGUSTO, 2006; VASCONCELOS *et al.*, 2007), vide figura 8.

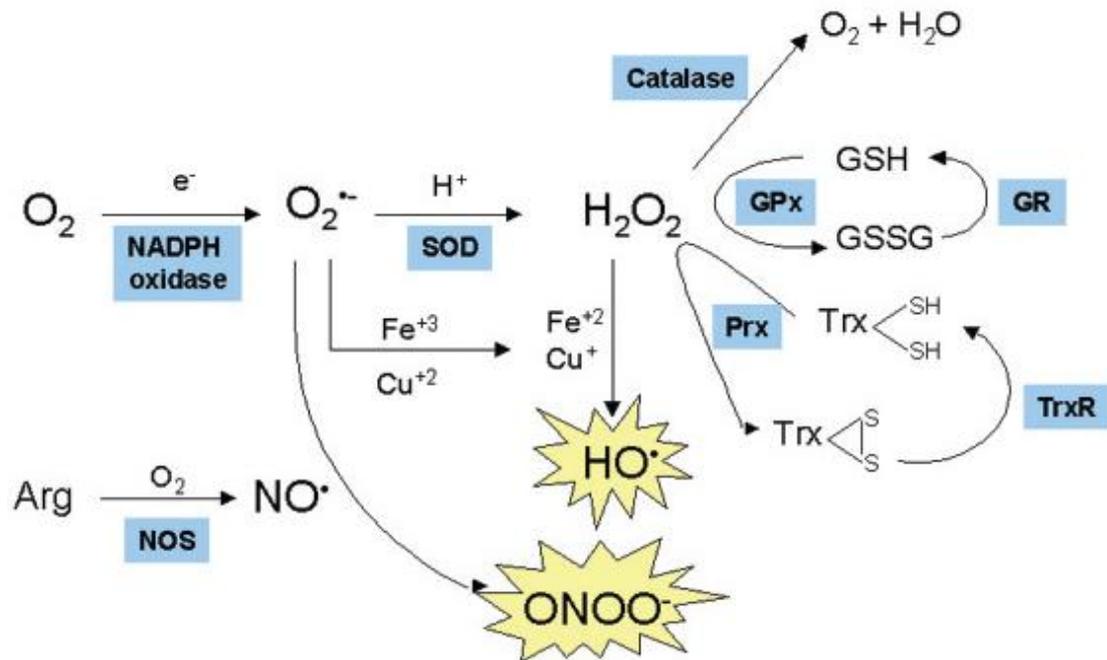


Figura 8. Esquema de reações e respectivas enzimas (em azul) envolvidas na formação das ERON. NOS-NO sintetase, Prx-peroxirredoxinas, TrxR-tiorredoxina redutase, Trx-tiorredoxina, SOD-superóxidodismutase, GPx-glutathiona peroxidase, GR-glutathiona redutase, GSH-glutathiona reduzida, GSSG-glutathiona oxidada. Fonte: Barbosa; Medeiros e Augusto, 2006.

Dentre os não enzimáticos a GSH que está presente na maioria das células, constitui o agente protetor mais importante do sistema de defesa celular e participa da eliminação de produtos da peroxidação lipídica. Após a exposição

ao agente oxidante ocorre a oxidação da GSH em glutathiona oxidada (GSSG), que por sua vez é transformada novamente em GSH pela ação da enzima GSH-Rd, mantendo íntegro o sistema de proteção celular (FERREIRA; MATSUBARA,1997; VASCONCELOS *et al.*, 2007).

A vitamina E atua como quelante dos oxidantes produzidos durante a lipoperoxidação, protegendo a membrana celular (HALLIWELL; CHIRICO,1993; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007; VASCONCELOS *et al.*, 2007).

Os antioxidantes enzimáticos e a GSH estão presentes no meio intracelular, sendo por isso analisados mais frequentemente no eritrócito, enquanto que os antioxidantes não enzimáticos como vitamina E e vitamina C estão no meio extracelular, sendo analisados no plasma ou soro, podendo ser avaliados em conjunto constituindo a capacidade antioxidante total (VASCONCELOS *et al.*,2007).

O estresse oxidativo reflete o desequilíbrio da relação entre a geração das espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (ERON) e os mecanismos antioxidantes (FAROOQUI; FAROOQUI, 2011; FERREIRA; MATSUBARA,1997; HALLIWELL; CHIRICO,1993; KINCSES; VECSEI, 2011; LIMA; ABDALLA, 2001;SCHAPIRA; JENNER, 2011; SHUKLA; MISHRA; PAN, 2011; VALKO *et al.*, 2007; VASCONCELOS *et al.*,2007).

Estresse oxidativo na DP

O estresse oxidativo em seres humanos tem papel relevante nas doenças degenerativas por aumento das ERON ou por diminuição das defesas antioxidantes ou por ambos (SHUKLA; MISHRA; PANT, 2011).

O cérebro é um dos órgãos metabolicamente mais ativos do organismo, requer um suprimento ininterrupto de sangue com alto teor de oxigênio. Este alto consumo de oxigênio leva á formação de grande quantidade de radicais livres. Estruturalmente o SNC é rico em ácidos graxos poliinsaturados que são mais susceptíveis á ação das ERON e a barreira hematoencefálica dificulta a entrada no SNC de antioxidantes como a vitamina E. Por todas essas razões o

SNC é mais susceptível ao estresse oxidativo. (SHUKLA; MISHRA; PANT, 2011).

Na doença de Parkinson o estresse oxidativo é confirmado pela deficiência nos sistemas de enzimas antioxidantes como catalase, superóxido dismutase e glutathiona peroxidase, com diminuição do nível da glutathiona reduzida e pelo dano encontrado nos lipídeos, proteínas e DNA, sendo que o mesmo não é restrito ao cérebro, pois pode ser encontrado com marcadores do dano oxidativo na periferia (KINCSES; VECSEI, 2011; SCHAPIRA; JENNER, 2011).

A pesquisa de marcadores periféricos do estresse oxidativo em doenças degenerativas como a DP tem sido objeto de estudo de muitos pesquisadores para auxiliar no diagnóstico precoce dessas doenças através de meios pouco invasivos como a pesquisa no sangue e ajudar a melhorar o prognóstico com um tratamento mais precoce (CRISTALLI *et al*, 2012; FAROOQUI; FAROOQUI, 2011; HENCHCLIFFE *et al*, 2011; SANY *et al*, 2011; VASCONCELOS *et al*, 2007).

Acredita-se que as células dopaminérgicas são mais sensíveis ao dano oxidativo. Uma das teorias que justificam essa idéia diz respeito à metabolização da dopamina pela monoaminoxidase (MAO) que produz o peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Porém é controverso na literatura o papel da dopamina no estresse oxidativo porque na DP há neurônios dopaminérgicos que são poupados, há outras áreas dopaminérgicas no cérebro não afetadas e há degeneração de neurônios não dopaminérgicos (KINCSES; VECSEI, 2011). Além do metabolismo da dopamina pela MAO, também foi encontrada elevada quantidade de ferro na substância negra em necrópsia de pacientes parkinsonianos.

Sabe-se que o sistema nervoso sintetiza neuromelanina que existe em grande quantidade nas células dopaminérgicas cuja função é a estocagem do ferro, funcionando como um quelante evitando o excesso de ferro livre nas células dopaminérgicas. Com o avançar da idade a quantidade de neuromelanina diminui, o que faz com que haja maior quantidade de ferro livre no citosol das células dopaminérgicas predispondo ao estresse oxidativo e à formação dos corpos de Lewy por depósito de alfa-sinucleína (OSHIRO; MORIOKA; KIKUCHI, 2011).

A investigação do estresse oxidativo na DP pode ajudar a esclarecer a patogênese da doença e possíveis intervenções terapêuticas futuras que possam melhorar o prognóstico da doença. Os possíveis mecanismos envolvidos na patogênese da DP estão resumidos na figura 9, tendo papel relevante o estresse oxidativo (FAROOQUI; FAROOQUI, 2011; FERREIRA; MATSUBARA, 1997; HALLIWELL; CHIRICO, 1993; KINCSES; VECSEI, 2011; SCHAPIRA; JENNER., 2011; SHUKLA; MISHRA; PANT, 2011; VALKO *et al.*, 2007; VASCONCELOS *et al.*, 2007).

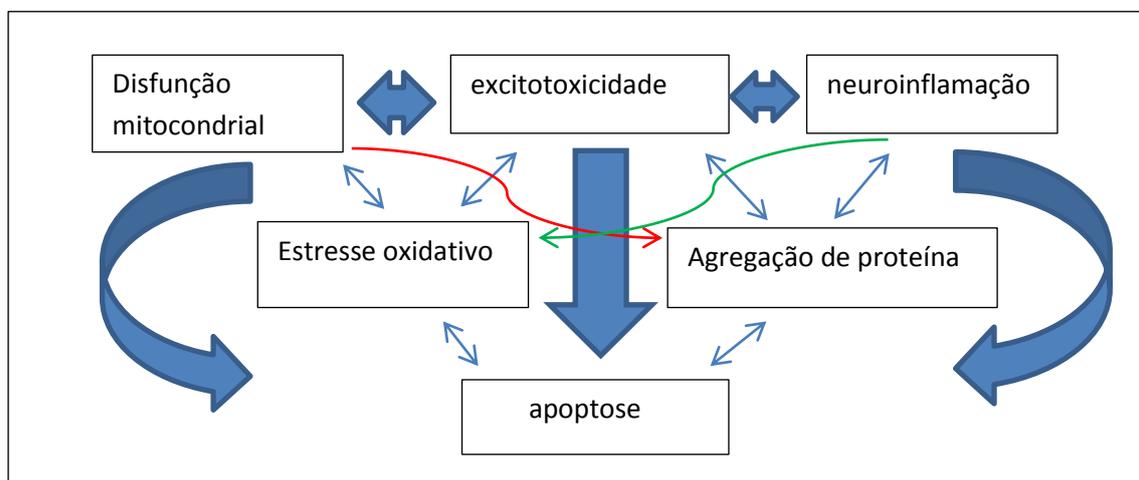


Figura 9- Interação dos mecanismos patológicos na Doença de Parkinson.

Fonte: Kincses e Vecsei, 2011.

3. Objetivo

3.1 Objetivo Geral

Verificar a existência de alterações em parâmetros oxidantes e antioxidantes no sangue de pacientes parkinsonianos e sua relação com o estágio da doença e critérios clínicos

3.2 Objetivos Específicos

- Correlacionar a peroxidação lipídica com o estágio da doença e os parâmetros clínicos da escala UPDRS: estado mental, atividades da vida diária, exame motor e complicações da terapia nos pacientes com a doença de Parkinson.
- Correlacionar a capacidade antioxidante total com o estágio da doença e parâmetros clínicos da escala UPRDS: estado mental, atividades da vida diária, exame motor e complicações da terapia nos pacientes com a doença de Parkinson.

4. MÉTODOS

4.1- Critérios éticos da pesquisa

A pesquisa foi realizada de acordo com preceitos da Declaração de Helsinque e do Código de Nuremberg, respeitadas as Normas de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos (Res. CNS 196/96) do Conselho Nacional de Saúde, com a aprovação do projeto de pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos do Hospital de Clínicas Gaspar Vianna, autorizado pelo coordenador da pesquisa (APÊNDICE A), e pelos participantes por meio do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE B).

4.2- Sujeitos da pesquisa

A amostra foi constituída por pacientes atendidos na Unidade de Ensino e Assistência de Fisioterapia e Terapia Ocupacional (UEAFTO) da Universidade do Estado do Pará (UEPA) e membros da Associação de Parkinsonianos do Pará (APP), sendo trinta indivíduos com diagnóstico de Doença de Parkinson com tratamento medicamentoso e trinta indivíduos sem a doença (população controle). As avaliações neurológicas foram agendadas no ambulatório da UEAFTO e realizadas por uma médica neurologista.

4.2.1- Critérios de inclusão e exclusão

Foram excluídos da pesquisa pacientes e controles portadores de diabetes mellitus devido ser uma doença com alteração frequente nos parâmetros oxidativos. Também foram excluídos pacientes que apresentassem outras doenças neurológicas como síndrome parkinsoniana secundária ao uso de

neuroléptico, sequela de acidente vascular cerebral, sequela de traumatismo cranioencefálico, entre outros.

Para o estabelecimento da amostra de parkinsonianos teve-se como critérios de inclusão: pacientes com diagnóstico da Doença de Parkinson nos estágios leve, moderado ou grave de acordo com a Escala de Hoehn & Yahr modificada, sem preferência de sexo, idade adulta acima de 40 anos.

Para a amostra controle teve-se os seguintes critérios de inclusão: pacientes livres do diagnóstico da Doença de Parkinson atendidos na UEAFTO, sem preferência de sexo, idade adulta acima de 40 anos.

4.2.2 Metodologia da avaliação clínica

Os pacientes foram submetidos à anamnese com aplicação do protocolo da pesquisa (Anexo A), onde foi pesquisado o perfil clínico dos pacientes, comorbidades existentes, realizado exame físico geral, neurológico, e classificados em estágios DP leve, DP moderada e DP grave de acordo com a escala modificada de Hoehn & Yahr (1967; Anexo B).

A pontuação da escala de H & Y varia de 1 a 5, sendo considerados estágio leve da doença de 1 a 2, moderado de 2,5 a 3 e grave de 4 a 5 (HOEHN; YAHR, 1967).

Estágio 0-sem sinais da doença

Estágio 1-doença unilateral

Estágio 1,5-acometimento unilateral mais axial

Estágio 2-doença bilateral sem comprometimento dos reflexos posturais

Estágio 2,5-doença bilateral leve com recuperação nos testes de reflexos posturais

Estágio 3-doença bilateral de leve a moderada, há instabilidade postural; independente nas atividades da vida diária

Estágio 4-alto grau de incapacitação; ainda consegue andar ou ficar em pé sem auxílio.

Estágio 5-confinado à cama ou à cadeira de rodas, a menos que ajudado.

Durante as avaliações, foi observado que os pacientes atendidos na UEAFTO encontravam-se somente no estágio leve e moderado da doença, não sendo possível a participação dos pacientes no estágio grave devido à impossibilidade de locomoção de suas residências até a UEPA. Devido à necessidade de avaliação dos pacientes nos diferentes estágios da doença, contactou-se com a Associação de Parkinsonianos do Pará que indicou pacientes cadastrados em estágio avançado da doença. Após contato inicial com a família, agendou-se visita domiciliar para a avaliação neurológica e coleta da amostra sanguínea.

Posteriormente foram submetidos à Escala Unificada de Avaliação para Doença de Parkinson (UPDRS, 1987; Anexo C).

A escala UPDRS é subdividida em 4 itens:

Ítem 1-Estado mental/comportamento/estado emocional: pontuação varia de 1 a 14, quanto maior a pontuação maior o comprometimento.

Ítem 2-Atividades da vida diária: varia de 0 a 52, quanto maior a pontuação maior a dificuldade.

Ítem 3-Exame motor: varia de 0 a 56, quanto maior a pontuação pior o desempenho motor.

Ítem 4-Complicações da terapia (na semana que passou): varia de 0 a 23, quanto maior a pontuação maior complicação.

4.3 Coleta de sangue

A retirada da amostra sanguínea foi realizada após a avaliação neurológica a fim de evitar que um possível estresse provocado pela coleta sanguínea pudesse interferir no resultado da avaliação clínica. A punção venosa foi realizada por um experiente técnico de laboratório funcionário do posto de coleta do Laboratório de Análises Clínicas da UEPA.

Foram coletados dos pacientes uma amostra de 5 ml de sangue em tubos a vácuo contendo heparina. As amostras de sangue foram imediatamente colocadas em gelo e levadas para o Laboratório de Morfofisiologia Aplicada à Saúde da UEPA, onde foram processadas. Foram centrifugadas a 3500 rpm

por 15 minutos, uma parte do soro foi encaminhada ao Laboratório de Análises Clínicas da Universidade do Estado do Pará (UEPA) para os exames bioquímicos e o plasma foi armazenado em freezer a menos 75 graus celsius para análise da peroxidação lipídica e da capacidade antioxidante total.

Os exames laboratoriais realizados foram: hemograma, uréia, creatinina, TGP, TGO, Gama-GT, fosfatase alcalina e ácido úrico. Os resultados dos exames foram entregues aos pacientes, e aqueles que apresentaram alguma alteração foram encaminhados à Unidade Básica do Marco, onde foram atendidos pelos médicos do posto.

4.4 Determinação de parâmetro oxidante

4.4.1 Análise da peroxidação lipídica

A peroxidação lipídica foi analisada através da determinação da concentração de substâncias que reagem com o ácido tiobarbitúrico (TBARS) no plasma dos pacientes. Foi utilizado o método de Kohn e Liversedge (1944) adaptado por Percário, Vital e Jablonka (1994). A técnica baseia-se na incubação do material em meio ácido e aquecido; onde os TBARS, dentre eles o malondialdeído (MDA), que são subprodutos da peroxidação lipídica, reagem com uma variedade de agentes nucleofílicos para produzir cromógenos com alta absorvidade molar no espectro visível. A sua condensação com o ácido tiobarbitúrico (TBA) forma produtos que podem ser determinados por absorção ou por fluorescência no espectrofotômetro.

Durante a determinação da concentração de TBARS nas amostras de plasma dos pacientes, juntou-se 200µl de amostra com 1ml do reagente de ácido tiobarbitúrico (TBA 10mM em KH_2PO_4) em tubos de ensaio resistentes a altas temperaturas. Em seguida as amostras foram levadas ao banho Maria a 95°C durante uma hora. Após o banho, os tubos foram esfriados em temperatura ambiente durante 15 minutos e adicionado 4 ml de álcool n-butílico. Posteriormente, foram homogeneizados e levados a centrífuga a 3.000 rpm por

15 minutos. Ao saírem da centrífuga, é possível visualizar a formação de duas fases nas amostras, sendo coletado 3 ml do sobrenadante e colocados em cubetas de para serem lidos no espectrofotômetro a 535nm.

Ao serem feitos os testes para a quantificação da concentração do TBARS, observou-se que quando as amostras eram retiradas diretamente do freezer e descongeladas em temperatura ambiente ocorria coagulação de proteínas quando passavam pelo banho maria, além de não haver mudança de coloração das amostras. Também foi observado que em quantidades acima de 200µl de amostras também ocorria o mesmo problema. A partir disso, as amostras eram retiradas do freezer a menos 75 graus Celsius e descongeladas paulatinamente no freezer comum durante 1 dia para posterior descongelamento total em temperatura ambiente, além de se estabelecer o volume de 200µl para ser utilizado durante as quantificações. Foi realizado o cálculo no final de acordo com a quantidade de amostra utilizada.

4.5- Determinação de parâmetro antioxidante

4.5.1- Capacidade antioxidante total equivalente o Trolox (TEAC)

Para a determinação da atividade antioxidante total foi realizado a avaliação da capacidade antioxidante total equivalente ao Trolox (TEAC). Utilizou-se a técnica de Miller *et al.* (1993) adaptado por Re *et al.* (1999). O Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrameticromono-2-carboxílico) é um análogo hidrossolúvel da vitamina E produzido sinteticamente, sendo utilizado como solução padrão. O método é uma técnica colorimétrica com base na reação entre o 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina ácido-6-sulfônico-diamônio (ABTS) e o persulfato de potássio ($K_2S_2O_8$), dando origem ao radical cátion $ABTS^{*+}$, cromóforo de cor verde/azul com absorbância máxima nos comprimentos de onda 645, 734 e 815 nm.

O TEAC reflete a habilidade do hidrogênio ou do antioxidante doador de elétron de eliminar o radical cátion $ABTS^{•+}$ comparando-se com o padrão, neste caso, o Trolox (KARALI et al., 2010). Inicialmente, preparou-se o tampão fosfato com pH 7.2 e em seguida preparou-se a solução de estoque de $ABTS^{•+}$ que foi feito 12 horas antes das dosagens, sendo conservado no escuro à temperatura ambiente. Também preparou-se a solução de estoque de Trolox (Aldrich Chemical Co 23,881-3).

No dia das quantificações, preparou-se a solução de trabalho de $ABTS^{•+}$, que foi misturada com o tampão fosfato. Desta solução, foram retirados 3 ml para leitura em espectrofotômetro para a sua calibração, sendo lido a uma absorbância de 734nm a temperatura 30°C. A partir disso, foi realizada a curva padrão, utilizando-se o Trolox preparado anteriormente, seguido de suas diluições com o tampão, sendo submetido à leitura de absorbância em cubeta de quartzo a 734nm em 25°C.

Para a leitura das amostras, foi colocado na cubeta de quartzo 2970µl da solução de trabalho de $ABTS^{•+}$, realizando-se a leitura na absorbância a 734nm, posteriormente foi acrescentado 30 µl da amostra-plasma, sendo homogeneizado manualmente e com o auxílio de uma pipeta por 20 segundos, reiniciando a leitura na mesma absorbância dentro do intervalo de 5 minutos. O valor final da leitura das amostras foi quantificado em mM/l.

4.6 Análise estatística

A análise estatística baseou-se na análise de variância pelo teste ANOVA– um critério de Bonferroni com significância $p < 0,05$; correlação de Pearson com significância $p < 0,05$; e no teste G na análise qualitativa das comorbidades.

5. RESULTADOS

5.1 Perfil clínico dos pacientes

Foram analisados 30 pacientes parkinsonianos e 30 pacientes controles com as seguintes características clínicas, conforme tabelas 1 e 2:

Tabela 1. Variáveis epidemiológicas e clínicas de pacientes com DP e Controles.

Variáveis	Controles N= 30	DP leve N= 11	DP moderada N= 12	DP grave N= 7
Sexo (M/F)	8/22†	5/6	9/3	3/4
Idade média (anos)	65,3(± 10,1)	66,3 (± 10)	58,9 (± 12,7)	66,7 (± 12,5)
Início sintomas (anos)	–	4,7(± 2,6)	6,8 (± 0,26)	16,7 (± 5,7)#
H&Y (1 a 5)	–	1,64 (± 0,23)	2,71 (± 0,26)*	4,3 (± 0,5)*•
Tempo de tratamento levodopa (anos)	–	2,0 (± 2,2)	3,8 (± 2,4)	14 (± 3,4)#
Updrs 1 (1 a 14)	–	2,5 (± 1,2)	2,7 (± 1,7)	5 (± 0,8)#
Updrs 2 (0 a 52)	–	10,1 (± 3,1)	16,4 (± 1,9)*	30,4 (± 6,3)*•
Updrs 3 (0 a 56)	–	14,5(±5,0)	20,2(±5,1)	35,6(±7,2)#
Updrs 4 (0 a 23)	–	1,3(±1,7)	3,7(±2,5)	6,3(±2,9)*

Valores expressos como M (Média), ± DP (Desvio Padrão).

† P = 0.0396; # P < 0.01 vs leve e moderada; * P < 0.01 VS leve; • P <0.01 vs moderada.

Em relação ao sexo observou-se predomínio das mulheres no grupo controle (22:8) e dos homens no grupo Parkinson (17: 13).

A média de idade foi semelhante nos 2 grupos 65,3 anos no grupo controle; 66,3 anos na DP Leve; 58,9 anos na DP Moderada e 66,7 anos na DP Grave.

Houve diferença estatística no tempo do início dos sintomas assim como no tempo de tratamento com levodopa no grupo DP grave em relação ao DP leve e moderado ($p < 0,001$), sendo maior na DP grave.

Observou-se que quanto maior o tempo de início dos sintomas, pior o estágio da doença, e maior o tempo de uso da levodopa.

Na escala UPDRS ítem 1 que concerne ao estado mental, comportamento e emocional do paciente houve diferença estatística entre o DP grave e o DP leve e moderado ($p < 0,01$), havendo maior comprometimento no DP grave. Não houve diferença entre DP leve e DP moderado.

No ítem 2 da escala UPDRS referente às atividades da vida diária houve diferença estatística do grupo DP moderado e grave em relação ao DP leve ($p < 0,01$), sendo mais comprometido nos estágios moderado e grave, assim como houve diferença estatística entre os grupos DP moderado e grave, sendo pior no último ($p < 0,01$).

No ítem 3 da escala UPDRS referente ao exame motor houve diferença estatística entre o grupo DP grave e os grupos DP leve e moderado ($p < 0,01$), demonstrando maior comprometimento motor na fase grave da DP. Não houve diferença entre DP leve e DP moderado.

No ítem 4 da escala UPDRS referente às complicações da terapia houve diferença estatística entre o grupo DP grave e o DP leve, sendo maior no DP grave ($p < 0,01$).

Portanto, quanto mais grave o estágio da doença pior o escore na escala UPDRS, especialmente no ítem 2 e 3 que concernem às atividades da vida diária e exame motor, respectivamente.

Tabela 2. Características clínicas e comorbidades dos pacientes parkinsonianos

Variáveis	Controles N= 30	DP leve N= 11	DP moderada N= 12	DP grave N= 7	p
Tremor, n (%)	–	11(100)	12 (100)	7 (100)	-
Rigidez, n (%)	–	11 (100)	12 (100)	7 (100)	-
Bradicinesia, n (%)	–	11 (100)	12 (100)	7 (100)	-
Instabilidade postural, n (%)	–	1 (9,1)	4 (33,3)	7 (100)	0.1467*
HAS, n (%)	14 (46.7)	5 (45,4)	3 (25)	2 (28.6)	0.5171
ICC, n (%)	1 (3.3)	1 (3,3)	–	–	0.4743
Dislipidemia, n (%)	10 (33,3)	1 (3,3)	1 (3,3)	1 (3,3)	0.1577
Hipotireoidismo, n (%)	–	1 (3,3)	–	–	-
Osteoporose, n (%)	–	1 (3,3)			-

Valores expressos como frequência (n) e percentual (%). HAS-Hipertensão Arterial Sistêmica; ICC-insuficiência cardíaca congestiva. * Referente ao grupo DP leve vs moderada.

Observou-se que todos os pacientes apresentaram a tríade clássica da DP tremor, rigidez e bradicinesia, enquanto que a instabilidade postural foi mais frequente na fase grave da DP.

Em relação às comorbidades a HAS foi semelhante entre grupo controle e DP (14: 10) respectivamente, dentre os parkinsonianos foi mais frequente no grupo leve. A ICC ocorreu somente em 1 paciente controle e 1 paciente DP leve. A dislipidemia foi mais frequente no grupo controle (14) que no grupo DP leve (1),

moderado (1) e grave (1), porém sem diferença estatística significativa entre os grupos.

5.2 Peroxidação lipídica

Na avaliação da peroxidação lipídica pelo método TBARS observou-se diferença estatisticamente significativa entre o grupo controle (média 63,41 ± 22,82) e o grupo DP leve (média 89,58 ± 34,34) e DP moderado (média 85,44 ± 26,73),

($p < 0,05$).

A diferença estatística ($p < 0,05$) também se apresentou entre os grupos DP leve e moderado e o DP grave (média 58,08 ± 3,62), apresentando maior valor do TBARS na DP leve e moderada, conforme figura 10 abaixo.

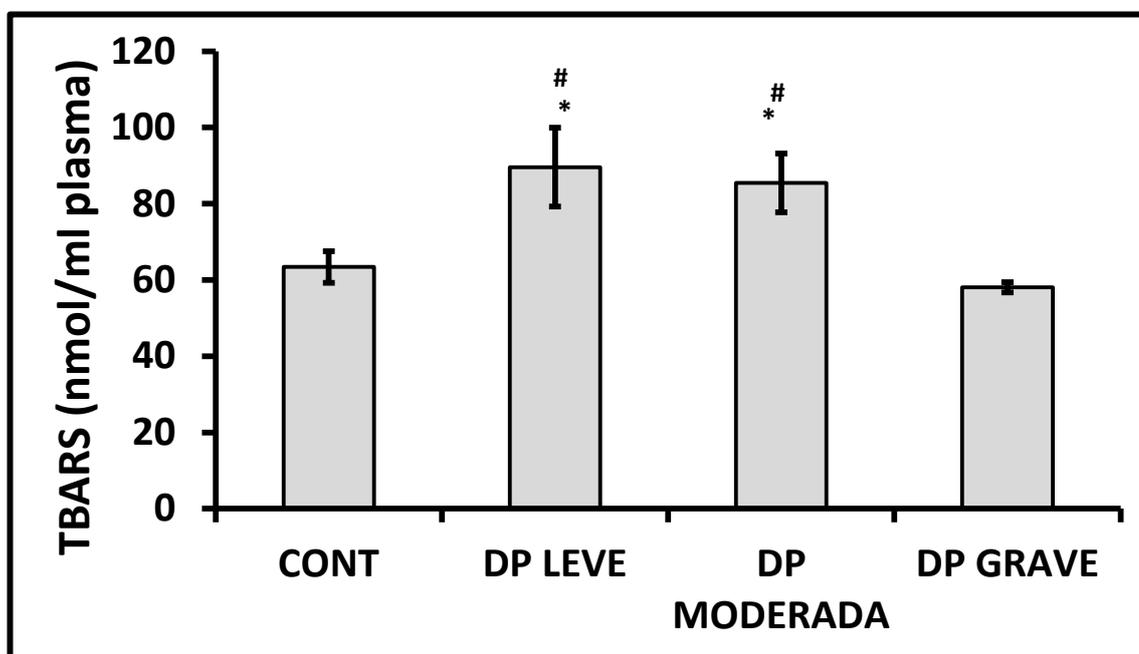


Figura 10 – Níveis de substâncias reagentes ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em indivíduos controles e pacientes com doença de Parkinson leve, moderada e grave. Os dados estão expressos como média ± E.P.M. (ANOVA-Bonferroni). * $p < 0,05$ vs CONT; # $p < 0,05$ vs DP GRAVE.

5.3 Capacidade antioxidante total

Foram estudados também os valores da capacidade antioxidante total pelo método do TEAC, cujos valores foram estatisticamente diferentes ($p < 0.05$) entre o grupo Controle (média $1,21 \pm 0,14$) e os DP Leve (média $1,01 \pm 0,05$), Moderado (média $1,04 \pm 0,24$) e Grave (média $1,59 \pm 0,23$). Os pacientes do grupo DP Grave apresentaram maior atividade antioxidante quando comparou-se os grupos DP entre si ($p < 0.05$), conforme demonstrado na figura 11:

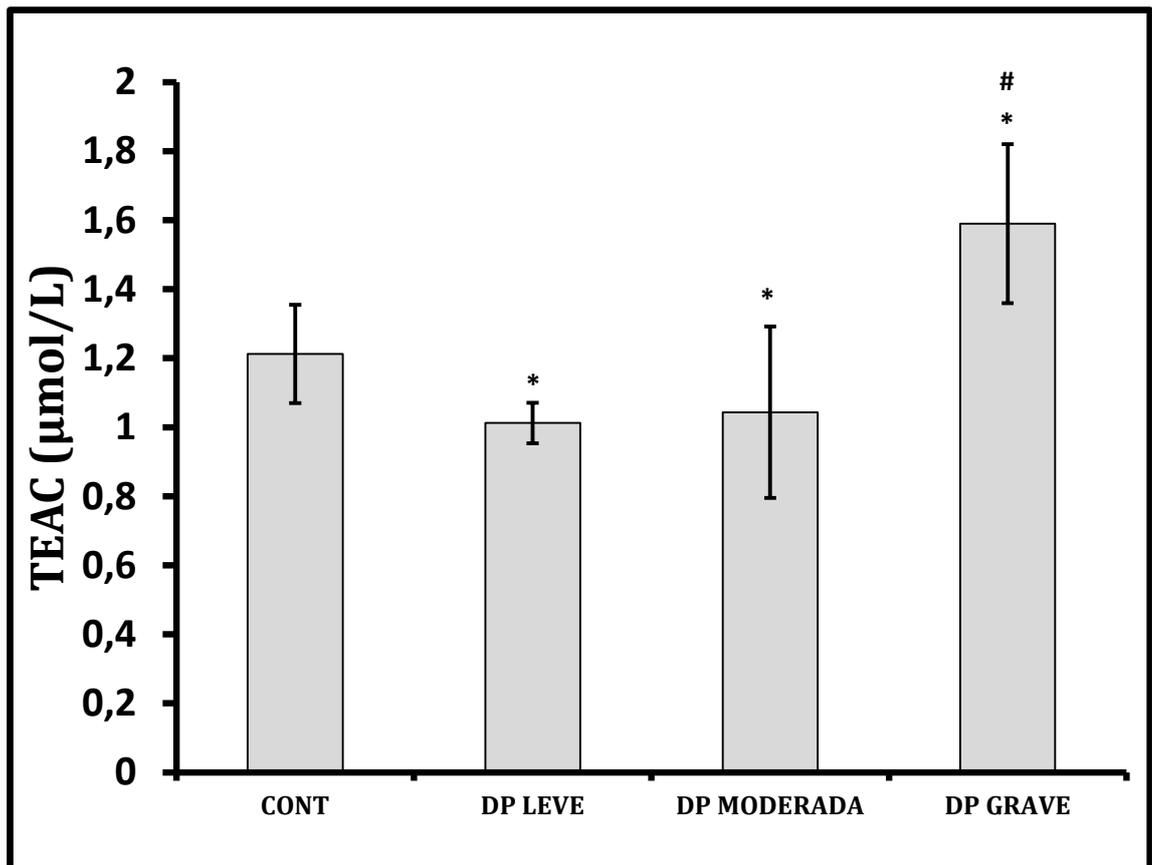


Figura 11 – Medida da capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) em indivíduos controles e pacientes com doença de Parkinson leve, moderada e grave. Os dados estão expressos como média \pm D.P. (ANOVA-Bonferroni). * $p < 0.05$ vs CONT; # $p < 0.05$ vs DP GRAVE.

5.4 Correlação entre TBARS (MDA) e TEAC

Não houve correlação entre TBARS (MDA) e TEAC na DP leve, moderado e grave, como demonstrado nas figuras 12,13 e 14 respectivamente:

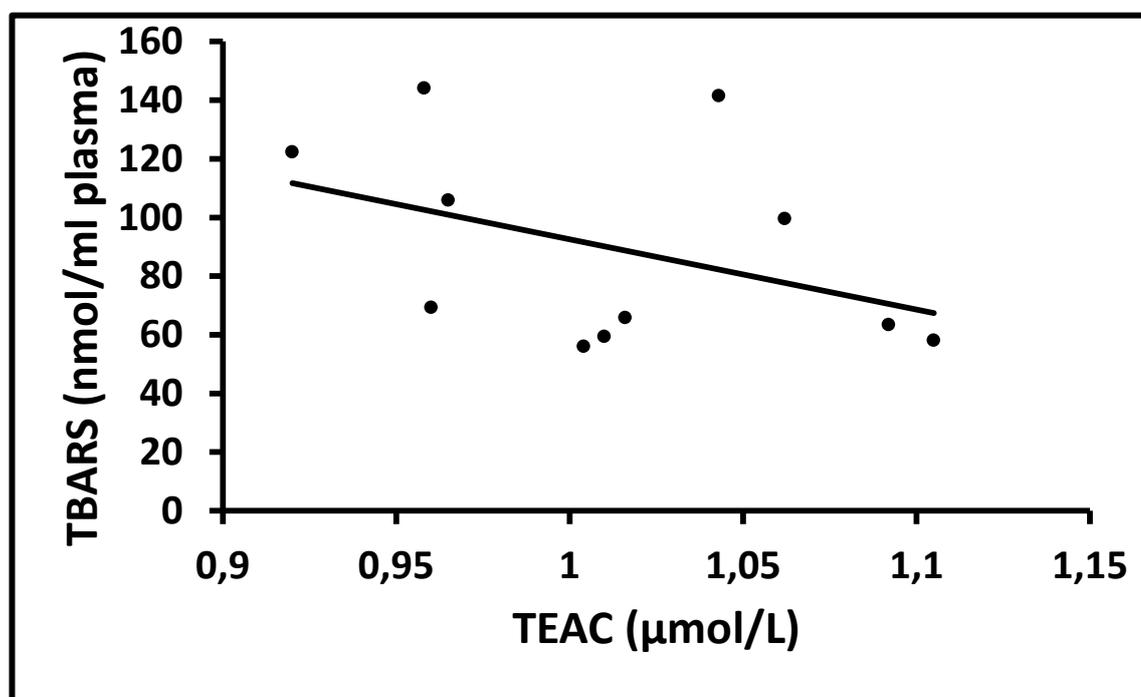


Figura 12 – Correlação entre os níveis de substâncias reagentes ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no plasma e a capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) em pacientes com doença de Parkinson em estágio leve. Teste do coeficiente de correlação de Pearson. $p = 0.2$; $r = -0.4117$.

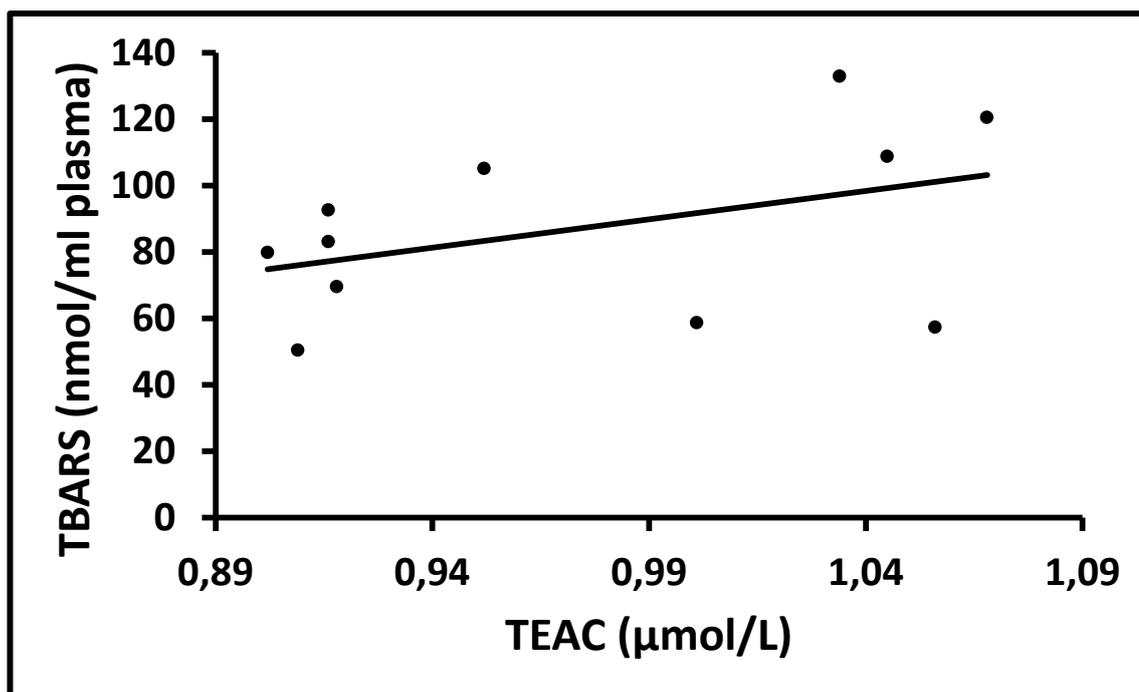


Figura 13 – Correlação entre os níveis de substâncias reagentes ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no plasma e a capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) em pacientes com doença de Parkinson em estágio moderado. Teste do coeficiente de correlação de Pearson. $p = 0.2$; $r = 0.4177$.

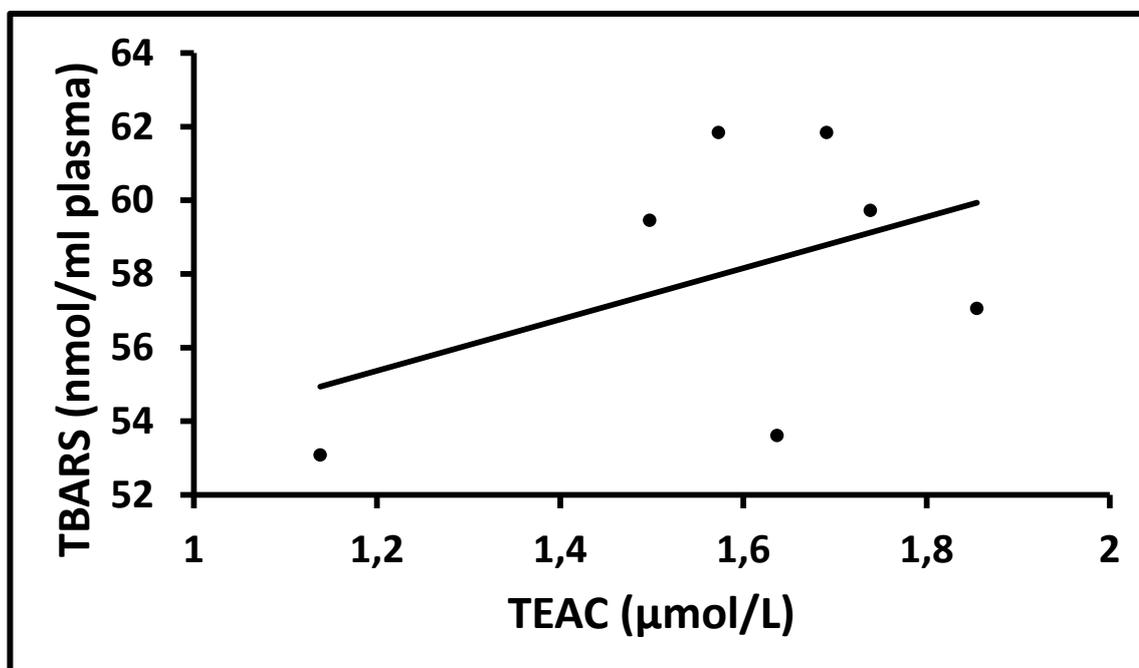


Figura 14 – Correlação entre os níveis de substâncias reagentes ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no plasma e a capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) em pacientes com doença de Parkinson em estágio grave. Teste do coeficiente de correlação de Pearson. $p = 0.32$; $r = 0.4421$.

Porém quando fizemos a correlação entre todos os pacientes parkinsonianos sem distinção de grupos houve correlação entre TBARS e TEAC, quanto maiores os níveis de TEAC menores os níveis de TBARS, conforme figura 15:

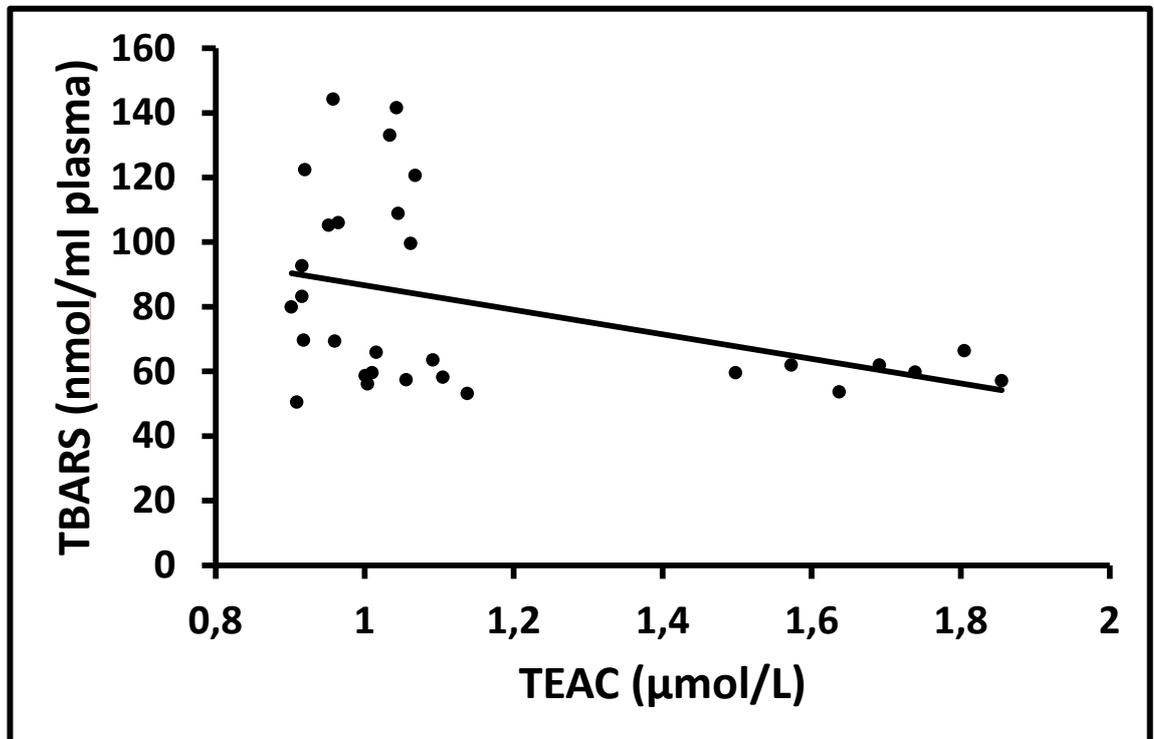


Figura 15 – Correlação entre os níveis de substâncias reagentes ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no plasma e a capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) em pacientes com doença de Parkinson (todos os estágios). Teste do coeficiente de correlação de Pearson. $p = 0.02$; $r = 0.4009$.

5.5 Correlação entre parâmetros clínicos com TEAC e TBARS (MDA)

Não houve correlação entre o tempo de tratamento com levodopa e os valores de TEAC no DP leve, moderado e grave, conforme figuras 16,17 e 18 abaixo:

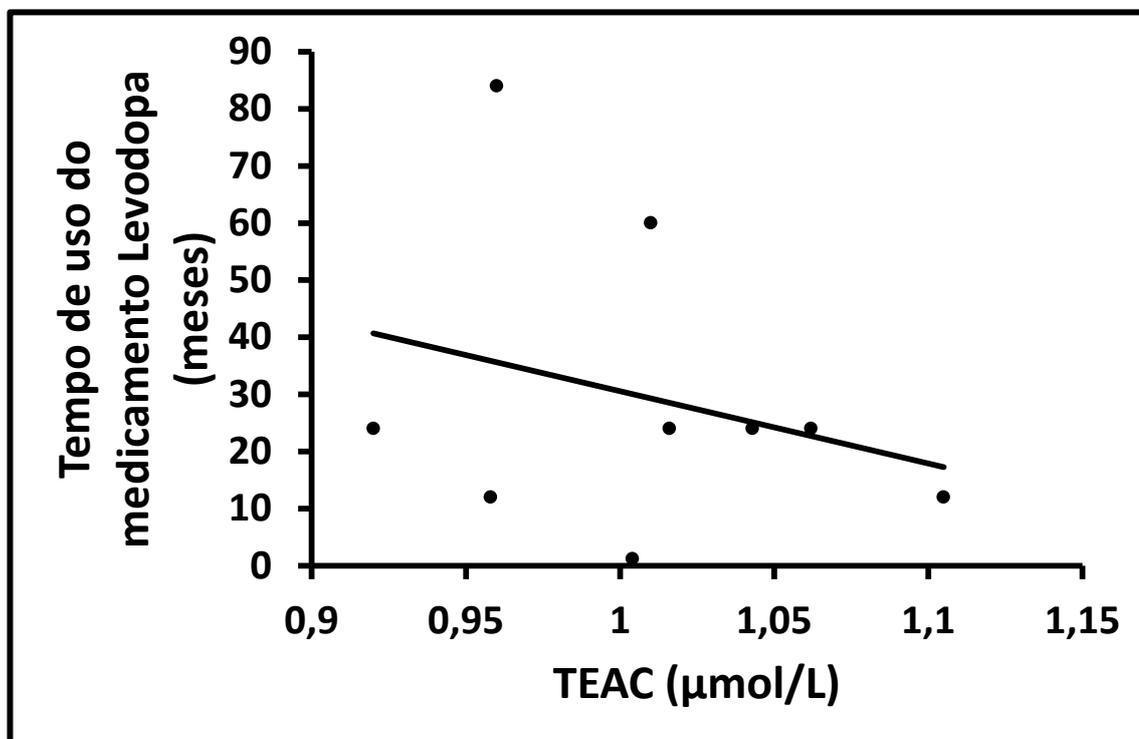


Figura 16 – Correlação entre o tempo de uso do medicamento Levodopa e a capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) em pacientes com doença de Parkinson em estágio leve. Teste do coeficiente de correlação de Pearson. $p = 0.46$; $r = -0.2778$.

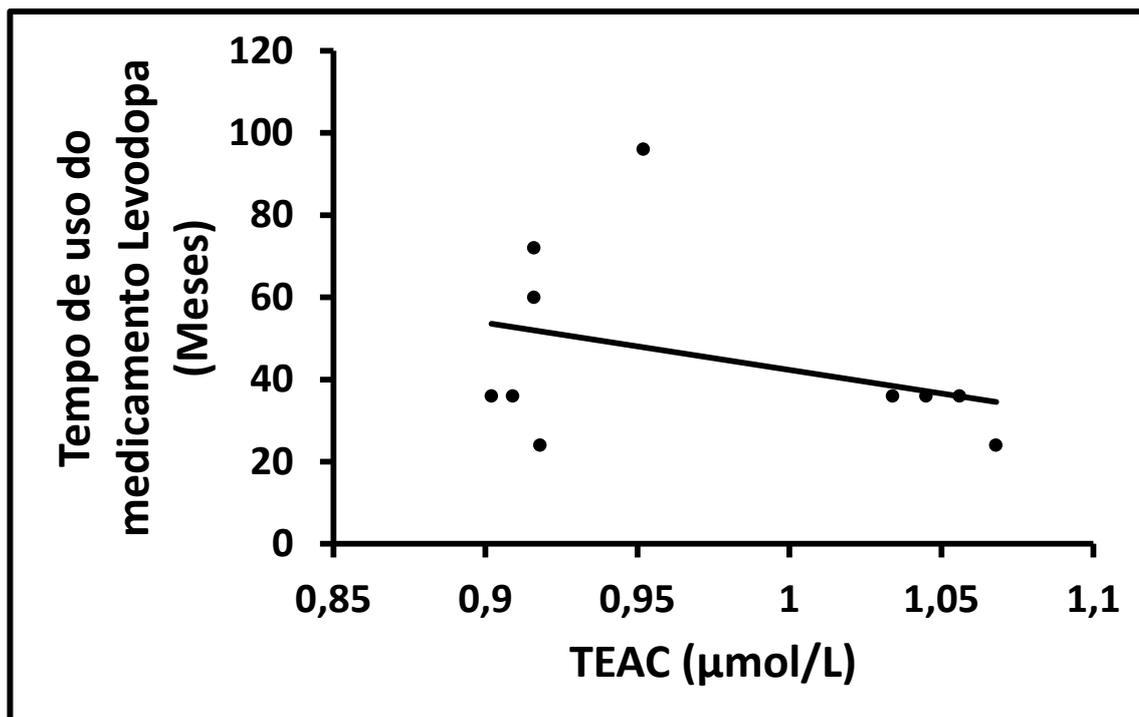


Figura 17 – Correlação entre o tempo de uso do medicamento Levodopa e a capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) em pacientes com doença de Parkinson em estágio moderado. Teste do coeficiente de correlação de Pearson. $p = 0.32$; $r = -0.3448$.

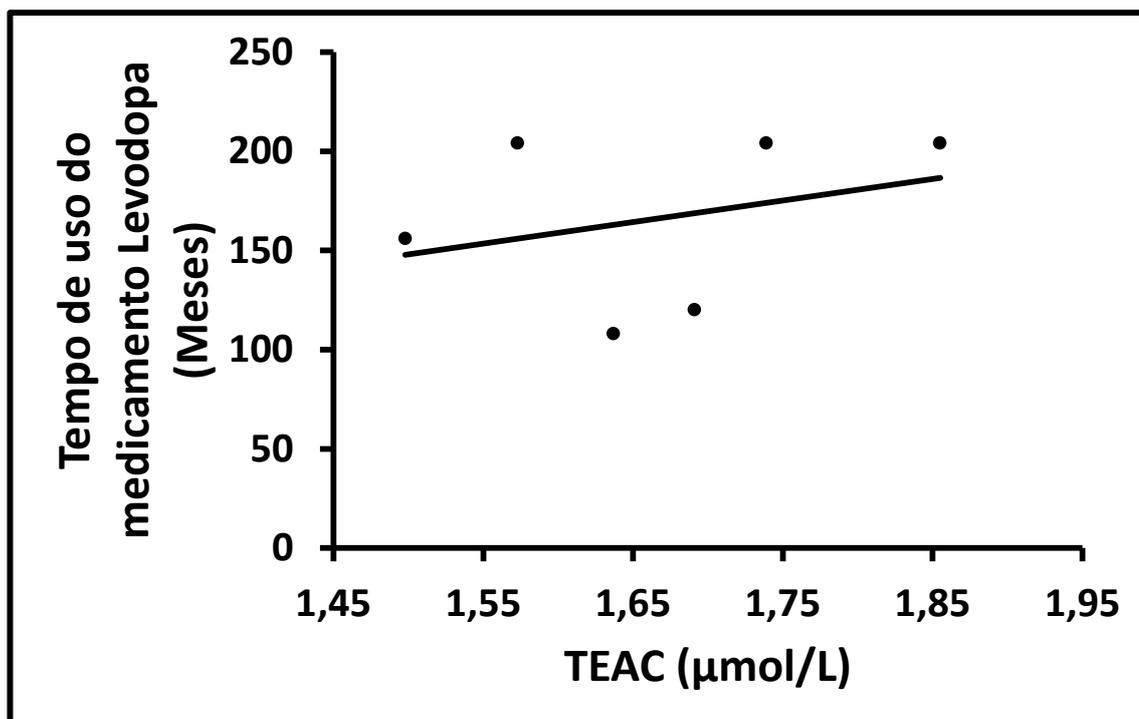


Figura 18 – Correlação entre o tempo de uso do medicamento levodopa e a capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) em pacientes com doença de Parkinson em estágio grave. Teste do coeficiente de correlação de Pearson. $p = 0.55$; $r = -0.3078$.

Porém, quando se considerou todos os grupos de Parkinson houve correlação entre o tempo de tratamento com levodopa e o TEAC, quanto maior o tempo de tratamento maior o valor do TEAC, conforme figura 19:

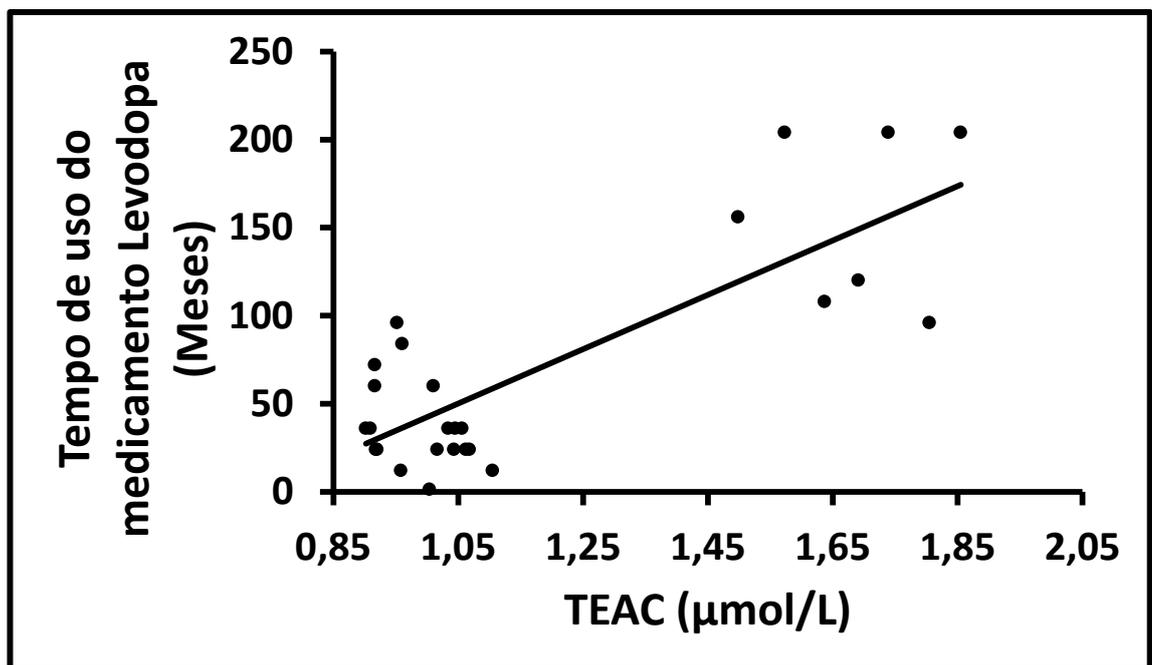


Figura 19 – Correlação entre o tempo de uso do medicamento Levodopa e a capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) em pacientes com doença de Parkinson (todos os estágios). Teste do coeficiente de correlação de Pearson. $p = < 0.0001$; $r = 0.7552$.

Não houve correlação entre o tempo de uso de medicação levodopa e os valores do TBARS (MDA) nos estágios DP leve, DP moderada e DP grave, conforme figuras 20,21 e 22 abaixo:

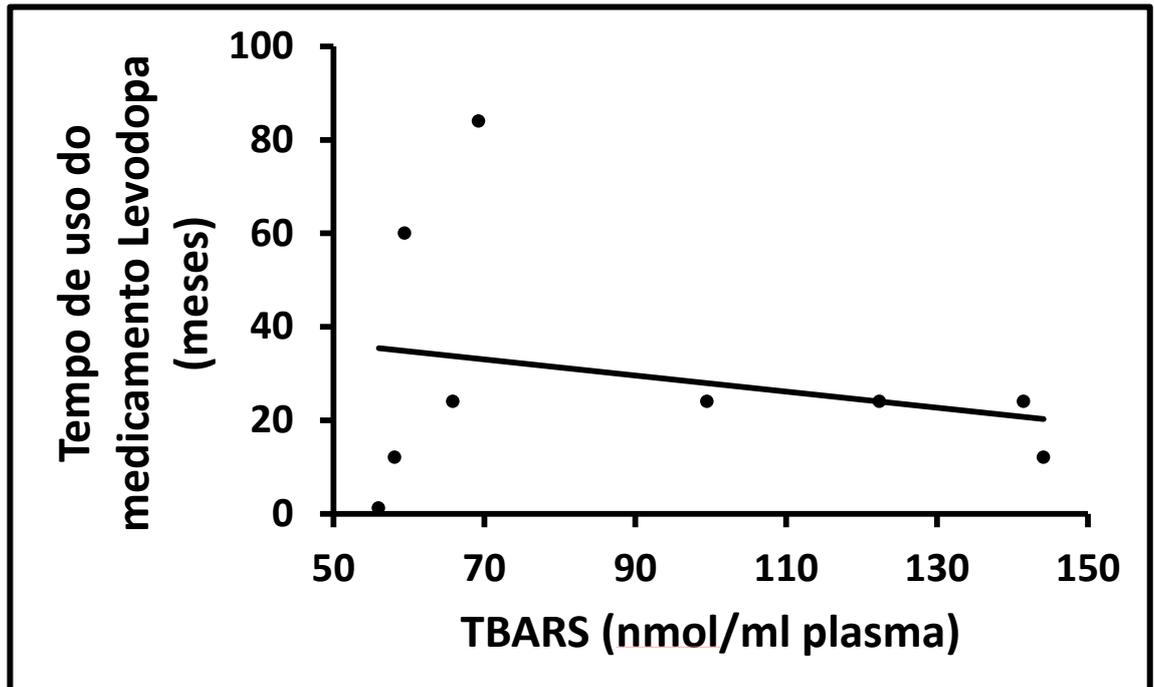


Figura 20 – Correlação entre o tempo de uso do medicamento Levodopa e os níveis de substâncias reagentes ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no plasma em pacientes com doença de Parkinson em estágio leve. Teste do coeficiente de correlação de Pearson. $p = 0.52$; $r = -0.2436$.

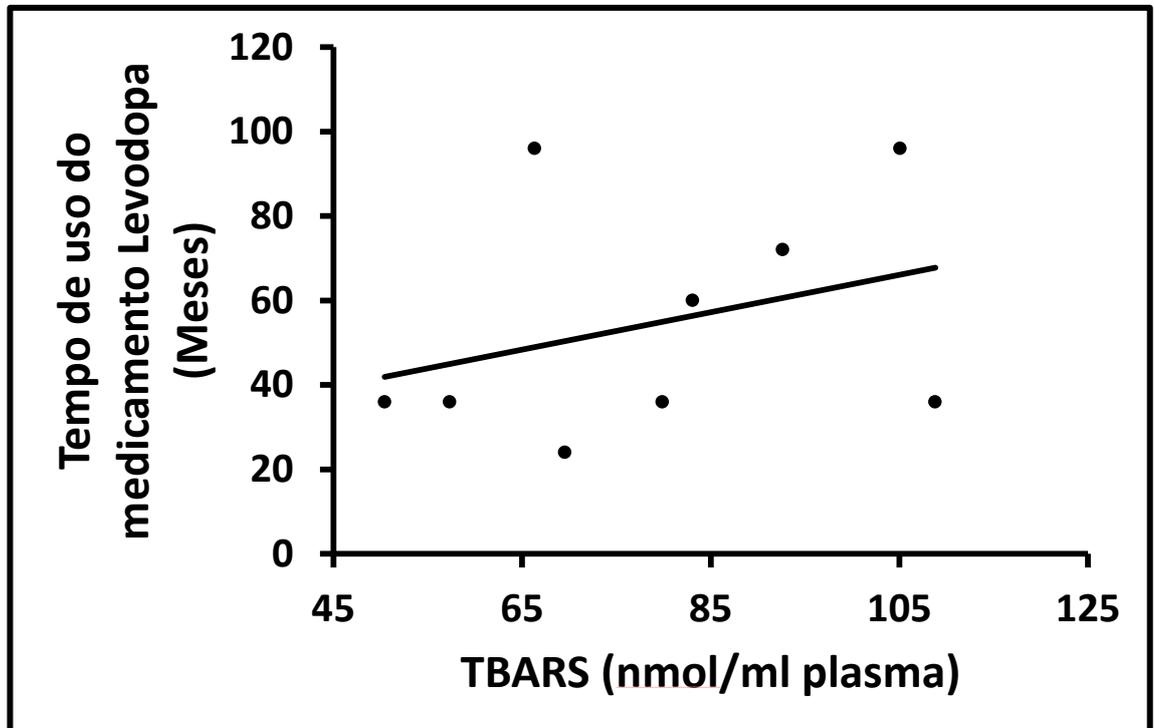


Figura 21 – Correlação entre o tempo de uso do medicamento Levodopa e os níveis de substâncias reagentes ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no plasma em pacientes com doença de Parkinson em estágio moderado. Teste do coeficiente de correlação de Pearson. $p = 0.38$; $r = 0.3274$.

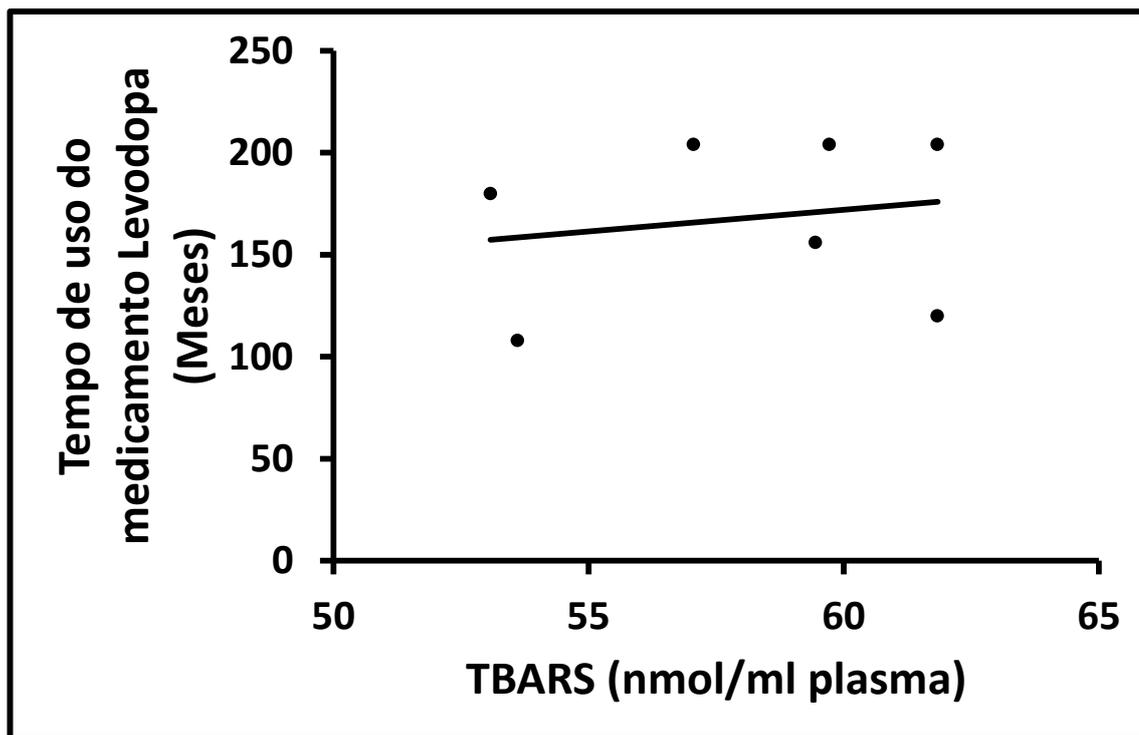


Figura 22 – Correlação entre o tempo de uso do medicamento Levodopa e os níveis de substâncias reagentes ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no plasma em pacientes com doença de Parkinson em estágio grave. Teste do coeficiente de correlação de Pearson. $p = 0.68$; $r = 0.1895$.

Porém, quando se considerou todos os estágios do Parkinson houve correlação significativa entre o tempo de uso do medicamento levodopa e os valores do TBARS ($p= 0,0012$), quanto maior o tempo de uso do medicamento menor os níveis de TBARS no plasma, como mostra figura 23:

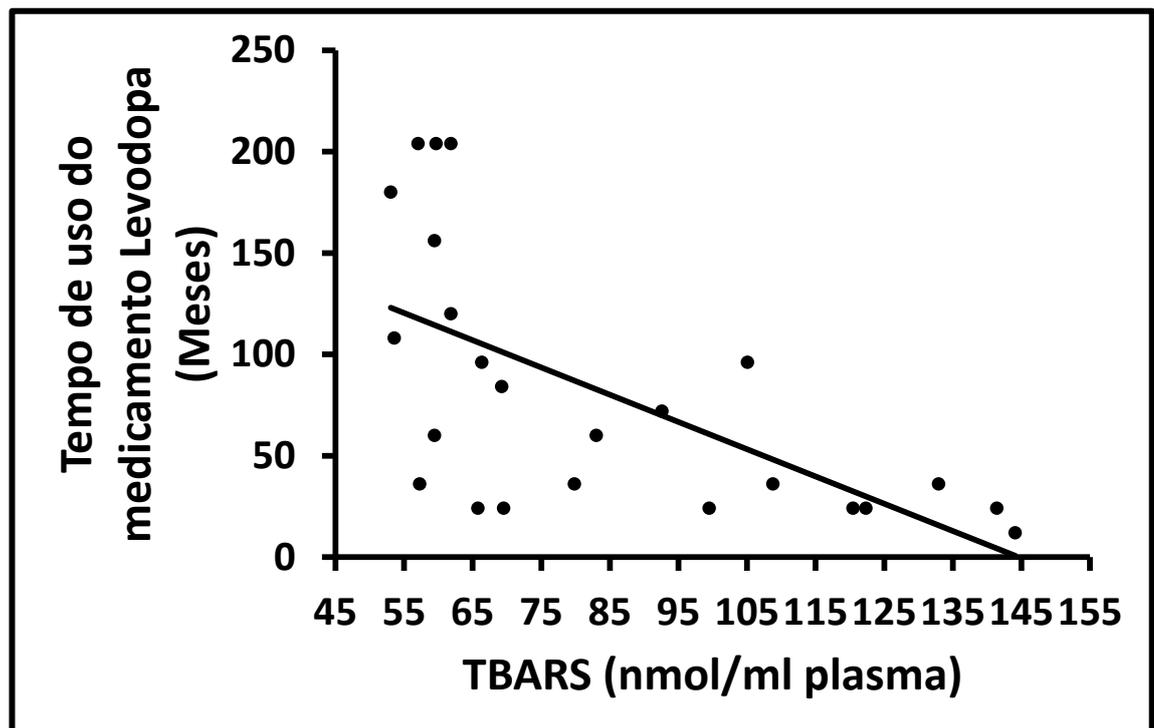


Figura 23 – Correlação entre o tempo de uso do medicamento Levodopa e os níveis de substâncias reagentes ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no plasma em pacientes com doença de Parkinson (todos os estágios). Teste do coeficiente de correlação de Pearson. $p = 0.0012$; $r = - 0,6213$

5.6 Correlação entre TEAC e TBARS com as escalas H & Y e UPDRS:

Quando comparou-se a capacidade antioxidante no plasma e a pontuação na escala de Hoehn & Yahr(H & Y), que avalia o estágio da DP,observou-se que houve correlação entre os níveis de TEAC e a pontuação na escala H & Y. Quanto mais evoluído era o estágio em que o paciente se encontrava maior o valor do TEAC ($p < 0,0001$),como mostra figura 24:

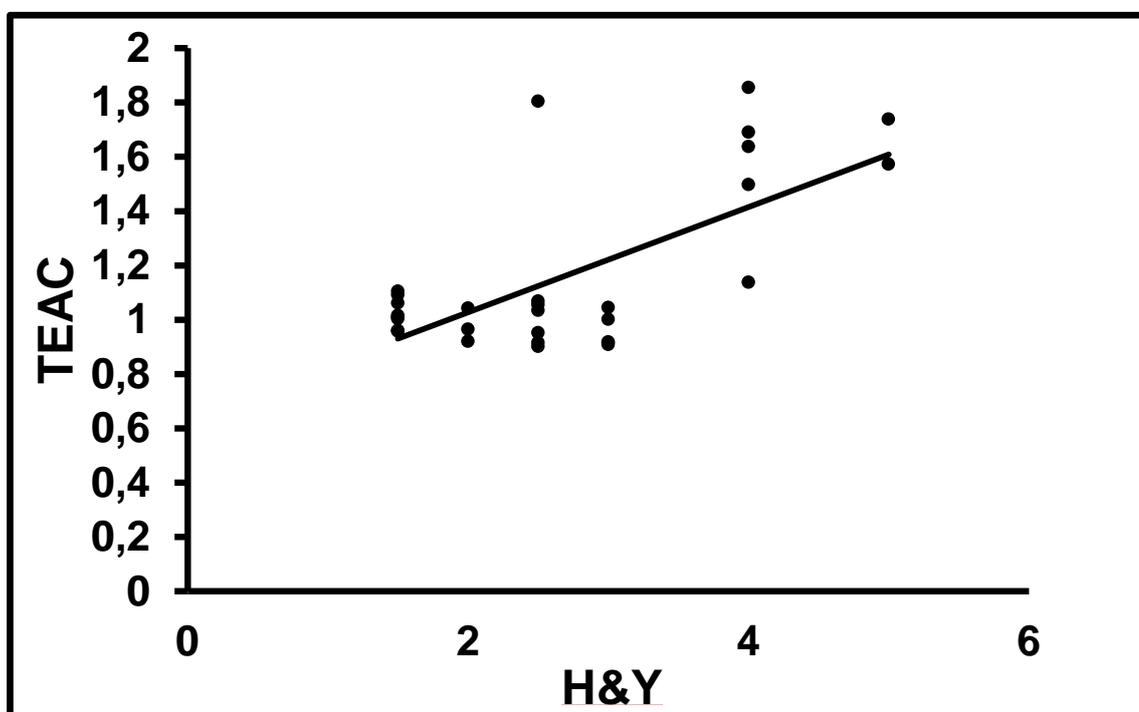


Figura 24 – Correlação entre os níveis de TEAC no plasma e o resultado do Hoehn e Yahr em pacientes com doença de Parkinson. Teste do coeficiente de correlação de Pearson. $p < 0.0001$; $r = 0.6723$.

Quando comparou-se a peroxidação lipídica no plasma pelo método TBARS e a pontuação na escala H & Y nos pacientes com doença de Parkinson, observou-se que maior a pontuação na escala H & Y menor o valor do TBARS, conforme demonstrado na figura 25:

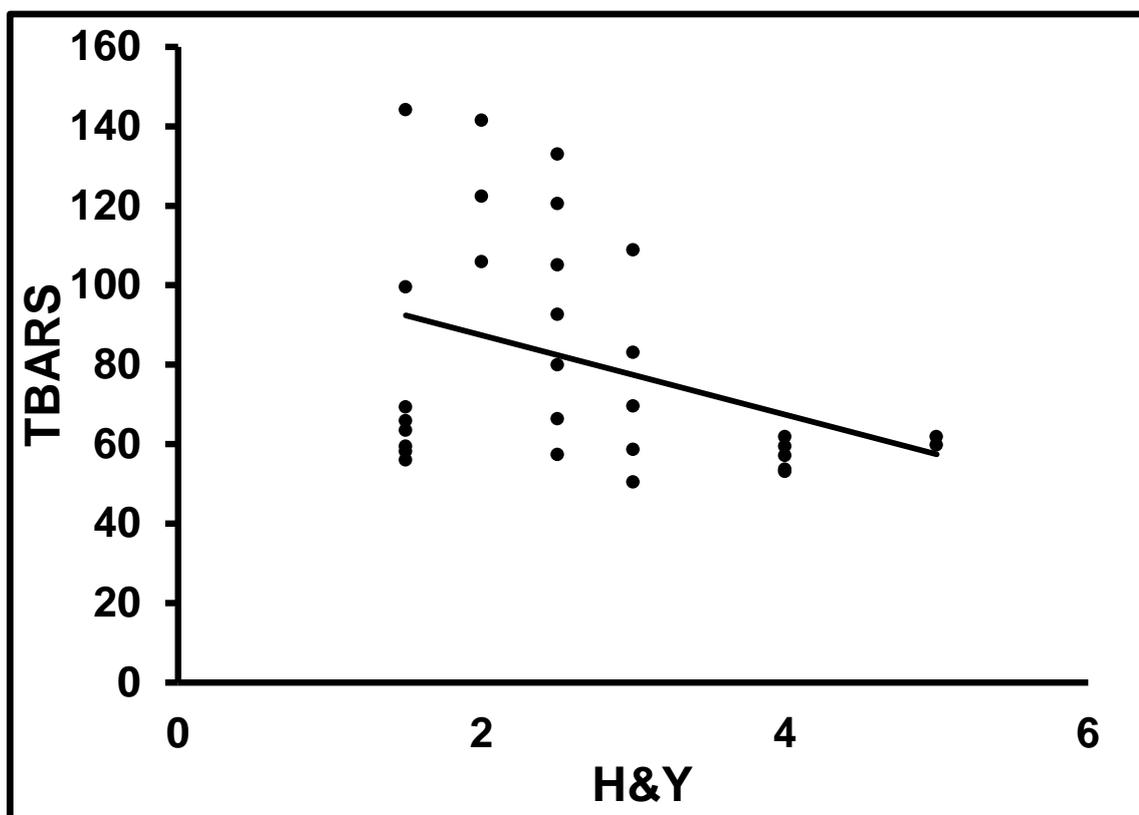


Figura 25 – Correlação entre os níveis de TBARS no plasma e o resultado do Hoehn e Yahr em pacientes com doença de Parkinson. Teste do coeficiente de correlação de Pearson. $p = 0.0469$; $r = -0.3656$.

Houve correlação entre a capacidade antioxidante total no plasma e a pontuação na escala UPDRS ítem 1 referente ao estado mental e humor nos pacientes com DP, quanto maior o comprometimento mental e do humor dos pacientes maiores os níveis de TEAC ($p= 0,0214$), como demonstrado na figura 26:

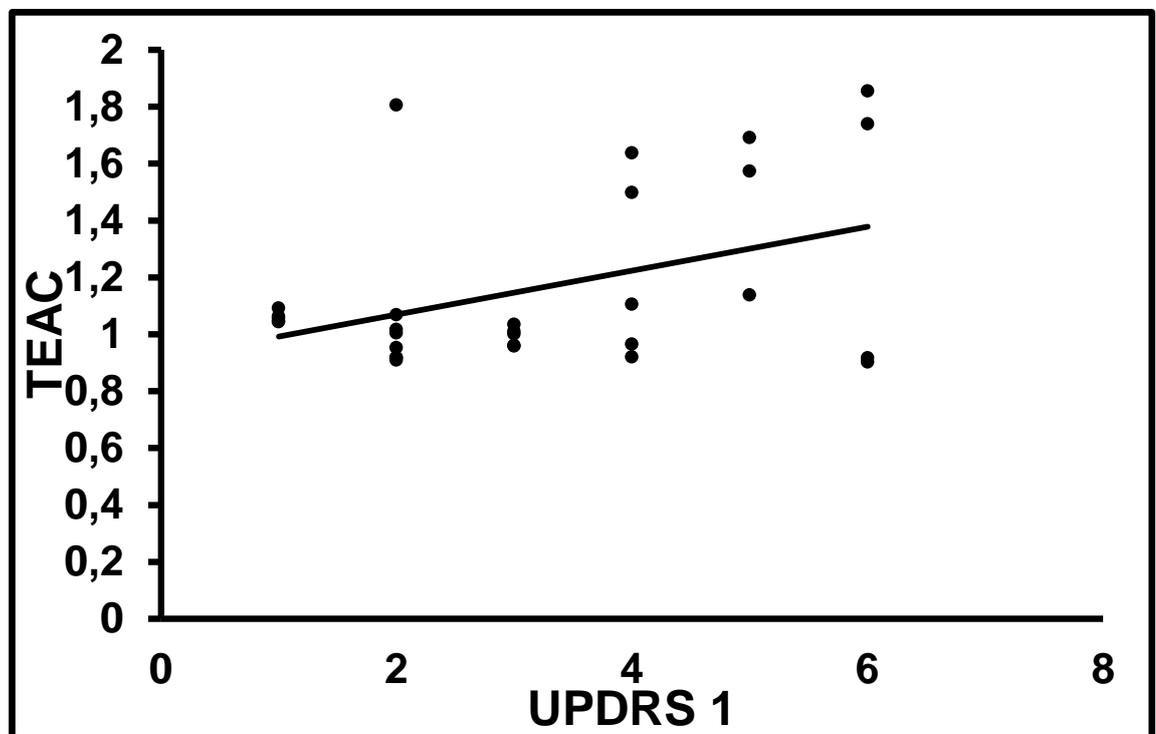


Figura 26 – Correlação entre os níveis de TEAC no plasma e o resultado do UPDRS 1 em pacientes com doença de Parkinson. Teste do coeficiente de correlação de Pearson. $p = 0.0214$; $r = 0.4181$.

Quando comparou-se a peroxidação lipídica no plasma e o item 1 da escala UPDRS, observou-se que não houve correlação entre níveis de TBARS e a pontuação na escala UPDRS item 1 ($p = 0,1959$), conforme figura 27:

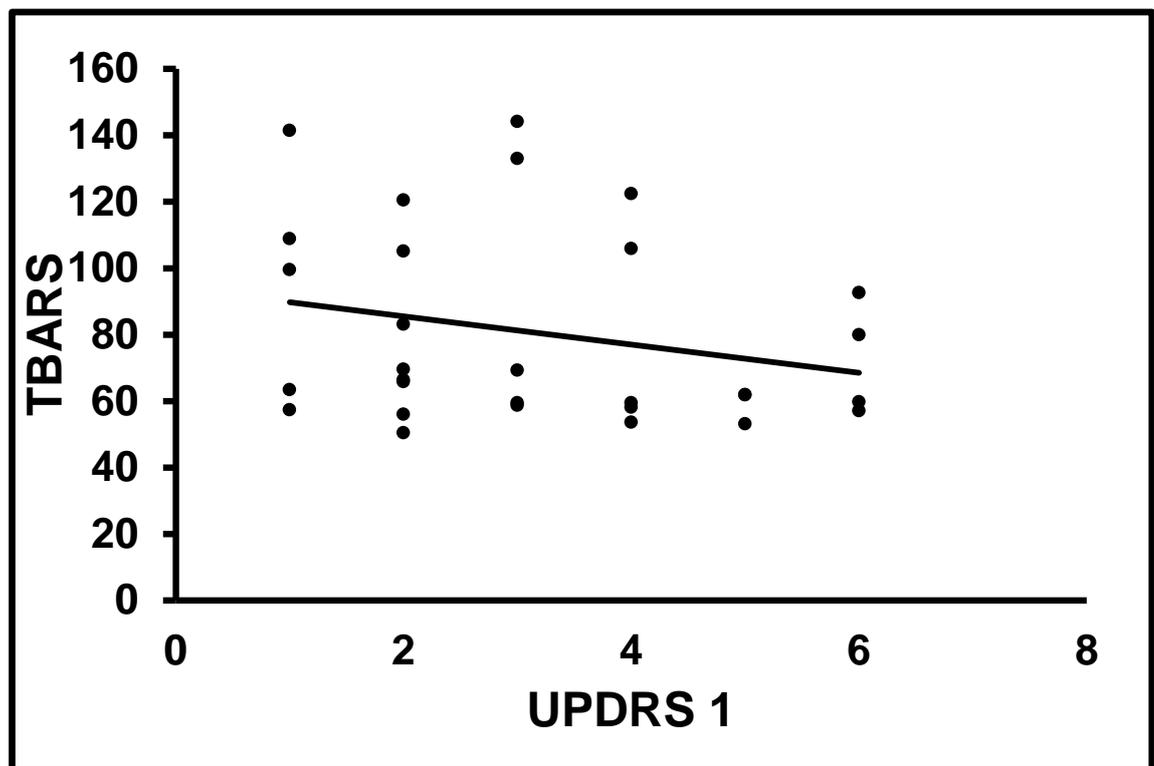


Figura 27 – Correlação entre os níveis de TBARS no plasma e o resultado do UPDRS 1 em pacientes com doença de Parkinson. Teste do coeficiente de correlação de Pearson. $p = 0.1959$; $r = -0.2429$.

Quando comparou-se a capacidade antioxidante total no plasma e a pontuação no ítem 2 da escala UPDRS que concerne às atividades da vida diária houve correlação entre níveis de TEAC e pontuação na escala UPDRS 2 nos pacientes com doença de Parkinson ($p < 0,0001$), quanto maior o comprometimento nas atividades da vida diária do paciente maiores os níveis de TEAC, conforme figura 28:

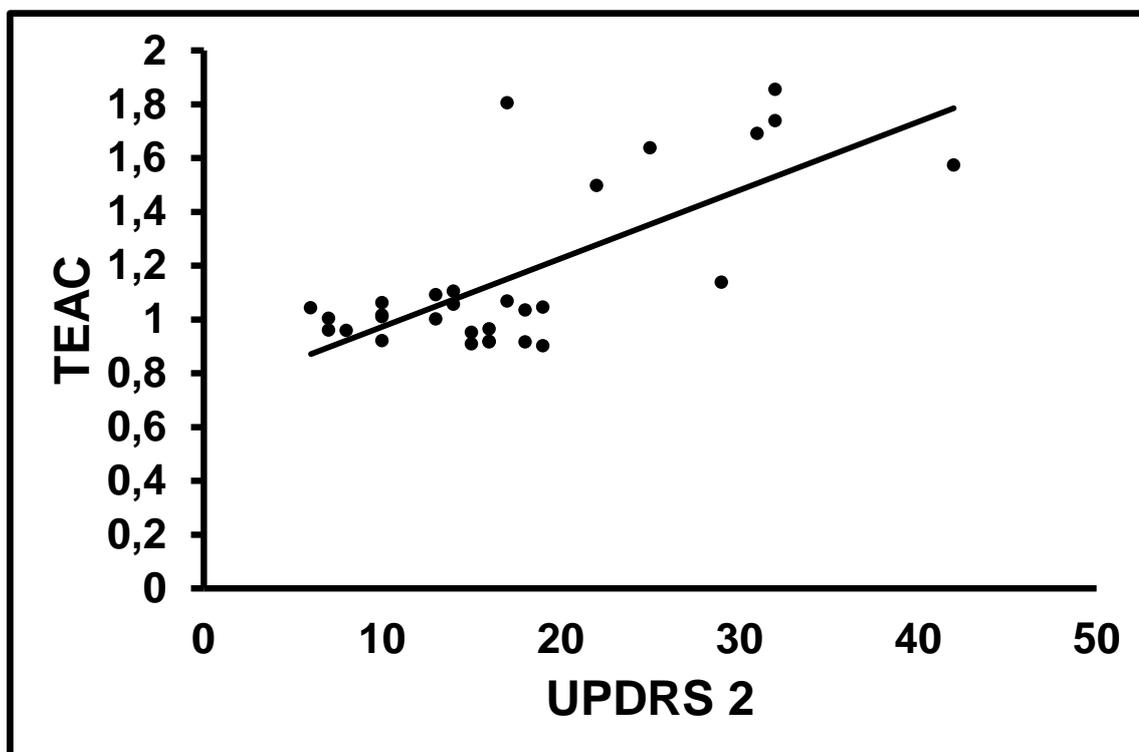


Figura 28 – Correlação entre os níveis de TEAC no plasma e o resultado do UPDRS 2 em pacientes com doença de Parkinson. Teste do coeficiente de correlação de Pearson. $p < 0,0001$; $r = 0,7159$.

Quando comparou-se a peroxidação lipídica e a pontuação no ítem 2 das escala UPDRS referente às atividades da vida diária houve correlação entre os níveis de TBARS e a pontuação na escala UPDRS 2, quanto maior comprometimento nas atividades da vida diária, menor o nível de TBARS no plasma($p= 0,0423$), conforme figura 29:

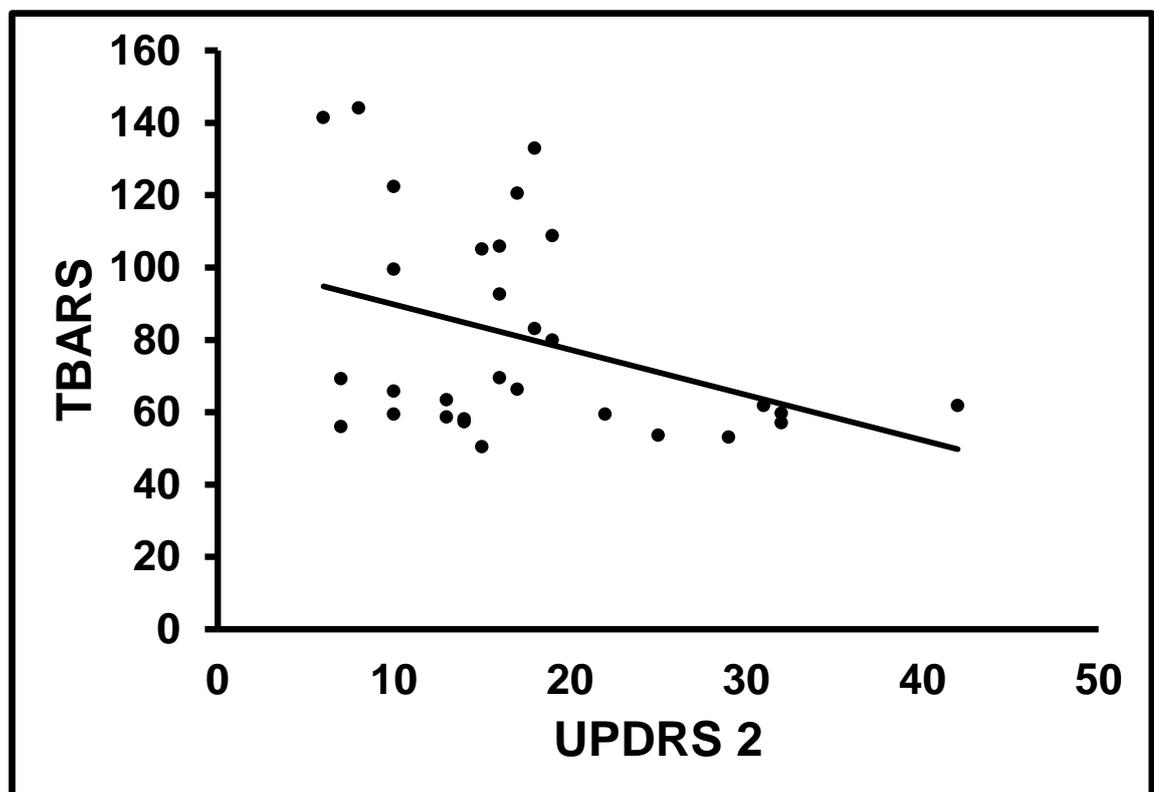


Figura 29 – Correlação entre os níveis de TBARS no plasma e o resultado do UPDRS 2 em pacientes com doença de Parkinson. Teste do coeficiente de correlação de Pearson. $p = 0.0423$; $r = -0.3730$.

Quando comparou-se a capacidade antioxidante total e o ítem 3 da escala UPDRS referente ao comprometimento motor houve correlação entre os níveis de TEAC e a pontuação da escala UPDRS ítem 3, ($p < 0.0001$), quanto maior o comprometimento motor maiores os níveis de TEAC, conforme figura 30:

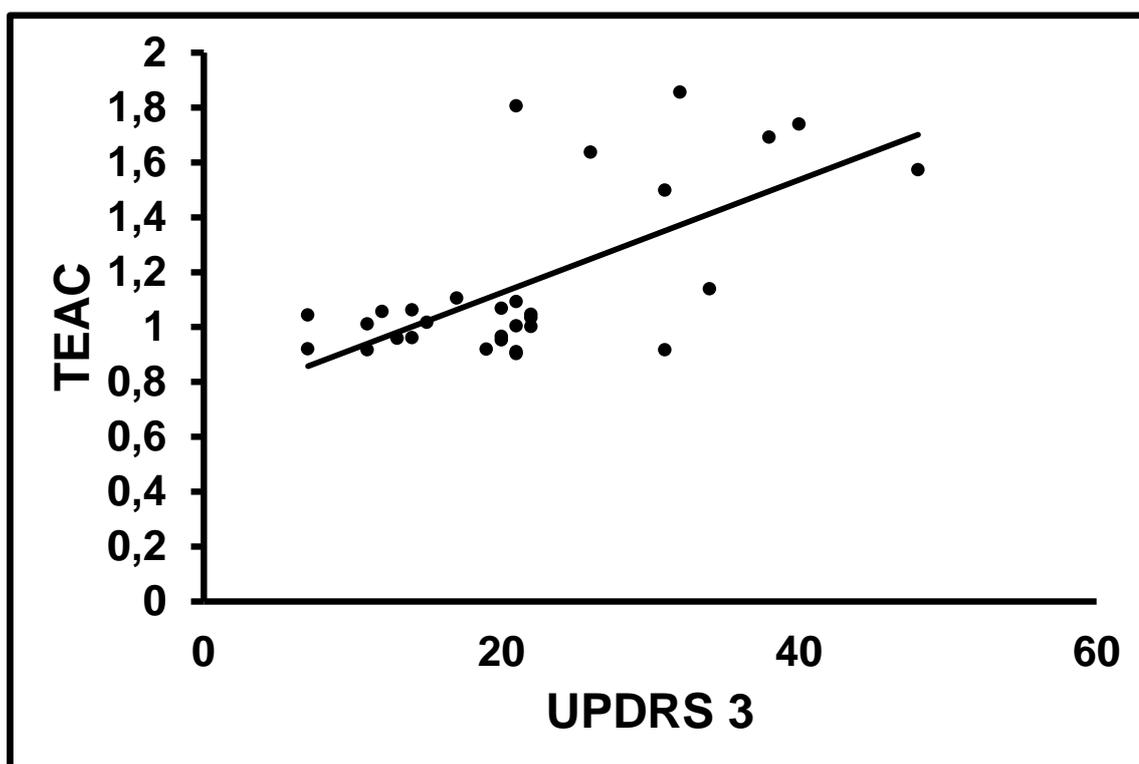


Figura 30 – Correlação entre os níveis de TEAC no plasma e o resultado do UPDRS 3 em pacientes com doença de Parkinson. Teste do coeficiente de correlação de Pearson. $p < 0.0001$; $r = 0.6562$.

Quando comparou-se a peroxidação lipídica com a pontuação no ítem 3 das escala UPDRS referente ao comprometimento motor houve correlação entre níveis de TBARS no plasma e a pontuação na escala UPDRS 3 ($p=0,0131$), quanto maior o comprometimento motor menores os níveis de TBARS, conforme figura 31:

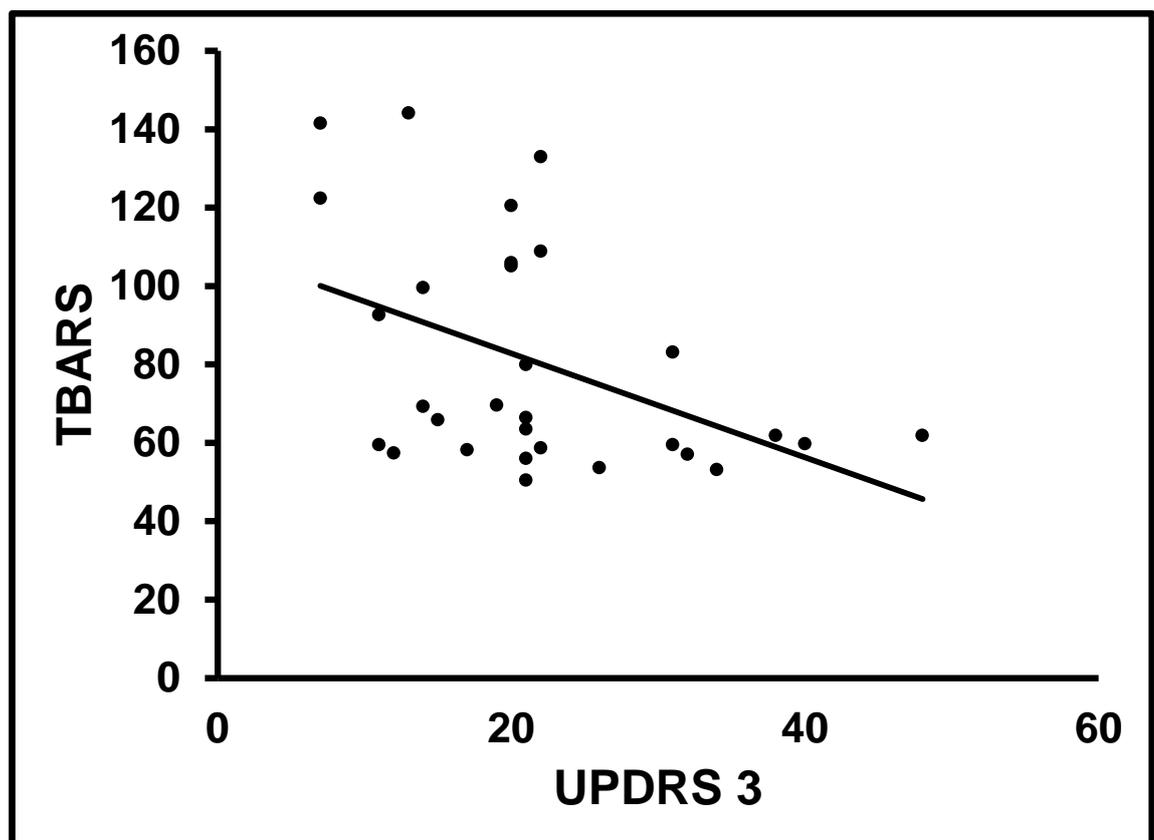


Figura 31 – Correlação entre os níveis de TBARS no plasma e o resultado do UPDRS 3 em pacientes com doença de Parkinson. Teste do coeficiente de correlação de Pearson. $p = 0.0131$; $r = -0.4476$.

Quando comparou-se a capacidade antioxidante total e a pontuação no ítem 4 da escala UPDRS referente às complicações da terapia dos pacientes com DP observou-se que houve correlação entre níveis de TEAC e a pontuação na escala UPDRS 4 ($p= 0,002$), quanto maiores as complicações relacionadas á terapia nos pacientes com DP maiores os níveis de TEAC, conforme figura 32:

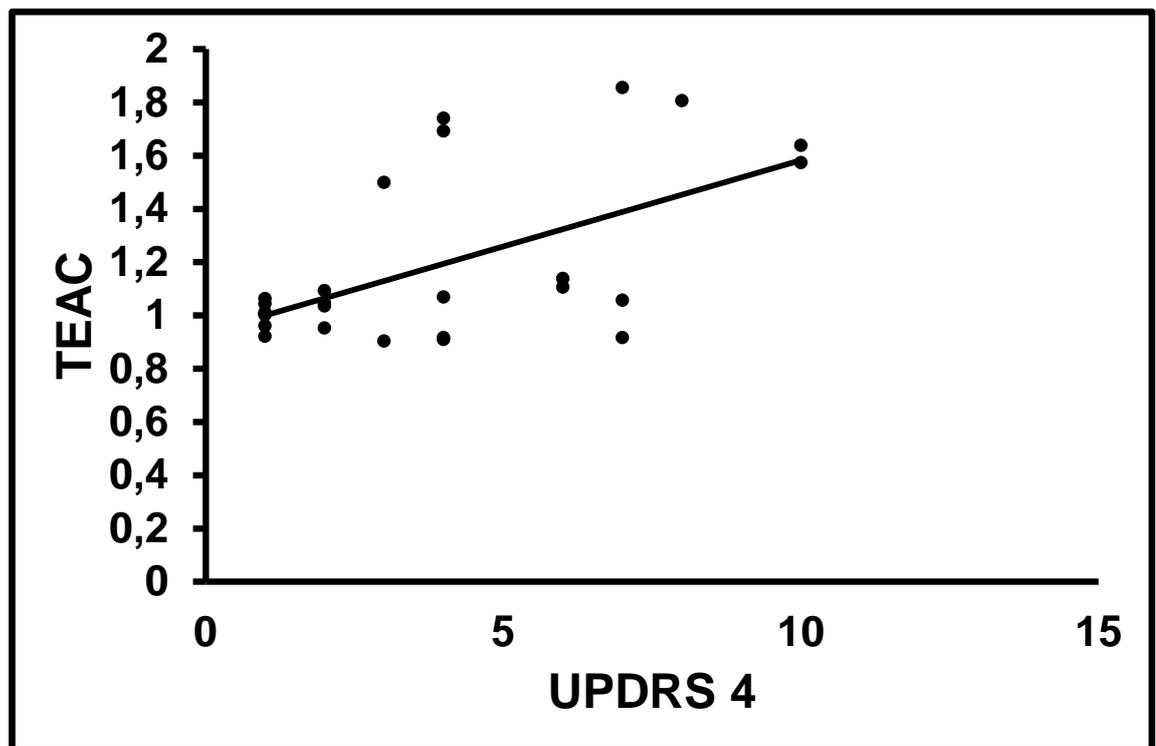


Figura 32 – Correlação entre os níveis de TEAC no plasma e o resultado do UPDRS 4 em pacientes com doença de Parkinson. Teste do coeficiente de correlação de Pearson. $p = 0.002$; $r = 0.5784$.

Quando comparou-se a peroxidação lipídica e o ítem 4 da escala UPDRS referente às complicações da terapia nos pacientes com DP, observou-se que houve correlação entre os níveis de TBARS e a pontuação na escala UPDRS ítem 4 ($p = 0,0350$), quanto maiores as complicações referentes à terapia nos pacientes com DP menores os níveis de TBARS, conforme figura 33:

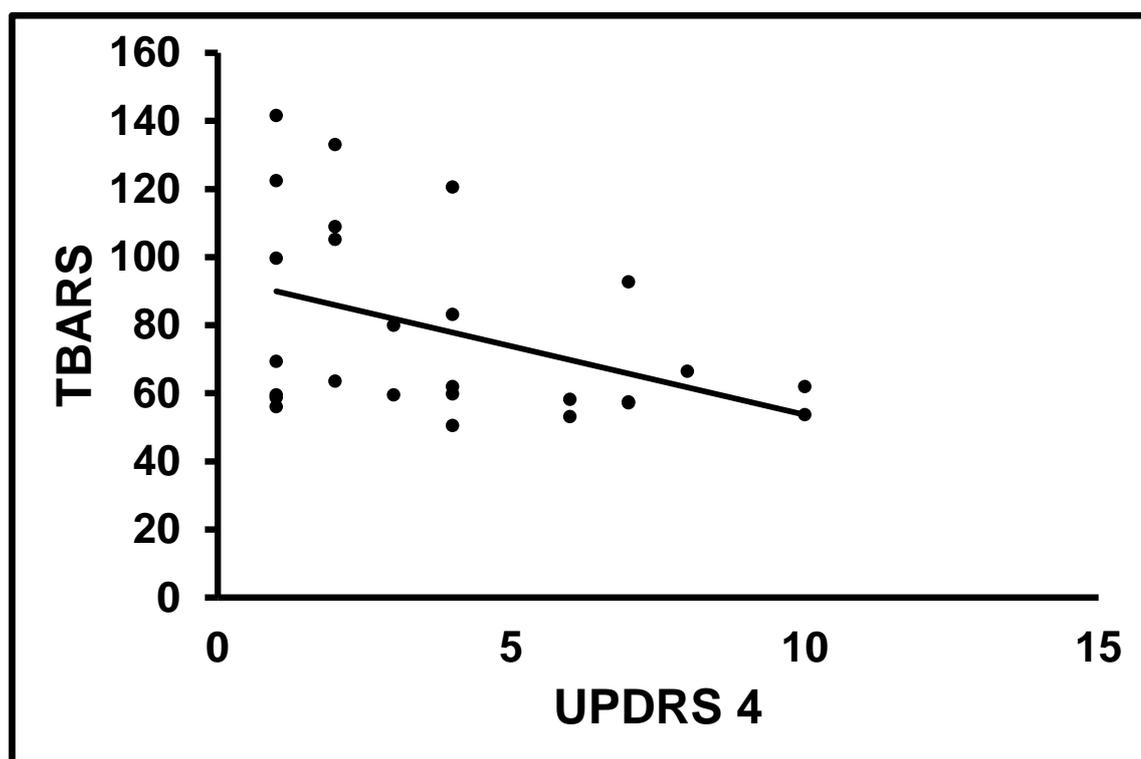


Figura 33 – Correlação entre os níveis de TBARS no plasma e o resultado do UPDRS 4 em pacientes com doença de Parkinson. Teste do coeficiente de correlação de Pearson. $p = 0.0350$; $r = -0.4148$.

6. DISCUSSÃO

O fator de risco mais prevalente para a doença de Parkinson é a idade, acometendo preferencialmente adultos e a maioria do sexo masculino segundo a revisão de Schapira e Jenner (2011) e Savica *et al.* (2012). Os dados epidemiológicos desta pesquisa foram condizentes com os da literatura acometendo pacientes acima dos 40 anos e a maioria foram do sexo masculino.

Nesta pesquisa observamos a presença de comorbidades nos pacientes portadores de DP e também nos indivíduos controles, pois algumas pesquisas mostram que existe uma expressiva associação entre estresse oxidativo e doenças como câncer, hipertensão arterial sistêmica, diabetes e doenças cardiovasculares (SAVICA *et al.*, 2012; VALKO *et al.*, 2007). Alguns de nossos pacientes apresentaram algumas comorbidades, no entanto ao compararmos os resultados destes com os demais pacientes sem comorbidades pudemos constatar que não houve interferências nos resultados.

Na avaliação clínica dos pacientes utilizou-se duas escalas: a escala Hoehn & Yahr (H & Y) e a escala UPDRS. A escala de Hoehn & Yahr (H & Y) é utilizada para estimar o estágio da DP de acordo com a distribuição dos sintomas no corpo e o nível de dependência, sendo uma ferramenta eficaz no acompanhamento da evolução da doença segundo Scalzo *et al.* (2012). Neste trabalho a escala H & Y mostrou-se útil no estadiamento da doença, observando-se que quanto maior o tempo de início dos sintomas mais grave o estágio dos pacientes, confirmando tratar-se de uma doença progressiva.

A escala UPDRS é amplamente utilizada em ensaios clínicos por permitir avaliar múltiplos aspectos da DP como comprometimento motor, estado mental, disfunções de humor, complicações motoras e não motoras relacionadas ao tratamento (GOETZ *et al.*, 2003; KLEINER-FISMAN *et al.*, 2010). Nesta pesquisa a mesma mostrou-se eficaz na quantificação dessas variáveis, sendo maior o comprometimento na fase grave da DP.

A patogênese da DP permanece obscura, mas acredita-se que a DP resulte de uma complexa interação entre fatores ambientais e genéticos (SHUKLA; MISHRA; PANT, 2011). Atualmente aceita-se que o mecanismo da morte dos neurônios dopaminérgicos da substância negra envolve o metabolismo

oxidativo (CARLESI *et al*, 2011; CRISTALLI *et al*, 2012). Exames de necrópsia da substância negra de pacientes com DP confirmam haver estresse oxidativo com dano ao DNA e proteínas em exames imunohistoquímicos (SCHAPIRA; JENNER, 2011). Segundo Farooqui e Farooqui (2011), embora doença neurológica degenerativa seja um processo multifatorial, está aumentando a evidência de que o maior fator subjacente nas desordens neurológicas seja a ocorrência do estresse oxidativo comprovados pelos achados de que as cadeias de proteínas são modificadas diretamente ou indiretamente pelas ERON.

No entanto, a investigação do metabolismo *in loco* só é possível nas autópsias de pacientes portadores de DP, e portanto, nada auxiliariam no diagnóstico e no tratamento dos pacientes. Desta maneira buscou-se investigar de que forma o metabolismo oxidativo poderia ser avaliado periféricamente e não somente no próprio SNC. A descoberta de outra forma de diagnosticar a DP é interessante, pois permitirá o diagnóstico precoce e com isso a introdução do tratamento em estágios iniciais da doença, retardando o avanço da DP.

Alguns pesquisadores avaliaram a presença de estresse oxidativo no liquor obtido por punção lombar (HENCHCLIFFE *et al*, 2011) e também existem pesquisas que estão utilizando o sangue dos pacientes (SANYAL *et al*, 2011; VASCONCELOS *et al*, 2007). Como a punção lombar é um exame invasivo e de difícil obtenção na prática clínica, o sangue tem sido considerado uma fonte plausível para pesquisa de biomarcadores em doenças do SNC. No ser humano cerca de 500 ml do líquido cefalorraquidiano (L.C.R.) é absorvido diariamente pelos capilares sanguíneos, e portanto, produtos do metabolismo oxidativo oriundos do SNC poderiam ser encontrados no sangue em vasos periféricos (CRISTALLI *et al*, 2012). Segundo Vasconcelos *et al*. (2007) o sangue é uma excelente fonte *in vivo* de marcadores de estresse oxidativo por transportar antioxidantes e endobióticos modificados por ação das ERON.

Henchcliffe *et al*. (2011) relataram que muitos marcadores de estresse oxidativo tem sido investigados em tecidos de necrópsia de pacientes com DP e fluidos corpóreos. Dentre os indicadores de oxidação foi encontrado elevação do nível de malondialdeído (MDA) no LCR e no plasma de pacientes com DP e diminuição de antioxidantes no plasma como o ácido úrico. Kincses e Vecsei (2011) e Schapira e Jenner (2011) também confirmaram a presença de

estresse oxidativo na DP em marcadores de dano oxidativo na periferia pela deficiência do sistema de enzimas antioxidantes com diminuição do nível de glutathiona reduzida e pelo dano encontrado nos lipídeos.

Cristalli et al (2012) relatam que o estresse oxidativo, pelo aumento das ERON, é um marcador precoce de doença neurológica como DP e Doença de Alzheimer.

No presente trabalho verificou-se o metabolismo oxidativo através da mensuração de produtos da peroxidação lipídica, como o TBARS e através da mensuração da capacidade antioxidante total, no plasma. Vasconcelos *et al.* (2007) defendem a pesquisa da capacidade antioxidante total (CAOT) ao invés da análise de antioxidantes isolados devido á interação dos últimos no plasma ou soro, e devido á CAOT representar a ação cumulativa de todos os antioxidantes presentes.

Os resultados apresentaram maior atividade antioxidante nos pacientes com DP grave em relação ao grupo controle e também em relação ao pacientes com DP em estágio leve e moderado. No parâmetro oxidante os resultados foram inversos aos da capacidade antioxidante, ou seja, o parâmetro oxidante foi maior nos pacientes com DP leve e moderado em relação ao DP grave. Acreditamos que o aumento da peroxidação lipídica esteja maior nas fases leve e moderada da DP, em função da maior perda neuronal nestas fases. Na fase grave da doença, a peroxidação lipídica não é maior, provavelmente em função da maioria dos neurônios já terem degenerado nas fases anteriores de desenvolvimento da DP, sendo pequeno o número de células restantes, susceptíveis ao estresse oxidativo na fase grave. Nas fases leve e moderada da DP também foi encontrado baixa capacidade antioxidante. Acreditamos que durante a fase inicial possa ter havido aumento da atividade oxidativa e esta serviu de estímulo ao incremento da atividade antioxidante que pode ser observada adiante na fase mais avançada da DP.

Teive (2010) relatou que a perda neuronal na DP é exponencial, sendo mais intensa nas fases iniciais atenuando-se com a progressão da doença e que os sintomas motores aparecem quando há redução de 80% da dopamina estriatal com pelo menos 60% de perda neuronal nigral. Os dados desta pesquisa confirmam esses achados, pois como a perda neuronal na DP é precoce, é

provável que nas fases leve e moderada haja mais atividade da doença refletindo nos marcadores periféricos do estresse oxidativo.

No presente trabalho foi encontrada correlação positiva entre a capacidade antioxidante total e a escala H & Y, sendo maior o valor do TEAC quanto maior a pontuação na escala H & Y, assim como correlação positiva entre a capacidade antioxidante e os 4 itens da escala UPDRS. Foi encontrado maior o valor do TEAC quanto maior o comprometimento do estado mental e emocional, atividades da vida diária, comprometimento motor e complicações da terapia respectivamente, que ocorreram nos pacientes mais graves. Em relação ao TBARS foi ao contrário, quanto pior a pontuação nas duas escalas com conseqüente maior e mais grave comprometimento do paciente, menores os valores do TBARS.

Sanyal *et al* (2011) encontraram correlação negativa entre enzimas antioxidantes e as escalas H & Y e UPDRS. Foram pesquisadas a superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase no eritrócito de pacientes com DP, tendo maior valor nos pacientes com DP leve e moderado e menores valores no DP grave. Não foi realizada avaliação de parâmetros oxidantes.

Diferentemente dos resultados encontrados por Sanyal *et al* (2011), nossos dados inferem haver menos antioxidantes e mais oxidantes na DP leve e moderada. Provavelmente porque no mesmo faltou avaliar o parâmetro oxidante não podendo, por isso, aferir a presença ou não de estresse oxidativo em sua amostra. Nossos dados permite-nos inferir indiretamente que houve estresse oxidativo nas fases leve e moderada da DP.

Dessa forma nossos resultados nos permite concordar com os achados na literatura que afirmam haver alterações oxidativas em pacientes com DP e que estas alterações são perceptíveis no plasma dos pacientes. Além disso a presente pesquisa demonstrou haver diferença entre os estágios da doença e principalmente que as alterações no metabolismo oxidativo em pacientes portadores de DP podem ser percebidas mesmo nos estágios precoces da doença, onde o diagnóstico clínico é mais difícil; corroborando na pesquisa de marcadores periféricos de estresse oxidativo na DP assim como Henchcliffe *et al* (2011) o fizeram. Tal informação é importante quando se trata de diagnosticar precocemente a doença para iniciar a terapia medicamentosa e com isso retardar o avanço da doença.

Alguns pesquisadores que investigam a presença de alterações oxidativas no sangue de pacientes com DP, avaliaram o soro e os eritrócitos destes pacientes (CRISTALLI *et al*, 2012; SCHAPIRA; JENNER, 2011). Nosso estudo realizou as análises no plasma e também verificou a presença de alterações oxidativas. Estudos ulteriores são necessários para avaliar qual a melhor forma de fazer essa análise, qual parte do sangue a ser analisado e verificar qual o melhor biomarcador de estresse oxidativo na DP.

7. CONCLUSÃO

A partir dos resultados encontrados podemos concluir que:

-O plasma de pacientes portadores de DP apresentou alteração tanto no parâmetro oxidante quanto no parâmetro antioxidante investigado, e podemos utilizá-lo como fonte de investigação de alterações oxidativas que ocorrem no SNC de pacientes portadores de DP.

-Os parâmetros oxidativos avaliados no plasma de pacientes portadores de DP foram distintos nos diferentes estágios da doença.

- Houve evidência indireta de estresse oxidativo nas fases leve e moderada da DP com aumento de parâmetros oxidantes e diminuição de parâmetros antioxidantes no sangue de pacientes parkinsonianos.

-Uma vez que as alterações oxidativas puderam ser observadas nos estágios iniciais da doença, existem indícios de que as alterações oxidativas possam ser utilizadas como exames complementares, auxiliando o diagnóstico precoce da DP

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. 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**, Jefferson, v.8, p. 4702-4713, dec. 2011.
2. BARBOSA, E. R.; TEIVE, H. A. G. Doença de Parkinson: aspectos históricos. In: CARDOSO, F. *et al.* **Doença de Parkinson: estratégias atuais de tratamento**. 1 ed. São Paulo: Omnifarma, 2010.
3. BARBOSA, L. F.; MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, O. Danos oxidativos e neurodegeneração: o que aprendemos com animais transgênicos e nocautes?. **Quim. Nova**, São Paulo, v.29, n.6, p.1352-1360, ago. 2006.
4. CAMPBELL, W. W. **DeJong, o exame neurológico**. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. cap.26.
5. CARLESÌ, C.; CALDARAZZO, I.; PIAZZA, S.; LO GERFO, A.; ALESSI, R.; PASQUALI, L.; SICILIANO, G. Oxidative stress modulation in neurodegenerative diseases. **Mediterr J Nutr Metab**, Roma, v.4, p.219-225, feb. 2011.
6. CRISTALLI, D.O.; ARNAL, N.; MARRA, F.A.; ALANIZ, M.J.T.; MARRA, C.A. Peripheral markers in neurodegenerative patients and their first-degree relatives. **Journal of the Neurological Sciences**, La Plata, v.314, p.48-56, 2012.
7. FHAN, S.; ELTON R. Unified Parkinson's Disease Rating Scale In: FHAN, S; MARSDEN, C.D.; CAINE, D.B.; GOLDSTEIN, M.(Eds). **Recent developments in Parkinson's disease**. New York: Macmillan, 1987.
8. FAROOQUI, T; FAROOQUI, A. A. Lipid-mediated oxidative stress and inflammation in the pathogenesis of parkinson's disease. **Sage-Hindawi Access to Research Parkinson's Disease**, Columbus, v. 2011, p.1-9, jan. 2011.
9. FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Res. Ass. Med. Brasil**, Botucatu, v. 43, n. 1, p.61-68, 1997.
10. GOETZ, C.G.; POEWE, W.; RASCOL, O.; SAMPAIO, C.; STEBBINS, G.T. The Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS): status and recommendations. **Movement Disorders**, Chicago, v.18, n.7, p.738-750, jan. 2003.

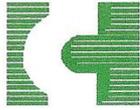
11. HALLIWELL, B.; CHIRICO, S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. **Am J Clin Nutr**, [s.l], v.57, p.715S-25S, 1993.
12. HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. Free radical in biology and medicine. **Oxford University Press:Oxford**, Oxford, 4 ed., 2007.
13. HENCHCLIFFE, C.; DODEL, R.; BEAL, M.F. Biomarkers of Parkinson's disease and Demencia with Lewy bodies. **Progress in neurobiology**, New York, v.95, p.601-613, sept. 2011.
14. HOEHN, M.M.; YAHR, M.D. Parkinsonism: onset, progression and mortality. **Neurol.**, [s.l], v.17, p.427-442, 1967.
15. KINCSES, Z. T.; VECSEI, L. Pharmacological therapy in parkinson's disease: focus on neuroprotection. **CNS Neuroscience & Therapeutics**, Szedgeg, v.17, p.345-367, 2011.
16. KLEINER-FISMAN, G.; STERN, M.B.; FISMAN, D.N. Health-related quality of life in Parkinson disease: correlation between health utilities index III and unified parkinson's disease rating scale (UPDRS) in U.S. male veterans. **Health an Quality of Life Outcomes**, [s.l], v.8, n.91, p 1-9, 2010.
17. KOHN, H.I.; LIVERSEDGE, M. On a new aerobic metabolite whose production by brain is inhibited by apomorphine, emetine, ergotamine, epinephrine, and menadione. **J Pharmacol Experimen Ther**, [s.l], v. 82, p.292-300, 1944.
18. LIMA, E.S.; ABDALLA, D.S.P. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 37, n. 3, p.293-303, set/dez 2001.
19. MARTIN, I.; DAWSON, V.L.; DAWSON, T.M. Recents advances in the genetics of parkinson's disease. **Annu.Rev.Genom.Human Genet.**, Baltimore, v.12, p.301-325, june 2011.
20. MILLER, N.; RICE-EVANS, C.; DAVIES, M.; GOPINATHAN, V.; MILNER, A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. **Clin Sci**, [s.l], v. 84, p. 407-412, 1993.

21. OSHIRO, S.; MORIOKA, M. S.; KIKUCHI, M. Dysregulation of iron metabolism in Alzheimer's disease, Parkinson's disease, and amyotrophic lateral sclerosis. **Hindawi Publishing Corporation Advances in Pharmacological Sciences**, Saitama, v.2011, p.1-8, July 2011.
22. PERCARIO, S. Dosagem das LDLs modificadas através da peroxidação lipídica: correlação com o risco aterogênico. **AMHFFCMSCSP**, São Paulo, v.13, p.07-09, 1993.
23. PERCARIO, S. Dosagem do dialdeído malônico. **NewsLab**, [s.l.], v.6, p.46-50, 2004.
24. RE, R.; PELLEGRINI, R.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Rad Biol Med**, [s.l.], v. 26, p. 1231-1237, 1999.
25. SANYAL, J.; SARKAR, B.; BANERJEE, T.K.; MUKHERJEE, S.C.; RAY, B.C.; RAO, V.R. Peripheral markers for oxidative stress in Parkinson's disease patients of eastern India. **Neurochemical Journal**, Kolkata, v.5, n.2, p.146-149, 2011.
26. SAVICA, R.; GROSSARDT, B.R.; BOWER, J.H.; AHLSSKOG, J.E.; ROCCA, W.A. Risk factors for Parkinson's disease may differ in men and women: a exploratory study. **Horm. Behav.**, Rochester, p.1-7, 2012.
27. SCALZO, P.L.; FLORES, C.R.; MARQUES, J.R.; ROBINI, S.C.O.; TEIXEIRA A.L. Impact of changes in balance and walking capacity on the quality of life in patients with Parkinson's disease. **Arq. Neuropsiquiat.** Belo Horizonte, v.70, n.2, p.119-124, 2012.
28. SCHAPIRA, A.H.; JENNER, P. Etiology and pathogenesis of Parkinson's disease. **Movement Disorders**, London, v.26, n.6, p.1049-1055, mar. 2011.
29. SHUKLA, V.; MISHRA, S.; PANT, H.C. Oxidative stress in neurodegeneration. **Hindawi Publishing Corporation Advances in Pharmacological Sciences**, Bethesda, v.2011, p.1-13, June 2011.
30. TEIVE, H.A.G. Neuroproteção: fatos, mitos e quimeras. In: CARDOSO, F. *et al.* **Doença de Parkinson: estratégias atuais de tratamento**. 1 ed. São Paulo: Omnifarma, 2010.
31. VALKO, M.; LEIBFRIE, D.; MONCOL, J.; CRONIN, M.T.D.; MAZUR, M.; TELSER, J. Free radical and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, Bratislava, v. 39, p.44-84, 2007.

32. VASCONCELOS, S.M.L.; GOULART, M.O.F.; MOURA, J.B.F.; MANFREDINI, V.; BENFATO, M.S.; KUBOTA, L.T. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio , anti-oxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Quim. Nova**, Campinas, v. 30, n. 5, p.1323-1338, jul. 2007

APÊNDICES

APÊNDICE A – PARECER APROVADO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS DO HOSPITAL DE CLÍNICAS GASPAR VIANA.



Belém, 26 de março de 2009.

**PARECER DE ÉTICA DE PROJETO DE PESQUISA ENVOLVENDO SERES
HUMANOS**

1. Protocolo: Nº 018/2009 - CEP/FHCGV
2. Projeto de Pesquisa: "CORRELAÇÃO ENTRE PARÂMETROS CLÍNICOS, FUNCIONAIS E OXIDATIVOS EM PACIENTES IDOSOS PORTADORES DE DOENÇA DE ALZHEIMER E DOENÇAS DE PARKINSON ATENDIDOS NO CENTRO DE GERIATRIA E GERONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE DO ESTADO"
3. Pesquisador Responsável: Jofre Jacob da Silva Freitas
4. Instituição/Unidade: UEAFTO – Universidade do Estado do Pará -
5. Data de Entrada: 03/03/2009
6. Data do Parecer: 26/03/2009

PARECER: O Comitê de Ética em Pesquisa da FHCGV analisou o Projeto supra-citado e, conforme Parecer datado de 26/03/2009 emitido por este CEP, verificou que foram atendidas todas as adequações recomendadas de acordo com as normas da Resolução 196/96-CNS/MS. Portanto manifesta-se pela sua aprovação.

Parecer: **APROVADO**

Helder José Lima Reis
Coordenador em exercício do CEP/FHCGV

GEP/FHCGV

Tv. Alferes Costas s/n – Pedreira – Belém (PA) – CEP: 66087-660
Fone/Fax: (091)3276-1770
E-mail: gepfhcgv@yahoo.com.br

APÊNDICE B- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.

PROJETO: Correlação entre Parâmetros Clínicos, Funcionais e Oxidativos em Pacientes Idosos Portadores de Doença de Alzheimer e Doença de Parkinson Atendidos no Centro de Geriatria e Gerontologia da Universidade do Estado do Pará.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O projeto de pesquisa consiste em correlacionar dados epidemiológicos, clínicos e funcionais, com análises laboratoriais de metabolismo oxidativo em pacientes idosos, portadores das doenças de Alzheimer (DA) e Parkinson (DP), atendidos no Centro de Geriatria e Gerontologia da Universidade do Estado do Pará. Farão parte do estudo 30 idosos previamente diagnosticados como portadores da DA, 30 idosos com DP e 30 idosos sem doença neurológica. Os pacientes realizarão avaliações neurológicas, cognitivas, funcionais e laboratoriais com profissionais de saúde qualificados. A avaliação neurológica será realizada pela anamnese do paciente e complementada por exames laboratoriais, como os exames de proteína-C-reativa, VDRL, exames de função hepática, renal e tireoidiana, a fim de investigar causas sistêmicas de demência.

Em situações em que seja necessário exame de neuroimagem, os pesquisadores encaminharão os participantes da pesquisa para realizarem no respectivo lugar a ser informado. Além disso, serão avaliados os aspectos emocionais através da Escala de Depressão GDS e a Escala Analógica de Felicidade. A avaliação cognitiva dos pacientes será realizada através de testes validados no Brasil, como o Mini-exame do estado mental, fluência verbal, teste do relógio, desenhos do CERAD, recordação tardia do CERAD ou de objetos apresentados como figuras. Na avaliação da capacidade funcional dos idosos acometidos pela doença de Alzheimer e Parkinson, serão utilizados testes de Atividades da Vida Diária (AVD) pela Escala de Katz, Atividades Instrumentais da Vida Diária (AIVD) de Lawton e Escala de Avaliação da Marcha e Equilíbrio de Tinetti, Escala UPDRS e Hoehn & Yahr. Em qualquer momento do estudo, os idosos e seus cuidadores terão acesso aos pesquisadores, para esclarecimento de dúvidas e fornecimento de resultados parciais. Os riscos para os sujeitos são a revelação de sua identidade, porém os pesquisadores se comprometem a preservar o sigilo da identidade dos mesmos durante toda a realização da pesquisa e na apresentação dos dados coletados e alguma alteração do quadro clínico, entretanto, caso isto ocorra, o idoso será encaminhado aos profissionais de saúde do Centro de Geriatria e Gerontologia da Universidade do Estado do Pará para tratamento. Os pesquisadores estarão atentos a qualquer manifestação de fadiga física, interrompendo a atividade se necessário, além de se comprometerem a utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa e para divulgação científica, sendo eliminados ou incinerados, no máximo, após 5 anos de utilização. Os benefícios aos sujeitos da pesquisa são a melhoria da capacidade funcional, cognitiva e clínica, ou seja, da qualidade de vida no acompanhamento das patologias.

É garantida aos idosos a liberdade de deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo ao seu atendimento no Centro de Geriatria e Gerontologia da UEPA. Não serão divulgadas quaisquer informações que possam levar à identificação de quaisquer pesquisados. Em caso de dano pessoal, diretamente provocado pelos procedimentos propostos na pesquisa, os participantes terão direito (por parte dos principais investigadores) a indenizações legalmente estabelecidas. Não há despesas pessoais aos participantes em qualquer fase do estudo e não haverá nenhum pagamento pela participação. Este estudo será realizado com recursos financeiros da SECTAM, através do Programa Pesquisa para o SUS

Assinatura do Coordenador
Jofre Jacob da Silva Freitas
End. Tv. Dom Romualdo de Seixas, 1630
Telefone: 81287858

Assinatura dos
Pesquisadores

CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Declaro que li as informações acima sobre a pesquisa, que me sinto perfeitamente esclarecido sobre o conteúdo da mesma, assim como seus riscos e benefícios. Declaro ainda que, por minha livre vontade, aceito participar da pesquisa, cooperando com a coleta de material para exame.

Belém, ____/____/____

Assinatura do participante e/ou responsável da pesquisa

ANEXOS

ANEXO A-PROTOCOLO DE AVALIAÇÃO DE PACIENTES COM DOENÇA DE PARKINSON

Universidade do Estado do Pará

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde

Unidade de Ensino e Assistência de Fisioterapia e Terapia Ocupacional – UEAFTO

Programa Pesquisa para o SUS: Gestão compartilhada em Saúde

Pesquisa: Correlação entre parâmetros clínicos, funcionais e oxidativos em pacientes idosos portadores de Doença de Alzheimer e Doença de Parkinson atendidos no Centro de Geriatria e Gerontologia da Universidade do Estado do Pará.

PROTOCOLO DE AVALIAÇÃO – DOENÇA DE PARKINSON

Protocolo de atendimento: Nº _____

Data avaliação: ____/____/____

Identificação:

Nome: _____

Endereço: _____ Telefone: _____

Bairro: _____ CEP: _____ Estado civil: _____

Sexo: () M () F Idade: _____ Data nascimento: _____

Escolaridade: _____ Local estudo (rural) ou (cidade):

Sabe ler () Sabe escrever () Só assina nome ()

Razão do abandono escolar: () não havia escola

() não conseguia acompanhar

() precisou trabalhar

Tipo (s) de profissão (ões) / atividades na maior parte da vida:

Exposição metais pesados : () sim () não Qual? _____

Exposição agrotóxicos : () sim () não Qual? _____

Local de nascimento: rural ou cidade

Passou a infância : rural ou cidade

Passou a vida adulta (18 a 64 anos):

História:

Tempo do início dos sintomas: _____ (dias, sem, meses, anos)

Presença de:

Tremor: () sim () não _____

Rigidez: () sim () não _____

Bradicinesia/ acinesia: () sim () não _____

Instabilidade postural: () sim () não _____

Sensação de cansaço:() sim () não _____

Redução do piscamento: () sim () não _____

Fala monótona/ prejuízo da dicção: () sim () não _____

Dores localizadas sem causa definida: () sim () não _____

Pobreza de expressão facial: () sim () não _____

Disfunção autonômica: () sim () não _____

() constipação () sialorréia () disf. sexual

() disf. trato urinário () hipotensão ortostática

Disfagia: () sim () não

Sialorréia: () sim () não

Depressão: () sim () não

Demência: () sim () não

Psicose: () sim () não

Distúrbios sono: () insônia () pesadelos () síndrome pernas inquietas

Outros: _____

AMP: HAS () DM () DLP () Cardiopatia () Insuf. Renal ()

Insuf. Hepática () Dça cérebro-vascular () TCE ()

Infecções (encefalite) () Anóxia/ hipóxia ()

Outros _____

Tabagismo () Etilismo () Drogas ilícitas () _____

Medicação: Antivertiginosos () _____

Neurolépticos () _____

Medicações em uso : _____

AMF: Dça Parkinson () Demência () Desordens psiquiátricas ()

Ex. físico geral:

PA: _____

Aparelho cárdio-vascular: () NL () alterado _____

Aparelho respiratório: () NL () alterado _____

Aparelho digestivo: () NL () alterado _____

Extremidades: () NL () alterado _____

Ex. neurológico:

Sinais localizatórios: () sim () não _____

Axiais da face:

Orbicular das pálpebras () sim () não

Oro-orbicular () sim () não

Mandibular () sim () não

Sinais Parkinsonianos:

Tremor () sim () não

Rigidez () sim () não

Bradicinesia () sim () não

Instabilidade postural () sim () não

Micrografia: () sim () não _____

Marcha: NL () pequenos passos () _____

Discinesias: () sim () não início ____ (dias, sem, meses, anos)

Outros: _____

ANEXO B- ESCALA DE HOEHN & YAHR

Estágios da DP (Escala Modificada de Hoehn & Yahr)	
Estágio	Sinais
0	Sem sinais da doença
1	Doença unilateral
1,5	Acometimento unilateral mais axial
2	Doença bilateral, sem comprometimento dos reflexos posturais
2,5	Doença bilateral leve, com recuperação nos testes de reflexos posturais
3	Doença bilateral de leve a moderada, há instabilidade postural; independente nas atividades da vida diária
4	Alto grau de incapacitação; ainda consegue andar ou ficar em pé sem auxílio
5	Confinado à cama ou à cadeira de rodas, a menos que ajudado

ANEXO C-UPDRS (UNIFIED PARKINSON DISEASE RATING SCALE)

ESCALA UNIFICADA DE AVALIAÇÃO PARA DOENÇA DE PARKINSON **UPDRS**

I. ESTADO MENTAL/COMPORTEAMENTO/ESTADO EMOCIONAL

1. comportamento intelectual

0= NENHUM

1= MÍNIMO. Esquecimento consistente com lembrança parcial de eventos, sem outras dificuldades

2= MODERADO. Perda moderada da memória, com desorientação. Dificuldade moderada para resolver problemas complexos. Mínimo, mas definitivo comprometimento das atividades em casa, com necessidade de ajuda ocasional.

3= GRAVE. Perda grave de memória com desorientação temporal e, freqüentemente de lugar. Grande dificuldade de resolver problemas.

4= GRAVE. Perda grave da memória com orientação preservada apenas para sua pessoa. Incapaz de fazer julgamentos ou resolver problemas. Necessita de muita ajuda para cuidados pessoais. Não pode ficar sozinho em nenhuma situação.

2. desordem do pensamento (devido à demência ou intoxicação por drogas)

0= nenhum

1= sonhos vívidos

2= alucinações “benignas” com julgamento (insight) mantido

3= ocasionais a freqüentes alucinações sem julgamento, podendo interferir com as atividades diárias.

4= alucinações freqüentes ou psicose evidente. Incapaz de cuidar-se.

3. depressão

1= ausente

2= períodos de tristeza ou culpa acima do normal. Nunca permanece por dias ou semanas.

3= depressão permanente com sintomas vegetativos (insônia, anorexia, perda de peso, desinteresse).

4= depressão permanente com sintomas vegetativos. Pensamento ou tentativa de suicídio.

4. motivação/iniciativa

0= normal

1= mais passivo, menos interessado que o habitual

2= perda da iniciativa ou desinteresse por atividades fora do dia-a-dia

II.ATIVIDADES DA VIDA DIÁRIA

5. fala

0= normal

1= comprometimento superficial. Nenhuma dificuldade em ser entendido.

2= comprometimento moderado. Solicitado a repetir frases, às vezes.

3= comprometimento grave. Solicitado freqüentemente a repetir frases.

4= retraído, perda completa da motivação.

6. salivação

0= normal

1= excesso mínimo de saliva, mas perceptível. Pode babar à noite.

2= excesso moderado de saliva. Pode apresentar alguma baba (drooling).

3= excesso acentuado de saliva. Baba freqüentemente.

4= baba continuamente. Precisa de lenço constantemente.

7. deglutição

0= normal

1= engasgos raros

2= engasgos ocasionais

3= deglute apenas alimentos moles.

4= necessita de sonda nasogástrica ou gastrostomia.

8. escrita

0= normal

1= um pouco lenta ou pequena.

2= menor e mais lenta, mas as palavras são legíveis.

3= gravemente comprometida. Nem todas as palavras são comprometidas.

4= a maioria das palavras não são legíveis.

9. cortar alimentos ou manipular

0= normal

1= lento e desajeitado, mas não precisa de ajuda.

2= capaz de cortar os alimentos, embora desajeitado e lento. Pode precisar de ajuda.

3= alimento cortado por outros, ainda pode alimentar-se, embora lentamente.

4= precisa ser alimentado por outros.

10. vestir

0= normal.

1= lento mas não precisa de ajuda.

2= necessita de ajuda para abotoar e colocar os braços em mangas de camisa.

3= necessita de bastante ajuda, mas consegue fazer algumas coisas sozinho.

4= não consegue vestir-se (nenhuma peça) sem ajuda.

11. higiene

0= normal.

1= lento mas não precisa de ajuda.

2= precisa de ajuda no chuveiro ou banheira, ou muito lento nos cuidados de higiene.

3= necessita de assistência para se lavar, escovar os dentes, pentear-se, ir ao banheiro.

4= sonda vesical ou outra ajuda mecânica.

12. girar no leito e colocar roupas de cama.

0= normal.

1= lento e desajeitado mas não precisa de ajuda.

2= pode girar sozinho na cama ou colocar os lençóis, mas com grande dificuldade.

3= pode iniciar, mas não consegue rolar na cama ou colocar lençóis.

4= não consegue fazer nada.

13. quedas (não relacionadas ao freezing)

0= nenhuma

1= quedas raras.

2= cai ocasionalmente, menos de uma vez por dia.

3= cai, em média, uma vez por dia.

4= cai mais de uma vez por dia.

14. freezing quando anda

0= nenhum

1= raro freezing quando anda, pode ter hesitação no início da marcha.

2= freezing ocasional, enquanto anda.

3= freezing freqüente, pode cair devido ao freezing.

4= quedas freqüentes devido ao freezing.

15. marcha

0= normal.

1= pequena dificuldade. Pode não balançar os braços ou tende a arrastar as pernas.

2= dificuldade moderada, mas necessita de pouca ajuda ou nenhuma.

3= dificuldade grave na marcha, necessita de assistência.

4= não consegue andar, mesmo com ajuda.

16. tremor

0= ausente.

1= presente, mas infrequente.

2= moderado, mas incomoda o paciente.

3= grave, interfere com muitas atividades.

4= marcante, interfere na maioria das atividades.

17. queixas sensitivas relacionadas ao parkinsonismo

0= nenhuma.

1= dormência e formigamento ocasional, alguma dor.

2= dormência, formigamento e dor freqüente, mas suportável.

3= sensações dolorosas freqüentes.

4= dor insuportável.

III. EXAME MOTOR

18. fala

0= normal.

1= perda discreta da expressão, volume ou dicção.

2= comprometimento moderado. Arrastado, monótono mas compreensível.

3= comprometimento grave, difícil de ser entendido.

4= incompreensível.

19. expressão facial

0= normal.

1= hipomimia mínima.

2= diminuição pequena, mas anormal, da expressão facial.

3= hipomimia moderada, lábios caídos/afastados por algm tempo.

4= fácies em máscara ou fixa, com pedra grave ou total da expressão facial. Lábios afastados $\frac{1}{4}$ de polegada ou mais.

20. tremor de repouso

0= ausente.

1= presente mas infrequente ou leve.

2= persistente mas de pouca amplitude, ou moderado em amplitude mas presente de maneira intermitente.

3= moderado em amplitude mas presente a maior parte do tempo.

4= com grande amplitude e presente a maior parte do tempo.

21. tremor postural ou de ação nas mãos

0= ausente

1= leve, presente com a ação.

2= moderado em amplitude, presente com a ação.

3= moderado em amplitude tanto na ação quanto mantendo a postura.

4= grande amplitude, interferindo com a alimentação.

22. rigidez (movimento passivo das grandes articulações, com paciente sentado e relaxado, ignorar roda denteada)

0= ausente

1= pequena ou detectável somente quando ativado por movimentos em espelho de outros.

2= leve e moderado.

3= marcante, mas pode realizar o movimento completo da articulação.

4= grave e o movimento completo da articulação só ocorre com grande dificuldade.

23. bater dedos continuamente – polegar no indicador em seqüências rápidas com a maior amplitude possível, uma mão de cada vez.

0= normal

1= leve lentidão e/ou redução da amplitude.

2= comprometimento moderado. Fadiga precoce e bem clara. Pode apresentar parada ocasional durante o movimento.

3= comprometimento grave. Hesitação freqüente para iniciar o movimento ou paradas durante o movimento que está realizando.

4= realiza o teste com grande dificuldade, quase não conseguindo.

24. movimentos das mãos (abrir e fechar as mãos em movimentos rápidos e sucessivos e com a maior amplitude possível, uma mão de cada vez).

0= normal

1= leve lentidão e/ou redução da amplitude.

2= comprometimento moderado. Fadiga precoce e bem clara. Pode apresentar parada ocasional durante o movimento.

3= comprometimento grave. Hesitação freqüente para iniciar o movimento ou paradas durante o movimento que está realizando.

4= realiza o teste com grande dificuldade, quase não conseguindo.

25. movimentos rápidos alternados das mãos (pronação e supinação das mãos, horizontal ou verticalmente, com a maior amplitude possível, as duas mãos simultaneamente).

0= normal

1= leve lentidão e/ou redução da amplitude.

2= comprometimento moderado. Fadiga precoce e bem clara. Pode apresentar parada ocasional durante o movimento.

3= comprometimento grave. Hesitação freqüente para iniciar o movimento ou paradas durante o movimento que está realizando.

4= realiza o teste com grande dificuldade, quase não conseguindo.

26. agilidade da perna (bater o calcanhar no chão em sucessões rápidas, levantando toda a perna, a amplitude do movimento deve ser de cerca de 3 polegadas/ $\pm 7,5$ cm).

0= normal

1= leve lentidão e/ou redução da amplitude.

2= comprometimento moderado. Fadiga precoce e bem clara. Pode apresentar parada ocasional durante o movimento.

3= comprometimento grave. Hesitação freqüente para iniciar o movimento ou paradas durante o movimento que está realizando.

4= realiza o teste com grande dificuldade, quase não conseguindo.

27. levantar da cadeira (de espaldo reto, madeira ou ferro, com braços cruzados em frente ao peito).

0= normal

1= lento ou pode precisar de mais de uma tentativa

2= levanta-se apoiando nos braços da cadeira.

3= tende a cair para trás, pode tentar se levantar mais de uma vez, mas consegue levantar

4= incapaz de levantar-se sem ajuda.

28. postura

0= normal em posição ereta.

1= não bem ereto, levemente curvado para frente, pode ser normal para pessoas mais velhas.

2= moderadamente curvado para frente, definitivamente anormal, pode inclinar-se um pouco para os lados.

3= acentuadamente curvado para frente com cifose, inclinação moderada para um dos lados.

4= bem fletido com anormalidade acentuada da postura.

29. marcha

0= normal

1= anda lentamente, pode arrastar os pés com pequenas passadas, mas não há festinação ou propulsão.

2= anda com dificuldade, mas precisa de pouca ajuda ou nenhuma, pode apresentar alguma festinação, passos curtos, ou propulsão.

3= comprometimento grave da marcha, necessitando de ajuda.

4= não consegue andar sozinho, mesmo com ajuda.

30. estabilidade postural (respostas ao deslocamento súbito para trás, puxando os ombros, com paciente ereto, de olhos abertos, pés separados, informado a respeito do teste)

0= normal

1= retropulsão, mas se recupera sem ajuda.

2= ausência de respostas posturais, cairia se não fosse auxiliado pelo examinador.

3= muito instável, perde o equilíbrio espontaneamente.

4= incapaz de ficar ereto sem ajuda.

31. bradicinesia e hipocinesia corporal (combinação de hesitação, diminuição do balançar dos braços, pobreza e pequena amplitude de movimentos em geral)

0= nenhum.

1= lentidão mínima. Podia ser normal em algumas pessoas. Possível redução na amplitude.

2= movimento definitivamente anormal. Pobreza de movimento e um certo grau de lentidão.

3= lentidão moderada. Pobreza de movimento ou com pequena amplitude.

4= lentidão acentuada. Pobreza de movimento ou com pequena amplitude.

IV. COMPLICAÇÕES DA TERAPIA (NA SEMANA QUE PASSOU)

A . DISCINESIAS

32. duração. Que percentual do dia acordado apresenta discinesias?

0= nenhum

1= 25% do dia.

2= 26 - 50% do dia.

3= 51 – 75% do dia.

4= 76 – 100% do dia.

33. incapacidade. Quão incapacitante é a discinesia?

0= não incapacitante.

1= incapacidade leve.

2= incapacidade moderada.

3= incapacidade grave.

4= completamente incapaz.

34. discinesias dolorosas. Quão dolorosas são as discinesias?

0= não dolorosas.

1= leve.

2= moderada.

3= grave.

4= extrema.

35. presença de distonia ao amanhecer.

0= não

1= sim

B. FLUTUAÇÕES CLÍNICAS

36. algum período off previsível em relação ao tempo após a dose do medicamento?

0= não

1= sim

37. algum período off imprevisível em relação ao tempo após a dose do medicamento?

0= não

1= sim

38. algum período off se instala subitamente? Em poucos segundos?

0= não

1= sim

39. qual o percentual de tempo acordado, em um dia, o paciente está em off, em média?

0= nenhum

1= 25% do dia.

2= 26 - 50% do dia.

3= 51 - 75% do dia.

4= 76 - 100% do dia.

C. OUTRAS COMPLICAÇÕES

40. o paciente apresenta anorexia, náusea ou vômito?

0= não

1= sim

41. o paciente apresenta algum distúrbio do sono? Insônia ou hipersonolência.

0= não

1= sim

42. o paciente apresenta hipotensão ortostática sintomática?

0= não

1= sim.

