

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

RAQUEL SILVEIRA JESUINO E SILVA

Análise genética em uma amostra de pacientes brasileiros portadores de Doença de
Parkinson: estudo de mutações no gene LRRK2

Ribeirão Preto

2016

RAQUEL SILVEIRA JESUINO E SILVA

Análise genética em uma amostra de pacientes brasileiros portadores de Doença de Parkinson: estudo de mutações no gene LRRK2

Dissertação apresentada a Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto para a obtenção de título de Mestre em Neurologia e Neurociências

Área de concentração: Doenças Crônico-degenerativas e Imuno-mediadas do Sistema Nervoso Central

Orientador: Prof. Dr. Vitor Tumas

Ribeirão Preto

2016

Autorizo a divulgação e reprodução total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo ou pesquisa, desde que citada a fonte.

Silva, Raquel Silveira Jesuino e

Análise genética em uma amostra de pacientes brasileiros portadores de Doença de Parkinson: estudo de mutações no gene LRRK2. - Ribeirão Preto, 2016.

92 p.: il.; 30cm

Dissertação de Mestrado apresentada a Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP.

Área de concentração: Doenças Crônico-degenerativas e Imuno-mediadas do Sistema Nervoso Central.

Orientador: Tumas, Vitor.

Nome: SILVA, Raquel Silveira Jesuino e

Título: Análise genética em uma amostra de pacientes brasileiros portadores de Doença de Parkinson: estudo de mutações no gene LRRK2.

Dissertação apresentada a Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto para a obtenção de título de Mestre em Neurologia e Neurociências. Orientador: Prof. Dr. Vitor Tumas

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____
Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____
Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____
Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais por todo incentivo, amor e confiança que me dedicaram durante toda minha formação profissional.

AGRADECIMENTOS

Ao meu marido Hernandez Dieguez, verdadeiro exemplo de amor e dedicação;

Aos meus irmãos Luciana Silveira e André Silveira, aliança eterna;

À minha amiga Manuelina Macruz, companheira de todos os momentos, pessoa fundamental para tornar real esse projeto;

Ao meu orientador Prof. Dr. Vitor Tumas por todas as oportunidades e conhecimentos oferecidos;

A todos os colegas neurologistas que participaram da coleta de dados, pela colaboração para o presente trabalho;

A todos os funcionários e colegas do Departamento de Neurologia do Hospital das Clínicas da FMRP, pela contribuição com a formação e desenvolvimento científico.

RESUMO

SILVA, R. S. J. **Análise genética em uma amostra de pacientes brasileiros portadores de Doença de Parkinson: estudo de mutações no gene LRRK2.** 2016. 92 f. Dissertação (Mestrado Profissional) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

Introdução: A Doença de Parkinson (DP) é a segunda doença neurodegenerativa mais comum. Os sintomas motores são decorrentes da morte de neurônios dopaminérgicos da Substância Nigra mesencefálica e por inclusões intracitoplasmáticas de α -sinucleína, os corpúsculos de Lewy (CL). A doença pode ser o resultado de fatores ambientais agindo sobre um indivíduo geneticamente susceptível. O objetivo desse estudo foi verificar a frequência de mutações no gene PARK8/LRRK2 em uma amostra de pacientes Brasileiros portadores de DP e descrever as principais correlações clínicas encontradas nos pacientes com mutações. **Metodologia:** Estudo transversal baseado no protocolo padronizado pelo projeto LARGE-PD (*Latin American Research Consortium on The Genetics of PD*) aplicado em 282 pacientes com DP recrutados de ambulatórios especializados em Distúrbios do Movimento do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto/USP e no Hospital São Paulo/UNIFESP, entre os anos de 2007 e 2014. O material genético colhido foi enviado para Seattle, com análise genética realizada no laboratório do Dr Cyrus Zabetian da Universidade de Washington. **Resultados:** Realizado pesquisa genética para o LRRK2 em 229 pacientes de 282 pacientes que preencheram o protocolo. Quatro (1,74%) pacientes foram positivos para a mutação. Nos casos de início precoce, a frequência foi de apenas um caso (2,43% - 1/41). Três pacientes tinham história familiar positiva para DP (3,7% - 3/81). A idade de início dos sintomas variou entre 38 e 55 anos. A mutação G2019S esteve presente em 1,31% (3/229). Foi encontrado também um caso de mutação para R1441C. **Conclusões:** O LRRK2 se mostrou um importante gene correlacionado a DP, tendo como principal mutação a G2019S. O início dos sintomas variou entre 38 e 55 anos, sempre unilateral, com boa resposta a Levodopa.

Palavras-chave: Doença de Parkinson. Genética. LRRK2. Neurodegeneração

ABSTRACT

SILVA, R. S. J. **Genetic analysis of a sample of Brazilian patients with Parkinson's disease: study of mutations in the LRRK2 gene**, 2016. 92 p. Dissertation (Professional Master Degree) Ribeirão Preto Medical School, University of São Paulo.

Introduction: Parkinson's disease (PD) is the second most common neurodegenerative disease. Motor symptoms are due to the death of dopaminergic neurons in the midbrain Substance Nigra and intracytoplasmic inclusions known as Lewy bodies (CL), rich in a protein called α -synuclein. The disease can be the result of environmental factors acting on an individual genetically susceptible, multifactorial etiology. The aim of this study was to determine the frequency of mutations in the gene PARK8 / LRRK2 in a sample of Brazilian patients with PD and describe the main clinical correlations in patients with mutations. **Methodology:** This is a cross-sectional study based on a standardized protocol for LARGE-PD project (Latin American Research Consortium on The Genetics of PD) applied in 282 patients with PD recruited from specialized clinics in Movement Disorders seen at Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto/USP and Hospital São Paulo/UNIFESP, between the years 2007 and 2014. The genetic material was sent to Seattle, and genetic analysis was performed in the laboratory of Dr Cyrus Zabetian at the University of Washington. **Results:** Realized genetic research for LRRK2 in 229 patients of 282 patients who met the LARGE-PD protocol. Observed four (1.74%) patients positive for the mutation. In cases of early-onset, the frequency was only one case (2,43% - 1/41). Three patients had a family history of PD (3,7% - 3/81). The age of onset of symptoms in patients with mutations varied between 38 and 55 years. A total of PD patients with the DNA analyzed, G2019S was present in 1.31% (3/229). It was also found one case to mutation R1441C. **Conclusions:** The LRRK2 had great influence gene correlated with PD, the main mutation G2019S. The onset of symptoms varied between 38 and 55 years, always one-sided, with good response to levodopa.

Keywords: Parkinson's disease. Genetics. LRRK2. Neurodegeneration

LISTAS DE TABELAS

Tabela 1 – Genes envolvidos na Doença de Parkinson.....	16
Tabela 2 – Distribuição das mutações no LRRK2 por domínio/região	24
Tabela 3 – Resumo das mutações patogênicas e possivelmente patogênicas do LRRK2	26
Tabela 4 – Estudos brasileiros sobre o LRRK2.....	33
Tabela 5 – Critérios Diagnósticos do Banco de Cérebro de Londres para Doença de Parkinson.....	37
Tabela 6 – Amostra de pacientes com DNA avaliado para presença de mutação LRRK2	41
Tabela 7 – Características clínicas da Amostra analisada	47
Tabela 8 – Pacientes positivos para a mutação no LRRK2	49

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1 – Representação esquemática dos domínios estruturais do LRRK2	23
Figura 2 – Heredograma do paciente SPP0037	51
Figura 3 – Heredograma do paciente SPP0046.....	52
Figura 4 – Heredograma do paciente RPP4353H	53

LISTAS DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Distribuição por faixa de idade do início das manifestações da doença	46
Gráfico 2 – Primeira manifestação clínica da DP	47
Gráfico 3 – Distribuição da taxa de consumo de cafeína	48
Gráfico 4 – Distribuição do estágio Hoehn &Yahr	49

LISTAS DE SIGLAS

AD: Autossômico dominante

AR: Autossômico recessivo

CL: Corpos de Lewy

DA: Demência de Alzheimer

DNA: Acido desoxirribonucleico

DP: Doença de Parkinson

H&Y: Escala Hoehn e Yahr

LARGE-PD: *Latin American Research Consortium on the Genetics of Parkinson Disease*

LRRK2: Quinase rica em repetição de leucina 2

MOCA: Avaliação Cognitiva Montreal

PCR: Reação em cadeia da polimerase

PINK1: PTEN induzida quinase 1

PP: Parkinsonismo primário

RNA: Acido ribonucleico

ROS: Espécie reagente a oxigênio

SNCA: Alfa-sinucleína

TCSREM: Transtorno Comportamental do Sono REM

UCHL1: Ubiquitina carboxi terminal esterase L1

UPDRS: Escala Unificada de Avaliação da Doença de Parkinson

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	12
1.1	Histórico	14
2.	REVISÃO DA LITERATURA.....	15
2.1	Genética na Doença de Parkinson	15
2.2	Principais genes associados à Doença de Parkinson Autossômica Recessiva	17
2.3	Principais genes associados à Doença de Parkinson Autossômica Dominante	20
2.4	Análise genética na população brasileira	28
3.	OBJETIVOS	35
4.	MÉTODOS	36
4.1	Projeto LARGE-PD.....	36
4.2	Orçamento.....	36
4.3	Coleta de dados	37
4.4	Diagnóstico e avaliação dos pacientes	37
4.5	Nomenclatura dos pacientes	39
4.6	Análise do DNA.....	39
5.	RESULTADOS	41
5.1	Paciente SPP0037 – Mutação G2019S	50
5.2	Paciente SPP0046 – Mutação G2019S	51
5.3	Paciente RPP0925 – Mutação G2019S	52
5.4	Paciente RPP4353H – Mutação R1441C	52
6.	DISCUSSÃO	54
7.	CONCLUSÕES	58
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59
	ANEXOS	67
	ANEXO A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	67
	ANEXO B – Aprovação pelo Comitê de Ética e Pesquisa do HCFMRP-USP	70

ANEXO C – Escala Unificada de Avaliação da Doença de Parkinson – versão da Movement Disorders Society (MDS-UPDRS).....	71
ANEXO D – Avaliação cognitiva pelo teste de Montreal, MOCA - Montreal Cognitive Assessment	72
ANEXO E – Escala de estadiamento motor Hoehn e Yahr (modificada)	73
ANEXO F – Questionário fornecido pelo Projeto LARGE-PD.....	74

1. INTRODUÇÃO

A Doença de Parkinson (DP) é a segunda doença neurodegenerativa mais comum, perdendo apenas para a Doença de Alzheimer (DA) (ROWLAND; PEDLEY, 2011). Caracteriza-se pela morte de neurônios dopaminérgicos da camada ventral da parte compacta da Substância Nigra mesencefálica e por inclusões intracitoplasmáticas, nestes mesmos neurônios, conhecidas como corpúsculos de Lewy (CL), ricos em uma proteína denominada α -sinucleína (ROWLAND; PEDLEY, 2011; WERNECK, 2010). Acredita-se que quando há a manifestação dos sintomas motores já ocorreu perda de cerca de 60% dos neurônios dopaminérgicos, e a quantidade de dopamina no estriado corresponde a 80% do valor normal (ROWLAND; PEDLEY, 2011).

Em 2003, com base na análise anatomopatológica de pacientes com DP, principalmente pela pesquisa dos CL intracitoplasmáticos, Braak et al. demonstraram que a doença se iniciava no plexo autonômico gástrico de Meissner e nas terminações neurais olfatórias, a partir daí se propagava de forma caudo-rostral pelo o tronco cerebral, principalmente para o mesencéfalo (ROWLAND; PEDLEY, 2011; WERNECK, 2010; ROSSO; NICARETTA; MATOS, 2008). A doença continuava a ascender atingindo o telencéfalo e o córtex cerebral. Braak dividiu essa evolução em seis estágios (ROSSO; NICARETTA; MATOS, 2008):

- **Estágio 1:** alterações bulbares e no núcleo olfativo anterior levando a constipação intestinal, a distúrbios do sono e a hiposmia;
- **Estágio 2:** comprometimento pontino que pode induzir depressão, ansiedade, distúrbios do sono e dor de origem central;
- **Estágio 3:** degeneração no mesencéfalo determinando o aparecimento dos sintomas motores clássicos, dos distúrbios cognitivos leves e do ciclo sono-vigília;
- **Estágio 4:** lesões saem do tronco cerebral e atingem, principalmente, o mesocórtex temporal e a amígdala, gerando as disfunções mnemônicas, executivas e a apatia;

- **Estágio 5:** as alterações acometem o neocórtex com destaque para as áreas pré-frontais e de associação sensitivas, acentuando as disfunções cognitivas;
- **Estágio 6:** ocorre o comprometimento difuso das áreas corticais primárias e o agravamento das dificuldades motoras e do quadro demencial.

As manifestações clínicas motoras da DP incluem tremor de repouso, bradicinesia, rigidez tipo roda dentada e anormalidades posturais (ROWLAND; PEDLEY, 2011). Atualmente o diagnóstico de DP se divide em provável, possível e definitivo, sendo a confirmação anatomopatológica necessária para este último. Vários estudos têm demonstrado grandes dificuldades em diferenciar, clinicamente, DP de outras síndromes parkinsonianas. Após avaliação da necropsia de 100 cérebros de pacientes diagnosticados clinicamente por neurologistas britânicos como sendo portadores de DP, houve confirmação anatomopatológica em apenas 75% dos casos (HUGHES et al., 1992). O valor preditivo do diagnóstico aumentou para 98,6%, quando pacientes com DP foram avaliados por neurologistas especializados em distúrbios de movimento do National Hospital for Neurology and Neurosurgery de Londres (HUGHES et al., 2002).

A DP é de distribuição universal, atinge todos os grupos étnicos e classes socioeconômicas. Predomina no sexo masculino em uma proporção 3:2, a média de idade de início da doença é de 55 anos, quando iniciada abaixo de 20 anos é denominada Parkinsonismo Juvenil. Quando iniciada entre 20 e 40 anos é designada Doença de Parkinson de início Precoce (ROWLAND; PEDLEY, 2011). A prevalência estimada atinge cerca de 100 a 200 casos por 100.000 habitantes (TANNER; HUBBLE; CHAN, 1996). Sua incidência e prevalência tendem a aumentar com a idade, de modo que a prevalência na idade de 70 anos pode atingir 550 casos por 100.000 habitantes (ROWLAND; PEDLEY, 2011). Usualmente, acarreta incapacidade severa após 10 a 15 anos do início da doença, o impacto social e financeiro é elevado, principalmente na população mais idosa (BENNETT et al., 1996). Estima-se que o custo anual mundial com medicamentos antiparkinsonianos gire em torno de 11 bilhões de dólares, sendo cerca de 3 a 4 vezes de maior custo para os pacientes na fase avançada da doença (DODEL et al., 1998; SIDEROWF; HOLLOWAY; STERN, 2000).

1.1 Histórico

Quem recebeu o mérito pela primeira descrição da DP foi James Parkinson, um médico inglês, membro do colégio real de cirurgiões. Em 1871, Parkinson publicou em Londres um ensaio intitulado “An Essay on the Shaking Palsy”, que corresponde à primeira descrição bem caracterizada da DP. O autor apresentou seis casos ilustrativos, de pacientes do sexo masculino, na faixa etária entre 50 e 72 anos. Dos casos analisados, Parkinson procurou determinar os sintomas principais, os diagnósticos diferenciais e fez considerações a respeito da etiologia e também do tratamento (TEIVE, 1998).

A doença, na época intitulada “paralisia agitante”, foi caracterizada pela presença de movimentos involuntários tremulantes, com diminuição da força muscular, tendência de inclinação do tronco para frente e com alteração da marcha (festinação), sem acometimentos cognitivos, e inteligência preservada. Com a evolução da doença foi observada a presença de tremores mais intensos (podendo se tornar generalizados), piora da marcha, quedas frequentes, constipação, disartria, dificuldades para deglutição, sialorréia e incontinência urinária. Parkinson, na ocasião, interrogou que tal doença poderia ser secundária a traumatismos locais múltiplos com acometimento da junção medula espinhal/bulbo (TEIVE, 1998).

Outro grande estudioso que contribuiu para a descrição da DP foi Charcot, médico nascido em Paris em 1825 e falecido em 1893, e considerado por muitos como “pai da neurologia”. Foi ele quem sugeriu que o nome da enfermidade fosse substituído de “paralisia agitante” para Doença de Parkinson (“la maladie de Parkinson”), em homenagem à descrição realizada por James Parkinson. Por outro lado, Charcot acrescentou várias contribuições na descrição do quadro clínico da doença, sendo responsável pela definição dos quatro sinais cardinais: tremor, lentidão do movimento (bradicinesia), rigidez e dificuldades do equilíbrio. Charcot descreveu também a face “em máscara” característica dos pacientes com DP. E revelou que não há a presença de fraqueza muscular na doença, relatou que essa falsa impressão de “fraqueza” se deve à presença da rigidez muscular (TEIVE, 1998).

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Genética na Doença de Parkinson

As causas da DP não se encontram completamente esclarecidas. Acredita-se que a doença seja o resultado de um conjunto de fatores genéticos e ambientais, sendo tais fatores os principais alvos de investigações atuais (ZAVARIZ; LIMEIRA, 2012). Vários estudos apontam para uma etiologia multifatorial, com fatores ambientais agindo sobre um indivíduo geneticamente susceptível (ZAVARIZ; LIMEIRA, 2012; FOLTYNIE et al., 2002). Dentre os fatores ambientais relacionados à DP destacam-se exposição a pesticidas, traumatismos craniano-encefálicos e poluentes. Com exceção dos casos relacionados à herança familiar, o restante, e a grande maioria dos casos, são denominados DP de origem esporádica (WERNECK; ALVARENGA, 1999).

A susceptibilidade genética na DP foi determinada pela primeira vez em 1893 por Gowers, que observou que 15% de seus pacientes apresentavam história familiar positiva para DP (SIDEROWF; STEM, 2003). Em um estudo desenvolvido por Foltynie et al. (2002) foi observado um risco maior para a apresentação da doença de 1,4 - 9,5 vezes nos parentes em primeiro grau de pacientes afetados pela doença.

Na DP pode ser observada uma grande variabilidade de heranças, destacando-se: herança autossômica dominante, herança autossômica recessiva, transmissão materna (mitocondrial) e antecipação genética com provável envolvimento de trinucleotídeos de repetição (SIDEROWF; STEM, 2003).

A herança no parkinsonismo primário (familiar / esporádico) pode ser poligênica ou monogênica, sendo esta última responsável por 10-15% dos casos (FOLTYNIE et al., 2002). A genética na DP de uma maneira geral pode ser dividida em dois grandes grupos:

- **DP autossômica recessiva (AR):** PARKIN (PARK2), PINK1 (PARK6), DJ-1 (PARK7), ATP13A2 (PARK9);

- **DP autossômica dominante (AD):** SNCA (PARK1/4), UCHL1(PARK5), LRRK2 (PARK8), GIGYF2 (PARK11);

Mutações em outros genes também foram associadas a doenças que causam parkinsonismo, porém causam em geral desordens clínicas complexas que apresentam outras importantes anormalidades neurológicas como: POLG1, ATP13A2, PLA2G6, FBXO7, entre outros. Além disso, algumas mutações e polimorfismos genéticos, como o da glucocerebrosidase (GBA), aumentam o risco para o aparecimento da doença.

As mutações no GBA podem causar disfunção celular através de três mecanismos. No primeiro ocorre uma disfunção lisossômica ou interferência na ligação do receptor de alfa-sinucleína na membrana lisossomal, resultando na degradação reduzida de alfa-sinucleína e toxicidade celular. A segunda hipótese seria que mutações no GBA resultariam em uma proteína desdobrada que pode sobrecarregar a capacidade de degradação do sistema ubiquitina-proteasoma, o que leva ao acúmulo celular de varias proteínas, por exemplo, a alfa-sinucleína. Um terceiro mecanismo envolveria lipídios anormais, presentes em neurônios com baixa atividade do GBA, que iriam promover a agregação da alfa-sinucleína e toxicidade através da formação de protofibrilas (SPITZ et al., 2008; SANTOS et al., 2010; GUIMARÃES et al., 2012).

Tabela 1 – Genes envolvidos na Doença de Parkinson

Lócus	Cromossomo	Gene	Herança	Clínica	Observações
PARK1	4q 21-22	SNCA	AD	Parkinsonismo de origem precoce	C
PARK2	6q25.2-q27	PARK2	AR	Parkinsonismo de origem precoce	C
PARK3	2p13	-	AD	Parkinsonismo clássico	NC
PARK4	4q21-q23	SNCA	AD	Parkinsonismo de origem precoce	Lócus errôneo (=PARK1)
PARK5	4p13	UCHL1	AD	Parkinsonismo clássico	NC
PARK6	1p35-p36	PINK1	AR	Parkinsonismo de origem precoce	C
PARK7	1p36	PARK7	AR	Parkinsonismo de origem precoce	C

Continua

Lócus	Cromossomo	Gene	Herança	Clínica	Observações
PARK8	12q12	LRRK2	AD	Parkinsonismo clássico	C
PARK9	1p36	ATP13A2	AR	Síndrome de Kufor-Rakeb	C
PARK10	1p32	-	FR	Parkinsonismo clássico	C
PARK11	2q36-27	GIGYF2	AD	Parkinsonismo de início tardio	NC
PARK12	Xq21-q25	-	FR	Parkinsonismo clássico	C
PARK13	2p12	HTRA2	AD ou FR	Parkinsonismo clássico	NC
PARK14	22q13.1	PLA2G6	AR	Distonia-parkinsonismo de origem precoce	C*
PARK15	22q12-q13	FBX07	AR	Síndrome de Parkinson piramidal de início precoce	
PARK16	1q32	-	FR	Parkinsonismo clássico	C
PARK17	4p16	VPS35	FR	Parkinsonismo clássico	C
PARK18	3q27.1	EI4FG1	FR	Parkinsonismo clássico	C

AD: autossômica dominante, AR: autossômica recessiva, FR: fator de risco. C: confirmado (replicado em pelo menos mais de um estudo), NC: não confirmado (Não replicado).

*parkinsonismo é incomum. Extraído de: Barbosa ER, Ferraz HB, Tumas V. Transtornos do Movimento Diagnóstico e Tratamento. 2013.

2.2 Principais genes associados à Doença de Parkinson Autossômica Recessiva

2.2.1 PARKIN – PARK2

O PARK2 foi o segundo lócus a ser identificado e se localiza no cromossomo 6q25-27 (GASSER, 2009; HARDY et al., 2009). Este gene é responsável pela produção de PARKIN, uma proteína de 465 aminoácidos, com função de ligase E3 no sistema da ubiquitina e, conseqüentemente, possui um papel importante na degradação de proteínas no proteasoma (GASSER, 2009; HARDY et al., 2009).

Descrita pela primeira vez em uma família de japoneses com histórico de casamento consanguíneo (KITADA et al., 1998).

As mutações no gene PARK2 são responsáveis pelo desenvolvimento de uma forma de parkinsonismo juvenil autossômica recessiva, mas também recentemente foi demonstrada sua relação com outras afecções como o cancro, lepra, autismo, diabetes mellitus tipo II e doença de Alzheimer (DA) (COGNATA et al., 2014).

A organização genômica do PARK2 constitui de 12 exons. Muitos estudos foram desenvolvidos nos últimos quinze anos sobre esse gene, e, com base no Banco de dados de mutações na doença de Parkinson (<http://www.molgen.vib-ua.be/PDmutDB>) 214 mutações foram identificadas, destacando-se: rearranjos de exons (deleções, duplicações) ou, mais frequentemente, mutações pontuais (COGNATA et al., 2014).

Um de seus achados típicos é representado por uma perda neuronal e gliose na parte compacta da substância negra e loco cerúleo. No anatomopatológico não se encontra corpos de Lewy nesses pacientes (VAN DE WARRENBURG et al., 2001).

Mutações nesse gene causam um parkinsonismo juvenil autossômico recessivo. A idade média de início da doença é de 32 anos e a progressão é lenta (GASSER, 2009; HARDY et al., 2009). Apresentam boa resposta ao tratamento com Levodopa, e desenvolvem precocemente complicações motoras tratamento-induzidas (KHAN et al., 2005; LUCKING et al., 2001).

Alguns portadores de mutações no gene PARK2 podem apresentar distonia no início do quadro, depressão, ataxia, hiperreflexia, alterações comportamentais e neuropatia periférica. Fato provavelmente devido às diferentes mutações no gene e a fatores ambientais (CHIEN, 2007).

2.2.2 PINK1 – PARK6

O gene, “PTEN-induced putative kinase 1” (PINK 1), existente no lócus PARK6 localiza-se no cromossoma 1p35-36 e contém 8 exons que compreendem, aproximadamente, 1,8 kb (GASSER, 2009; VALENTE et al., 2001; VALENTE et al., 2004; VALENTE et al., 2002). Este gene codifica uma proteína de 581 aminoácidos com uma massa molecular de 62,8 kDa (MOURA et al., 2008). Ele está envolvido com uma resposta mitocondrial e estresse oxidativo, mediada pela regulação do

efluxo de cálcio, influenciando processos como tráfico mitocondrial, eficácia da respiração mitocondrial, formação de Células Reativas ao Oxigênio (ROS), abertura da permeabilidade mitocondrial, assim como pela interação com inibidores de morte celular (VALENTE et al., 2004; VALENTE et al., 2002, WANG et al., 2009; WEIHOFEN et al., 2009; LIU et al., 2009; GANDHI et al., 2009).

A frequência de mutações neste gene varia de 1-9%, de acordo com o grupo étnico estudado (VALENTE et al., 2004, MOURA et al., 2008).

Homozigotos PINK1 apresentam manifestações clínicas indistinguíveis das apresentadas pelos homozigotos PARK2. Em casos raros, mutações no PINK1 também foram associadas à DP de início tardio, parkinsonismo com Síndrome das Pernas Inquietas e distonia dopa-responsiva (GELMETTI et al., 2008; TAN et al., 2007).

2.2.3 DJ-1 – PARK7

O locus PARK-7 foi identificado no cromossoma 1p35-36, ocorrendo nesse local uma mutação do gene que codifica a proteína DJ-133. Acredita-se que este gene ajude à regular a atividade de outros genes e a proteger as células do estresse oxidativo, estando também relacionado com a função mitocondrial (MITSUMOTO; NAKAGAWA, 2001).

Sua frequência de mutações no parkinsonismo de início precoce é baixa – 1 a 2% (CLARK et al., 2004; ABOU-SLEIMAN et al., 2003). Sua idade de início é em torno de 30 anos, e muitas vezes se associa a presença de distonia, alterações psiquiátricas e comportamentais (GASSER, 2009; HARDY et al., 2009).

2.2.4 ATP13A2 – PARK9

Também denominada Síndrome de kofur-Rakeb, região no norte da Jordânia onde foi descrito uma família originada de um casamento consangüíneo, cuja manifestação clínica era um parkinsonismo juvenil (12-16 anos). Ramirez et al. (2006) também descreveram uma família chilena com as mesmas manifestações clínicas da família jordaniana, e conseguiu mapear uma mutação no gene ATP13A2, que codifica a ATPase transmembrana tipo P, relacionada a degradação proteica lisossomal.

Nesta doença, além dos sintomas extrapiramidais, é observado também movimentos periorais e dos dedos das mãos semelhantes à mioclonias, alucinação e distonia oculária. Esta doença é um parkinsonismo hereditário raro, com moderada resposta a levodopa, evoluindo rapidamente com grave restrição motora. Na Ressonância Encefálica desses pacientes foi evidenciado atrofia dos globos pálidos (RAMIREZ et al., 2006; CHIEN, 2007).

2.3 Principais genes associados à Doença de Parkinson Autossômica Dominante

2.3.1 α sinucleína (SNCA) – PARK1/4

Foi o primeiro gene causador da PD identificável, observado primeiramente em uma ampla família italiana, “Contursi”, com uma mutação descrita como p.Ala53Thr (A53T), localizada no cromossomo 4q21 (POLYMEROPOULOS et al., 1996, POLYMEROPOULOS et al., 1997). Este gene é responsável pela produção de uma proteína denominada α -sinucleína, formada por 140 aminoácidos.

Além da família italiana, essa mutação também foi encontrada em várias famílias de descendência grega (ATHANASSIADOU et al., 1999; PAPADIMITRIOU et al., 1999; SPIRA et al., 2001), e famílias da Ásia e Suécia (CHOI et al., 2008; KI et al., 2007; PUSHCHMANN et al., 2009). A exata função da SNCA no cérebro ainda não se encontra completamente compreendida, mas há evidências que esteja correlacionada com a liberação de neurotransmissores e renovação de vesículas nos terminais pré-sinápticos (SEN et al., 2009).

Outras duas importantes mutações encontradas no gene que produz essa proteína são a A30P e a E46K, responsáveis pela variedade fenotípica da doença (GASSER, 2009).

A duplicação e a triplicação do gene da α -sinucleína também podem causar um parkinsonismo familiar, o PARK4 (ROWLAND; PEDLEY, 2011).

A SNCA apresenta diferentes fenótipos, sendo que o principal deles caracteriza-se por bradicinesia e rigidez de início em idade precoce (ATHANASSIADOU et al., 1999; PAPADIMITRIOU et al., 1999; SPIRA et al., 2001).

Os demais fenótipos da doença variam entre a forma clássica da DP e Demência por Corpos de Lewy.

A maioria dos portadores de duplicação do número de cópias da SNCA apresenta um parkinsonismo de início tardio (CHARTIER-HARLIN et al., 2004; FUCHS et al., 2007; IBANEZ et al., 2004, 2009; NISHIOKA et al., 2006, 2009) que pode ser acompanhado de um declínio cognitivo de início tardio (NISHIOKA et al., 2006, 2009; NUYTEMANS et al., 2009). Entretanto, portadores de triplicação do número de cópias apresentam um acometimento clínico mais severo representado por uma forma demencial agressiva (FARRER et al., 2004; IBANEZ et al., 2009; SINGLETON et al., 2003). Isso sugere que a expressão excessiva da proteína normal é suficiente para provocar a neurodegeneração dopaminérgica.

2.3.2 UCHL1 – PARK5

Esta forma de parkinsonismo corresponde a uma mutação no gene responsável pela produção da proteína UCHL1 (Ubiquitin Carboxy-terminal Hidrolase L1), mapeado no cromossomo 4p14. Este gene contém 9 exons que compreendem 10 kb, produz um transcrito de 1,3 kb, expresso apenas no cérebro, particularmente, na substância negra, e codifica uma proteína de 212 aminoácidos chamada PGP 9,5 (MOURA et al., 2008). Essa enzima faz parte do sistema ubiquitina-proteossoma e é responsável pela remoção da poliubiquitina. Foi descrita pela primeira vez em dois irmãos de uma família alemã. Seu quadro clínico é muito semelhante à DP idiopática (CHIEN, 2007).

2.3.3 GIGYF2 – PARK11

O estudo de Corinne et al. (2008) descreveu uma análise detalhada do GIGYF2. No qual o locus gênico PARK11 localiza-se no cromossomo 2q36-37, sendo identificado em uma população caucasiana (Italiana e Francesa) de pacientes com pelo menos um parente de primeiro grau acometido. Esse gene codifica uma proteína que possui cerca de 1.299 aminoácidos, e que tem sido designada como GIGYF2 (Grb10-Interacting GYF Protein 2) (LAUTIER et al., 2008).

Esta proteína exerce forte influência no fator de crescimento insulínico independente, esse fato demonstra a forte relação entre diabetes e algumas doenças neurodegenerativas.

As características clínicas desses pacientes não diferem dos pacientes com DP idiopática. Geralmente com surgimento inicial tremor e bradicinesia unilaterais, com efetiva resposta a Levodopa e desenvolvimento discinesia e/ou flutuações motoras como a evolução da doença (LAUTIER et al., 2008).

2.3.4 Leucine-rich repeat Kinase 2 or dardarin (LRRK2) – PARK8

Foi segundo gene identificado como causador da DP autossômica dominante. Mutações do LRRK2 são as causas genéticas mais comuns tanto da DP familiar quanto da esporádica (SEN et al., 2009; MOORE, 2008). As primeiras publicações de DP associada à mutação do LRRK2 foram descritas em famílias de origem Europeias e Norte Americanas (PAISAIN-RUIZ et al., 2004; ZIMPRICH et al., 2004). Em outras análises, mutações foram encontradas mundialmente em torno de mil pacientes com DP familiar e esporádica, o que torna o LRRK2 a mutação genética mais frequente na DP. O rastreamento completo da região responsável pela codificação do gene LRRK2 demonstrou mutações em cerca de 10% dos casos de DP com história familiar sugestiva de herança autossômica dominante (KHAN et al., 2005; MATA et al., 2005; DI FONZO et al., 2006).

A sua exata função biológica permanece desconhecida, porém diversos mecanismos patogênicos estão em estudo a fim de justificar a correlação de suas mutações e o desenvolvimento do parkinsonismo. Estudos realizados com *Drosophilas* verificaram que o gene LRRK2 com mutação positiva leva a reações de fosforilação resultando em deficiências no ajuste do processo de tradução proteica, conduzindo a um desequilíbrio que induziria o estresse oxidativo e a neurodegeneração, mecanismo que pode justificar a fisiopatologia na DP. Também já foi esclarecido que mutações nesse gene são capazes de modificar a função mitocondrial no neurônio (ALMEIDA, 2013).

Esse gene foi mapeado no cromossomo 12q12 e codifica uma proteína anteriormente designada como Quinase de repetição rica em Leucina 2 (LRRK2) (SEN et al., 2009; MOORE, 2008). Seu produto, também conhecido como dardarin (termo derivado de dardara, origem basca que significa tremor), é transformado em

uma ampla proteína com massa molecular de 286-kDA que contem domínios múltiplos independentes. Essa proteína contém 2.527 aminoácidos e é pertencente à família da proteína ROCO, dentro da superfamília Ras/GTPase (LI et al., 2014; ALMEIDA, 2013). Bosgraaf e Van Haastert (2003) observaram cinco principais domínios: um domínio ROC (Ras em proteínas complexas), um domínio COR (C terminal a ROC), uma região rica em repetições leucina (LRR), um domínio WD40 e um domínio catalítico de tirosina quinase (MAPKKK) (ALMEIDA, 2013; MATA et al., 2006).

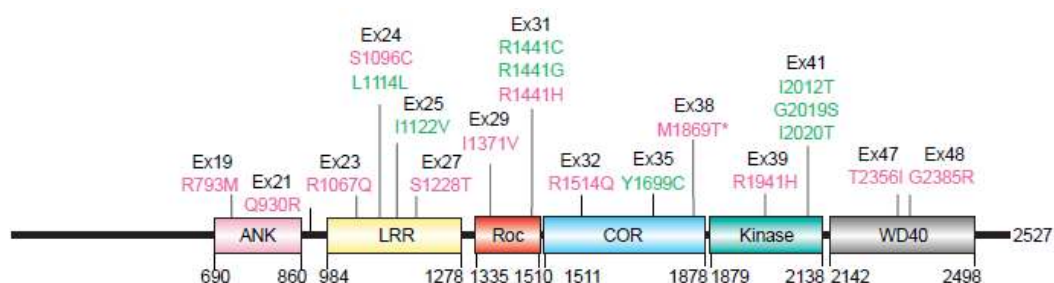


Figura 1 – Representação esquemática dos domínios estruturais do LRRK2

Nota: As posições de todas as substituições de aminoácidos pontuados como patogênicos relatados até o momento estão em destaque em rosa, enquanto que as substituições de aminoácidos que conduzem à doença são mostrados em verde, e os números correspondentes aos Exons são mostrados em preto. Os domínios com seus respectivos limites são indicados pelos números em preto na parte inferior. Abreviaturas: ANK - região de repetição ankyrin; COR- C terminal de Ras; Ex - exon; LRR - domínio de repetição rica em leucina; Roc-Ras de complexo (GTPase). Extraído de: Mata IF et al. *TRENDS in Neurosciences*, 2006.

O LRRK2 contém 51 exons, que compreendem uma região genômica de 144 kb de extensão. Até hoje, há uma descrição de mais de 70 mutações no gene do LRRK2. O ponto de maior concentração mutacional, sendo o mais importante verificado foi identificado no exon 41, que contém três mutações descritas na literatura: c.6035T>C (p.I2012T), c.6055G>A (p.G2019S) e c.6059T>C (p.I2020T), contudo somente as duas últimas estão relacionadas a um caráter patogênico confirmado (PAISAN-RUIZ et al., 2004; ZIMPRICH et al., 2004; LI et al., 2005; ALMEIDA, 2013; MATA et al., 2006). Alguns estudos divergem quanto à

consideração de mutações patogênicas encontradas nesse gene. Vijayan et al. (2011) e Aasly et al. (2010) consideram seis mutações comprovadamente patogênicas: G2019S, I2020T, R1441C, R1441G, R1441H, Y1699C. Já Dachsel et al. (2010), acreditam que seriam sete mutações, incluindo a mutação G2385R ao grupo já citado. O estudo de Corti O. et al. (2011) descreve também sete mutações como patogênicas (N1437H, R1441G/C/H, Y1699C, I2020T e G2019S), mas as mutações G2385R e R1628P são consideradas como fatores de risco específicos para população asiática (ALMEIDA, 2003).

Tabela 2 – Distribuição das mutações no LRRK2 por domínio/região

Região	Patogênico		Incerto	
	Mutação n (%)	Famílias n (%)	Mutação n(%)	Famílias n (%)
N-Terminal	-	-	9 (13.4%)	11 (10.4%)
Ankyrin-like	-	-	4 (5.9%)	9 (8.5%)
L1	-	-	3 (4.4%)	3 (2.8%)
LRR	-	-	11 (16.4%)	21 (20%)
L2	-	-	1 (1.5%)	2 (1.9%)
ROC	3 (50%)	162 (17.2%)	7 (10.4%)	16 (15,2%)
COR	1 (16.7%)	2 (0.2%)	13 (19.4%)	19 (18%)
Kinase	2 (33.3%)	775 (82.5%)	6 (8.9%)	6 (5.7%)
L3	-	-	2 (2.9%)	2 (1.9%)
WD40	-	-	11 (16.4%)	16 (15,2%)
Total	6	939	67	105

Extraído de: <http://www.molgen.vib-ua.be/PDmutDB>.

A mutação de maior destaque comprovadamente em diversos estudos é a G2019S, responsável por 5-6% da DP familiar e 1-2% da DP esporádica (LI et al., 2014). Localizada no exon 41, caracteriza-se pela substituição do aminoácido glicina por uma serina, levando uma mudança estrutural do domínio kinase da proteína sintetizada pelo LRRK2, que, contudo, não modifica a estrutura geral da proteína (ALMEIDA, 2013; MOURA et al., 2008; Mata et al., 2006). Esta mutação potencializa a atividade quinase da proteína e demonstrou ser neurotóxica em alguns estudos (MOURA et al., 2008; ALMEIDA, 2013).

Sua prevalência é afetada pela descendência étnica, sendo mais frequente em pacientes com DP do norte da África (30-40%) e entre judeus Ashkenazi (10-30%)

(OZELIUS et al., 2006; LESAGE et al., 2006; LI et al., 2014; ALMEIDA, 2013). Segundo Lesage et al. (2005), há sinais de que tenha surgido no século XIII, com propagação para o norte da África e alguns países da Europa. Sua penetrância é incompleta e está relacionada à idade. Kachergus et al. (2005) observaram que em indivíduos heterozigotos, a variação com a idade pode aumentar de 17% aos 50 anos para 85% aos 70 anos. Outro estudo, Healy et al. (2008) relataram que esta variação é de 28% aos 59 anos, 51% aos 69 anos e 74% aos 79 anos, independente do sexo. Contudo em algumas populações esse fato não é consolidado, o que remete a etiologia multifatorial da DP, tendo que levar em consideração outros fatores, como os ambientais, necessários para a manifestação da doença (MOURA et al., 2008).

As mutações R1441C, R1441G e R1441H se localizam no mesmo domínio ROC do gene LRRK2, no exon 31. Em relação à sua distribuição geográfica, a R1441C é a segunda mutação mais prevalente, encontrada inicialmente em uma família da América do Norte, e posteriormente em famílias caucasianas pequenas (ZIMPRICH et al., 2004; HAUGARVOLL et al., 2009). A mutação R1441G é mais prevalente em famílias no Norte da Espanha, notadamente no país Basco (PAISAN-RUIZ et al., 2004). Já a mutação R1441H divergentemente do observado nas mutações anteriores foi descrita em um grande numero de pacientes com DP tanto familiar quanto esporádica, em vários países como: Taiwan, Portugal, Inglaterra, França, Grécia e Austrália (ZIMPRICH et al., 2004; HAUGARVOLL et al., 2009; ALMEIDA, 2013).

Entre a população asiática foi descoberta uma nova variante no gene LRRK2, considerada um fator de risco para o desenvolvimento de DP, a mutação G2385R (DI FONZO et al., 2006; FARRER et al., 2007; TAN et al. 2007). Ela ocorre no exon 48 e consiste na troca do aminoácido glicina por um resíduo de arginina, o que reduz a carga positiva do domínio. Esta modificação implica em alteração no domínio WD40 da proteína codificada e conduz a uma redução na interação entre outras proteínas, além de bloquear a atividade quinase da proteína (TAN. et al., 2007) Di Fonzo et al. (2006) observaram a presença dessa variante em cerca de 10% da população chinesa de Taiwan com DP e em 5% dos indivíduos controles, não sendo a mesma verificada entre os ocidentais (KHAN et al., 2005; DI FONZO et al., 2006). Assim, foi proposto que essa mutação seja um fator comum de risco para o desenvolvimento da DP específico dos asiáticos.

Tabela 3 – Resumo das mutações patogênicas e possivelmente patogênicas do LRRK2

Troca de nucleotídeo	Localização	Aminoácido substituído	Segregação da doença demonstrada	População original	Domínio
2378G>T	Exon 19	R793M	NR	Europeia	Repetição Ankyrin
2789A>G	Exon 21	Q930R	NR	Europeia	-
3200G>A	Exon 24	R1067Q	NR	Ásia	LRR
3287C>G	Exon 24	S1096C	NR	Europeia	LRR
3342A>G	Exon 24	L1114L	Yes	Europeia	Splicing
3364A>G	Exon 25	I1122V	Yes	Europeia	LRR
3683G>C	Exon27	S1228T	NR	Europeia	LRR
4111A>G	Exon 29	I1371V	NR	Leste da Índia	ROC
4321C>T	Exon 31	R1441C	Yes	Europeia	ROC
4321C>G	Exon 31	R1441G	Yes	Europeia	ROC
4322G>A	Exon 31	R1441H	NR	Ásia, Europeia	ROC
+3A>G	IVS 31	NA	NR	Europeia	Splicing
4541G>A	Exon 32	R1514Q	NR	Europeia	COR
+6T>A	IVS33	NA	NR	Ásia	Splicing
5096A>G	Exon 35	Y1699C	Yes	Europeia	COR
5606T>C	Exon 38	M1869T	NR	Europeia	COR
5822G>A	Exon 40	R1941H	NR	Europeia	Kinase
6035T>C	Exon 41	I2012T	Yes	Ásia	Kinase
6055G>A	Exon 41	G2019S	Yes	Europeia, Norte da África	Kinase
6059T>C	Exon 41	I2020T	Yes	Europeia, Ásia	Kinase
7067C>T	Exon 48	T2356I	NR	Europeia	WD40
7153G>A	Exon 48	G2385R	NR	Ásia	WD40

Abreviações: IVS - Sequencia Interveniente, NA – Não aplicável, NR – Não reportado.

Extraído de: Mata IF et al. TRENDS in Neurosciences.2006.

Em geral a apresentação clínica nas mutações do LRRK2 é semelhante à DP idiopática, caracterizada por uma doença de início tardio, de acometimento assimétrico com bradicinesia, rigidez, tremor e boa resposta a Levodopa (GASSER, 2009; HARDY et al., 2009). Notou-se também que os pacientes de sexo feminino que apresentavam a mutação G2019S tinham idade de início da doença cerca de 10 anos mais precoce em relação ao sexo masculino (LI et al., 2014). O tremor é bem significativo nessa mutação, muitas vezes definida como uma doença “tremor-dominante” (PAISAIN-RUIZ et al., 2004; NUYTEMANS et al., 2008).

Gaig et al. (2014) analisaram em seu estudo pacientes espanhóis com mutações para LRRK2 e pacientes com DP idiopática. Foi evidenciado que sintomas não motores DP ocorreram tanto nos paciente com mutação para o LRRK2 com variante G2019S quanto para os pacientes com DP idiopática com frequências relativamente semelhantes. O único sintoma não motor que diferiu entre esses dois grupos foi a hiposmia, ocorrendo em 39% dos pacientes com mutação LRRK2 em contraste com 75% dos pacientes com DP idiopática. Também em outros estudos a prevalência de anormalidade do olfato em LRRK2-PD foi encontrada na faixa de 36 a 49%, significativamente inferior ao PD idiopática (75-81%).

Gaig et al. (2014) também demonstraram que a frequência de Transtorno Comportamental do Sono REM (TCSREM) tende a ser menor em casos de LRRK2-DP do que em PD idiopática, embora a diferença não foi estatisticamente significativa. A prevalência de TCSREM na PD idioática relatado na literatura varia de 15% a 46%. Outro estudo demonstrou que sintomas de TCSREM foram encontrados em apenas 11% dos pacientes LRRK2-PD, em comparação com 42% dos pacientes com DP indiopático.

A análise genética constitui uma importante ferramenta para a pesquisa de novos tratamentos que buscam evitar a neurodegeneração na PD. Baseado nos estudos genéticos aprofundados no LRRK2, cientistas focaram na descoberta de inibidores de pequenas moléculas do LRRK2 para criação de novos medicamentos. Contudo, o potencial terapêutico desses inibidores ainda não está claro, também toxicidades significativas em algumas de suas classes têm sido referidas em cobaias.

Daher et al. (2015), realizaram um estudo em ratos de tipo selvagem e ratos transgênicos G2019S-LRRK2. Estes ultimos apresentavam neurodegeneração e inflamação exacerbada em resposta a excessiva expressão de α -sinucleína. Os

ratos foram tratados com um inibidor (PF-06447475) durante 4 semanas. Esse inibidor minimizou tanto a neurodegeneração quanto a neuroinflamação causada nos ratos que expressavam G2019S-LRRK2. Foi notado que no experimento também os ratos do tipo selvagem apresentaram neuroproteção. Não foi possível detectar indícios patológicos adversos no pulmão, rim ou fígado dos ratos tratados. Estes resultados demonstraram que a inibição farmacológica do LRRK2 é bem tolerada por um período de quatro semanas e pode neutralizar a neurodegeneração dopaminérgica causada pela expressão aguda da α -sinucleína.

2.4 Análise genética na população brasileira

A população brasileira é formada por uma extensa mistura entre ameríndios, europeus e africanos, se tornando uma das mais variáveis no mundo. Pela grande diversidade populacional, estudos genéticos se tornaram alvos da atenção de diversos cientistas para o melhor esclarecimento de enfermidades, principalmente as de caráter familiar e degenerativas. Contudo, essa análise encontrou diversos obstáculos, uma vez que, em países de dimensões continentais, como o Brasil, a base genética da população difere entre regiões distintas, sendo os níveis mais acentuados de mistura observados na região Sudeste. Desta forma, para que estudos possam ter maior confiabilidade, uma série maior de pacientes em diferentes regiões do país é necessária para verificar a dispersão genética geográfica (PIMENTEL et al., 2008). Entre as doenças mais estudadas atualmente, destacam-se as de comportamento neurodegenerativos, principalmente DP e DA.

A DP por ser uma doença multifatorial, sofrendo influências de diversos fatores ambientais e genéticos, apresenta grandes dificuldades para o rastreamento de genes específicos que poderiam estar relacionados com a susceptibilidade da doença (ZAVARIZ; LIMEIRA, 2012; FOLTYNIE et al., 2002). Os principais estudos brasileiros a ela relacionados visam o esclarecimento genético principalmente das formas de heranças monogênicas, entretanto há uma limitação na efetuação desses estudos justamente pela baixa incidência do padrão monogênico na população brasileira (FOLTYNIE et al., 2002). Outra restrição encontrada na definição do tipo de herança corresponde à sua variabilidade genotípica e fenotípica, de modo que,

por exemplo, em duas populações com mutações distintas em um mesmo gene pode haver manifestações clínicas diferentes. Um achado interessante que leva a uma “confusão” na diferenciação entre heranças AD e AR foi à demonstração em várias análises da presença de mutação heterozigótica em uma doença com padrão AR, atuando como fator de susceptibilidade e resultando no fenômeno dominante-negativo.

A contribuição genética tem fundamental importância, pois o conhecimento aprofundado nessa área poderá constituir avanços terapêuticos e melhorar, futuramente, a condução médica da doença (CHIEN, 2007). Dentre as melhorias esperadas, destaca-se a descoberta de novos agentes neuroprotetores atuando de forma preventiva, e medidas que possam interferir no curso da doença, como a Terapia Gênica (CHIEN, 2007; FONTES et al., 2011). Esta última se caracteriza por introdução, correção ou inativação de material genético, como forma de obter benefícios para o organismo, nela sequências nucleotídicas específicas são intencionalmente introduzidas ou modificadas em células ou tecidos humanos. A Terapia Gênica representa uma esperança de tratamento para um grande número de doenças até hoje consideradas incuráveis por métodos convencionais (FONTES et al., 2011).

Atualmente, a análise genética em pacientes com DP continua sendo indicada apenas para fins de caráter científico, visto que a identificação precoce de mutações genéticas não irá auxiliar ou alterar a terapêutica empregada na prática clínica, pois ainda não foi estabelecido um tratamento específico que atue alterando a história natural da doença (CHIEN, 2007).

Dentre os principais genes que se tem estudo na população brasileira destacam-se: LRRK2, PARKIN, PINK1, ATP13A2 e mutações na glucocerebroside (GBA).

2.4.1 Estudos do LRRK2 (PARK8) em populações brasileiras.

Realizamos uma revisão sistemática sobre estudos referindo-se à pesquisa de mutações no LRRK2 em pacientes brasileiros. Foram realizadas buscas nos seguintes bancos de dados: PubMed, Lilacs, SciELO. Os descritores utilizados para a presente revisão foram: “Parkinson's disease”, “Neurodegenerative disease”, “Leucine-rich repeat kinase 2”, “LRRK2”, “G2019S mutation”, “Dardarin” e

“Brazil”. Nas bases de dados em português foram utilizados os mesmos termos, com seus equivalentes na língua portuguesa. Na seleção dos artigos, não houve restrição quanto à população, sexo ou idade dos pacientes ou mutações estudadas, nem mesmo quanto à metodologia de estudo e técnica utilizada. Da mesma forma, não foi realizada distinção entre parkinsonismo familiar e esporádico, assim como precoce e tardio. Os critérios de inclusão foram: artigos completos e originais relacionados à genética na DP em populações brasileiras e também artigos voltados à pesquisa exclusiva da mutação LRRK2 em populações brasileiras. A revisão do presente estudo abrangeu todos os estudos brasileiros publicados até 2015. Foram analisados 30 estudos brasileiros sobre genética na DP em toda a revisão, sendo encontrados 12 artigos sobre o LRRK2 na população brasileira.

Mutações no gene LRRK2 são consideradas como as mais relevantes causas de parkinsonismo genético em diferentes populações. Como já referido anteriormente, na Europa e nos Estados Unidos, a mutação G2019S no gene LRRK2 é a mais comum, sendo encontrada em cerca de 5% dos casos de DP familiar e 2% da forma esporádica (COOKSON et al.,2005; GOLDWURM et al.,2005). Existem vários estudos sobre PARK8 em amostras que incluem pacientes brasileiros.

Di Fonzo et al. (2005) descreveram 61 famílias com padrão autossômico dominante (AD), sendo 4 famílias portadoras da mutação G2019S, ou seja 6,6%, o que relaciona LRRK2 a neurodegeneração. Chien (2007) encontrou em seu estudo essa mutação em uma incidência de 12,5% (2 casos em 16 casos com história familiar positiva).

Munhoz et al. (2008) descreveram em seu trabalho que dentre 83 pacientes brasileiros (pré-selecionados para ter um início precoce de doença e/ou uma história familiar positiva), 3 pacientes (3,5%) apresentavam a mutação G2019S. No seu estudo foram avaliados pacientes gêmeos homozigotos os quais desenvolveram DP assimétrica direita. A apresentação clínica de gêmeos era surpreendentemente similar incluindo o início da doença exatamente com a mesma idade (60 anos).

Aguiar et al. (2008) avaliaram mutações L1114L, I1122V, R1441C, Y1699C, e G2019S por sequenciamento direto em 72 pacientes brasileiros portadores de DP hereditária de início precoce, e encontraram quatro pacientes com a mutação

G2019S. Mutações no LRRK2 representaram 5,5% de todas as mutações encontradas.

Santos-Rebouças et al. (2008) descreveram um paciente brasileiro com a mutação G2019S que apresentava DP e DA simultaneamente. Os mesmos autores em 2009 pesquisaram pela mutação G2019S em 180 casos consecutivos de pacientes brasileiros com DA e encontraram um caso positivo, e o paciente não apresentava sinais de parkinsonismo.

Barsottini et al. (2009) examinaram 119 pacientes com diagnóstico de DP provenientes do setor de distúrbios de movimentos da UNIFESP e de consultórios privados na cidade de São Paulo. Pesquisaram as mutações: L1114L, I1122V, R1441C, Y1699C e G2019S por sequenciamento direto. Nessa amostra foram incluídos vários pacientes com início dos sintomas antes da idade de 50 anos. Foram identificados quatro pacientes com mutação G2019S, uma frequência de 3,36%. Neste estudo, as principais características dos pacientes portadores de mutações no gene LRRK2 eram: predominância da mutação no sexo feminino, o longo tempo de doença e história familiar não relevante de DP (embora 75% dos pacientes tiveram consangüinidade de primeiro e segundo grau). O sintoma inicial dos quatro casos foi tremor e três casos desenvolveram discinesias induzidas pela levodopa.

Camargos et al. (2009) avaliaram pacientes em seguimento na Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, em Belo Horizonte. 202 pacientes foram diagnosticados como Doença de Parkinson Idiopática, sendo 45 pacientes com início precoce da doença. Sequenciaram o gene LRRK2 em uma amostra de oito pacientes com diagnóstico de DP familiar de início tardio (>40 anos) e não encontraram nenhuma mutação G2019S. Contudo, um caso típico de DP autossômica dominante clássica foi encontrado, uma variante Q923H localizada no exon 21 do gene.

Abdalla-Carvalho et al. (2010) estudaram 204 pacientes com DP, sendo 197 pacientes brasileiros e 7 pacientes portugueses. Realizaram o sequenciamento dos domínios ROC e MAPKKK do gene LRRK2 nesses 197 pacientes brasileiros, que foram recrutados em vários hospitais na cidade do Rio de Janeiro. Eles observaram que a mutação patológica mais prevalente nessa amostra foi a p.G2019S, identificada em 2,4% dos casos de DP. Nesse estudo foi considerado

que as variantes p.T1410M e p.Y2189C seriam provavelmente polimorfismos e que a mutação p.C2139S poderia ser potencialmente patogênica.

Moura et al. e Pimentel et al. (2008) pesquisaram a presença de mutações nos exons 31 e 41 do gene LRRK2, através do seqüenciamento automático, em uma amostra de 154 pacientes brasileiros não aparentados com DP familiar ou esporádica, incluindo casos de manifestação precoce ou tardia da doença. A mutação LRRK2 p.G2019S foi identificada em heterozigose em três probandos (2%).

Chien et al. (2014) realizaram um estudo onde foram recrutados pacientes portadores de DP em seguimento no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP) e da Associação Brasileira de Parkinson. Cerca de 100 pacientes foram analisados através da reação de PCR, principalmente quanto à presença da mutação G2019S. Na presente amostra analisada não foram identificadas mutações, provavelmente em decorrência ao pequeno número de pacientes incluídos.

Spitz et al. (2015) descreveram um paciente brasileiro heterozigoto para mutações no gene GBA (L444P) e LRRK2 (G2019S) e verificaram que outros 5 parentes apresentavam as mesmas mutações simultaneamente mas sem apresentar parkinsonismo.

Bertucci Filho (2015) analisou geneticamente 66 pacientes com parkinsonismo de início precoce e encontrou apenas uma paciente (1,57%) com mutação para LRRK2, na forma heterozigótica para variante patogênica G2019S. A manifestação inicial dessa paciente foi tremor em membro superior direito, desenvolvendo mais tarde o quadro clínico completo de DP, ela relatava a presença de distonia na fase inicial da doença, antes do uso da levodopa.

Apesar de todos esses estudos, não é possível ainda determinar com precisão a frequência da mutação G2019S na população brasileira, ou a importância do PARK8 como causa de DP em pacientes brasileiros. Nossa população pode ser mais afetada devido à sua descendência portuguesa, já que na população de Portugal existe uma alta prevalência dessa mutação, conforme demonstrado por alguns estudos (PAISAN-RUIZ et al., 2005).

Tabela 4 – Estudos brasileiros sobre o LRRK2

Estudo	Autores/Ano	Amostra	Mutação	Porcentagem
“A frequent LRRK2 gene mutation associated with autosomal dominant Parkinson’s Disease”	Di Fonzo et.al, 2005	61 famílias com DP	G2019S	4 famílias - 6,6% dos pacientes
“Estudo genético na Doença de Parkinson”	Chien et.al, 2007	16 pacientes com padrão AD	G2019S	12,5% (2/16)
“Genetic and Environmental findings in early-onset Parkinson’s Disease Brazilian Patients”	Aguiar et. al, 2008	72 pacientes	G2019S	4 pacientes – 5,5%
“The G2019S LRRK2 mutation in Brazilian patients with Parkinson’s disease: Phenotype in monozygotic twins”	Munhoz et. al, 2008	83 pacientes com DP precoce e HF positiva	G2019S	3 pacientes - 3,5%
“Co-occurrence of Sporadic Parkinsonism and Late-Onset Alzheimer’s Disease in a Brazilian Male with the LRRK2 p.G2019S Mutation”	Santos-Rebouças et.al, 2008	Um paciente analisado com DA e parkinsonismo	G2019S	-
“A study of LRRK2 mutations and Parkinson’s disease in Brazil”	Pimentel et.al, 2008 e Moura et.al, 2008	154 pacientes	G2019S	3 pacientes, ~2%
“Clinical and molecular neuroimaging characteristics of Brazilian patients with Parkinson’s disease and mutations in PARK2 or PARK8 genes”	Barsottini et al, 2009	119 pacientes com menos de 50 anos	G2019S	4 pacientes, 3,36%
“Familial Parkinsonism and early onset Parkinson’s disease in a Brazilian Movement Disorders clinic: Phenotypic characterization and frequency of SNCA, PRKN, PINK1 and LRRK2 mutations”	Camargos et. al, 2009	202 pacientes, 45 com DP precoce	Q923H no exon 21	Um paciente, 0,49%
“Genetic analysis of LRRK2 functional domains in Brazilian patients with Parkinson’s disease”	Abdalla-Carvalho et. al, 2010	204 pacientes	G2019S	2,4%
“ Frequency of LRRK2 G2019S mutation in late-onset sporadic patients with Parkinson’s disease”	Chien et. al, 2014	100 pacientes	-	-
“Association of LRRK2 and GBA	Spitz et al,	1 paciente	GBA	-

continua

conclusão

Estudo	Autores/Ano	Amostra	Mutação	Porcentagem
mutations in Brazilian Family with Parkinson's disease"	2015		(L444P) e LRRK2 (G2019S)	
"Frequência e fenótipo de variantes dos genes PARK2 e LRRK2 em pacientes com parkinsonismo de início precoce"	Bertucci Filho, 2015	66 pacientes	G2019S	1,52%

Abreviações: DP – Doença de Parkinson, AD – autossômica dominante, HF – História familiar, DA – Demência de Alzheimer.

3. OBJETIVOS

- Verificar a frequência de mutações no gene PARK8/LRRK2 em uma amostra de pacientes Brasileiros portadores de Doença de Parkinson, em seguimento no Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto e no Hospital São Paulo da UNIFESP.
- Descrever as principais correlações clínicas encontradas nos pacientes com mutações.

4. MÉTODOS

4.1 Projeto LARGE-PD

O Latin American Research Consortium on The Genetics of PD (LARGE-PD) nasceu em 2005 como uma colaboração de toda a América Latina, no intuito de aumentar o conhecimento sobre a DP nesses países. Para o melhor entendimento da fisiopatologia molecular na DP, os estudos genéticos assim como os estudos epidemiológicos demonstraram serem ferramentas valiosas. Esse consórcio está prestes a se tornar o primeiro estudo na América Latina que permitirá ir mais a fundo sobre fatores genéticos e ambientais correlacionados ao desenvolvimento da DP, principalmente no sentido da descoberta de novos genes de susceptibilidade para a doença.

Os benefícios adicionais para essa abordagem incluem: (1) fornecer uma base racional para seleção de mutações para testes genéticos clínicos dentro de regiões geográficas específicas, e (2) identificar subgrupos de pacientes com alto risco para o desenvolvimento da DP que seriam candidatos para futuros ensaios clínicos para drogas neuroprotetoras.

Atualmente o consórcio é composto por amostras de pacientes procedentes de seis grandes centros acadêmicos localizados em cinco países diferentes: Argentina, Brasil, Colômbia, Peru e Uruguai. Os médicos Dr. Ignacio Mata e Dr. Cyrus Zabetian da Universidade de Washington em Seattle são os coordenadores do consórcio, de modo a garantir a coleta de dados padronizada, o armazenamento do DNA e o controle de qualidade.

Até 2012, foram armazenadas cerca de 1.750 amostras de DNA de pacientes portadores de DP e cerca de 1.650 amostras de controles.

4.2 Orçamento

Este estudo foi desenvolvido com recursos financeiros obtidos junto a PARKINSON'S DISEASE FOUNDATION para financiamento do projeto LARGE-PD.

4.3 Coleta de dados

A coleta de dados do presente estudo foi padronizada através de um questionário aplicado em 282 pacientes com diagnóstico de DP recrutados de forma aleatória de ambulatórios especializados em Distúrbios do Movimento, com atendimentos realizados no Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (USP) e no Hospital São Paulo da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), no período entre os anos de 2007 e 2014. Tal questionário apenas foi aplicado mediante a autorização do paciente por assinatura de um termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO A). O estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do HCFMRP-USP (ANEXO B).

4.4 Diagnóstico e avaliação dos pacientes

Os pacientes foram diagnosticados com Doença de Parkinson mediante os critérios diagnósticos do Banco de Cérebro de Londres (HUGHES et al., 1992).

Tabela 5 – Critérios Diagnósticos do Banco de Cérebro de Londres para Doença de Parkinson

<p>I) Diagnóstico da síndrome parkinsoniana</p> <p>Bradicesia associada a pelo menos um dos seguintes:</p> <ul style="list-style-type: none"> a) Rigidez; b) Tremor de repouso de 4-6Hz; c) Instabilidade postural não causada por alterações visuais, vestibulares, cerebelar ou disfunção proprioceptiva.
<p>II) Critérios de exclusão</p> <ul style="list-style-type: none"> a) História de isquemias cerebrais recorrentes ou evolução em escada das características parkinsonianas; b) Traumas encefálicos de repetição; c) História de encefalite definida; d) Crises oculógiras; e) Tratamento com neurolépticos no início dos sintomas; f) Remissão sustentada;

-
- g) Mais de um familiar afetado;
 - h) Sintomas estritamente unilaterais por mais de três anos;
 - i) Paralisia supranuclear do olhar;
 - j) Sinais cerebelares;
 - k) Disautonomia grave precoce;
 - l) Demência precoce com distúrbios de memória, linguagem e praxias;
 - m) Sinal de Babinski;
 - n) Tumor cerebral ou hidrocefalia em estudo de imagem;
 - o) Exposição a tetra-hidropteridina (MPTP);
 - p) Resposta negativa à levodopa, a despeito de altas doses, na ausência de má-absorção.
-

III) Critérios de suporte prospectivos

Três ou mais dos seguintes para o diagnóstico:

- a) Início unilateral, acometimento assimétrico.
 - b) Presença de tremor de repouso;
 - c) Doença progressiva;
 - d) Assimetria persistente afetando principalmente o lado de início da doença;
 - e) Resposta excelente à levodopa (melhora de 70 a 100%);
 - f) Resposta a levodopa por cinco anos ou mais;
 - g) Discinesia induzida pela terapia com levodopa;
 - h) Evolução clínica de dez anos ou mais.
-

Foram excluídos os pacientes menores de 18 anos e com manifestações atípicas na evolução da doença ou outras condições que levariam a um parkinsonismo: disautomias precoces, alterações precoces da movimentação ocular, sintomas unilaterais persistentes, má resposta a levodopa, lesões estruturais visualizadas em métodos de imagens que poderiam resultar em parkinsonismo, parkinsonismo medicamentoso, demência precoce (sua ocorrência em um tempo inferior a um ano depois da instalação do parkinsonismo).

Os pacientes incluídos no estudo foram avaliados pelas seguintes dispositivos:

- Escala Unificada de Avaliação da Doença de Parkinson – versão da *Movement Disorders Society* (MDS-UPDRS), partes 1, 2, 3 e 4 (C.G. GOETZ et al., 2008) (ANEXO C);

- Avaliação cognitiva pelo teste de Montreal, Moca – *Montreal Cognitive Assessment* (BERTOLUCCI; SARMENTO; WAJMAN, 2007) (ANEXO D);
- Escala de estadiamento motor Hoehn e Yahr (SHENKMAN ML et al. 2001) (ANEXO E);
- Questionário fornecido pelo projeto LARGE-PD, abrangendo: histórico familiar; medicações em uso ou já utilizadas para o tratamento da doença, interrogatório do estilo de vida do paciente, exposição a agrotóxicos, uso de cafeínas, uso de anti-inflamatórios não hormonais, uso de refrigerantes, tabagismo e atividade física (ANEXO F).

4.5 Nomenclatura dos pacientes

Os pacientes foram catalogados em dois grandes centros de referência em Distúrbios do Movimento: no Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (USP) e no Hospital São Paulo da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP). Em Ribeirão Preto adotou-se a sigla RPP seguida pelos quatro últimos números do registro do prontuário médico de cada paciente portador de DP, caso houvesse repetição dos quatro últimos números em mais de um paciente, acrescentou-se ao final dos números a letra encontrada no final de cada registro (como exemplo, RPP 4353C e RPP 4353H). Já no Hospital São Paulo da UNIFESP, adotou-se a sigla SPP seguida por um número de quatro dígitos que corresponde à ordem de aplicação do questionário (como exemplo, primeiro paciente portador de DP avaliado: SPP0001).

4.6 Análise do DNA

A extração do DNA genômico dos leucócitos foi realizada através da coleta de sangue periférico. O material genético colhido foi devidamente armazenado no laboratório de Neurociências da FMRP-USP. Posteriormente, alíquotas desse

material foram enviadas a Seattle, onde a análise genética ocorreu no laboratório do Dr Cyrus Zabetian na Universidade de Washington.

Todas as amostras sanguíneas foram analisadas quanto a presença de G2019S e quanto ao conjunto das três substituições no códon 1441 (p.R1441C / G / H), que são as mutações LRRK2 mais comuns em todo mundo. O p.G2019S foi genotipado através de Ensaio de expressão gênica TaqMan (C_63498123_10 – um sistema que simplifica o processo de extração de DNA por ser bastante rápido, sendo possível obter DNA bastante puro para ser utilizado em processos de Reação em Cadeia da Polimerase/PCR). O DNA genômico (5ng/ul) foi misturado com ABI Master Mix (2,5ul), 40x Assay Mix (0,125ul) e água (1,375ul) para cada amostra. A discriminação alélica pela reação da PCR foi executada em um sequenciador automático ABI 7900HT, utilizando os padrões cíclicos Taqman das condições ABI (50 ciclos). Os controles positivos para os três genótipos (confirmado por sequenciação) foram incluídos em todas as corridas de genotipagem.

Todas as amostras encontradas pelo Taqman carreadoras de p.G2019S foram então sequenciadas para confirmação. O DNA genômico (5ng/ul) foi amplificado utilizando o kit JumpStart Taq DNA polimerase. Utilizou-se 0,75 ul de tampão Jumpstart (10x), 0,15 ul de Jumpstart Taq (2,5 U / ul), 0,6 de trifosfatos de desoxinucleósidos (DNTPs; 2.5uM), 0,375ul de cada iniciador (10 uM) e 4,25ul de água. Foram usadas condições de ciclagem do padrão K. Touchdown: 94 ° C durante 3 minutos, 10 ciclos de 94 ° C durante 30 segundos, 70 ° C durante 30 segundos (um grau decrescente em cada ciclo) e 72 ° C durante 30 segundos, e 30 ciclos de 94 ° C durante 30 segundos, 60 ° C durante 30 segundos e 72 ° C durante 30 segundos. As temperaturas de “recozimento” eram dependentes dos “primers” (parte das fitas de DNA). Foi sequenciado o exon 41 do LRRK2 utilizando o Kit de sequenciamento cíclico Applied Biosystems Big-Dye Terminator v3.1, e a análise foi realizada através da utilização do software Mutation Surveyor. As substituições do códon 1441 foram genotipadas através do sequenciamento do exon 31 do LRRK2, utilizando também o kit de sequenciamento cíclico Applied Biosystems Big-Dye Terminator v3.1, e análise também foi realizada pelo software Mutation Surveyor. As condições de PCR foram as mesmas tal como descrito antes para o exon 41.

5. RESULTADOS

Um total de 282 pacientes com parkinsonismo que preencheram critérios diagnósticos para DP responderam o questionário LARGE-PD. Desses, 229 tiveram seu DNA avaliado para pesquisa de mutações. Acredita-se que não foi possível análise do DNA de todos os pacientes participantes devido ao viés do risco de perda por algum erro no armazenamento e no envio do material.

Dos 229 pacientes, 178 foram incluídos no HC-FMRP-USP (77,72%) e 51 no HSP-UNIFESP (22,27%).

Tabela 6 – Amostra de pacientes com DNA avaliado para presença de mutação LRRK2

Número	Registro	Sexo	Idade na análise do DNA	Exon 41 Alelos	Exon 31 Alelos
1	RPP0037	Masculino	42	Normal (GG)	Normal (CC)
2	RPP0083	Feminino	53	Normal (GG)	Normal (CC)
3	RPP0142	Masculino	43	Normal (GG)	Normal (CC)
4	RPP0222	Feminino	83	Normal (GG)	Normal (CC)
5	RPP0223	Masculino	58	Normal (GG)	Normal (CC)
6	RPP0240	Masculino	53	Normal (GG)	Normal (CC)
7	RPP0259	Feminino	58	Normal (GG)	Normal (CC)
8	RPP0278	Feminino	47	Normal (GG)	Normal (CC)
9	RPP0312	Feminino	75	Normal (GG)	Normal (CC)
10	RPP0331	Masculino	63	Normal (GG)	Normal (CC)
11	RPP0452	Masculino	70	Normal (GG)	Normal (CC)
12	RPP0456	Feminino	59	Normal (GG)	Normal (CC)
13	RPP0487	Masculino	62	Normal (GG)	Normal (CC)
14	RPP0727	Feminino	51	Normal (GG)	Normal (CC)
15	RPP0749	Feminino	72	Normal (GG)	Normal (CC)
16	RPP0760	Feminino	63	Normal (GG)	Normal (CC)
17	RPP0781	Feminino	83	Normal (GG)	Normal (CC)
18	RPP0783	Masculino	60	Normal (GG)	Normal (CC)
19	RPP0825	Masculino	81	Normal (GG)	Normal (CC)
20	RPP0844	Masculino	61	Normal (GG)	Normal (CC)
21	RPP0870	Masculino	71	Normal (GG)	Normal (CC)
22	RPP0879	Masculino	71	Normal (GG)	Normal (CC)
23	RPP0884	Feminino	48	Normal (GG)	Normal (CC)
24	RPP0909	Masculino	27	Normal (GG)	Normal (CC)
25	RPP0925	Masculino	68	G2019S (GA)	Normal (CC)
26	RPP0997	Masculino	64	Normal (GG)	Normal (CC)
27	RPP1007	Masculino	41	Normal (GG)	Normal (CC)
28	RPP1008	Masculino	68	Normal (GG)	Normal (CC)
29	RPP1062	Masculino	60	Normal (GG)	Normal (CC)
30	RPP1065	Feminino	51	Normal (GG)	Normal (CC)
31	RPP1136	Masculino	75	Normal (GG)	Normal (CC)
32	RPP1236	Feminino	66	Normal (GG)	Normal (CC)

continua

Número	Registro	Sexo	Idade na análise do DNA	Exon 41 Alelos	Exon 31 Alelos
33	RPP1270	Feminino	75	Normal (GG)	Normal (CC)
34	RPP1368	Feminino	75	Normal (GG)	Normal (CC)
35	RPP1385	Feminino	67	Normal (GG)	Normal (CC)
36	RPP1442	Feminino	66	Normal (GG)	Normal (CC)
37	RPP1473	Feminino	83	Normal (GG)	Normal (CC)
38	RPP1545	Masculino	53	Normal (GG)	Normal (CC)
39	RPP1554	Masculino	64	Normal (GG)	Normal (CC)
40	RPP1575	Masculino	81	Normal (GG)	Normal (CC)
41	RPP1584	Masculino	37	Normal (GG)	Normal (CC)
42	RPP1593	Masculino	68	Normal (GG)	Normal (CC)
43	RPP1600	Feminino	52	Normal (GG)	Normal (CC)
44	RPP1658	Masculino	52	Normal (GG)	Normal (CC)
45	RPP1733	Feminino	70	Normal (GG)	Normal (CC)
46	RPP1810	Masculino	68	Normal (GG)	Normal (CC)
47	RPP1893	Feminino	59	Normal (GG)	Normal (CC)
48	RPP2035	Feminino	60	Normal (GG)	Normal (CC)
49	RPP2062	Masculino	57	Normal (GG)	Normal (CC)
50	RPP2113	Masculino	57	Normal (GG)	Normal (CC)
51	RPP2115	Feminino	46	Normal (GG)	Normal (CC)
52	RPP2131	Feminino	36	Normal (GG)	Normal (CC)
53	RPP2215	Feminino	74	Normal (GG)	Normal (CC)
54	RPP2222	Masculino	56	Normal (GG)	Normal (CC)
55	RPP2234	Feminino	75	Normal (GG)	Normal (CC)
56	RPP2285	Masculino	53	Normal (GG)	Normal (CC)
57	RPP2415	Feminino	45	Normal (GG)	Normal (CC)
58	RPP2467	Feminino	69	Normal (GG)	Normal (CC)
59	RPP2612	Feminino	79	Normal (GG)	Normal (CC)
60	RPP2644	Masculino	52	Normal (GG)	Normal (CC)
61	RPP2696	Feminino	83	Normal (GG)	Normal (CC)
62	RPP2761	Masculino	29	Normal (GG)	Normal (CC)
63	RPP2829	Masculino	66	Normal (GG)	Normal (CC)
64	RPP2869	Masculino	65	Normal (GG)	Normal (CC)
65	RPP3043	Masculino	54	Normal (GG)	Normal (CC)
66	RPP3051	Masculino	62	Normal (GG)	Normal (CC)
67	RPP3121	Feminino	59	Normal (GG)	Normal (CC)
68	RPP3149	Masculino	63	Normal (GG)	Normal (CC)
69	RPP3156	Feminino	76	Normal (GG)	Normal (CC)
70	RPP3174	Feminino	55	Normal (GG)	Normal (CC)
71	RPP3269	Masculino	62	Normal (GG)	Normal (CC)
72	RPP3275	Masculino	36	Normal (GG)	Normal (CC)
73	RPP3409	Masculino	53	Normal (GG)	Normal (CC)
74	RPP3449	Feminino	50	Normal (GG)	Normal (CC)
75	RPP3456	Masculino	59	Normal (GG)	Normal (CC)
76	RPP3465	Masculino	70	Normal (GG)	Normal (CC)
77	RPP3482	Masculino	49	Normal (GG)	Normal (CC)
78	RPP3529	Feminino	73	Normal (GG)	Normal (CC)
79	RPP3580	Masculino	30	Normal (GG)	Normal (CC)
80	RPP3636	Feminino	79	Normal (GG)	Normal (CC)
81	RPP3665	Masculino	41	Normal (GG)	Normal (CC)
82	RPP3694	Masculino	75	Normal (GG)	Normal (CC)
83	RPP3728	Masculino	42	Normal (GG)	Normal (CC)
84	RPP3795	Feminino	58	Normal (GG)	Normal (CC)
85	RPP3856	Feminino	46	Normal (GG)	Normal (CC)

Número	Registro	Sexo	Idade na análise do DNA	Exon 41 Alelos	Exon 31 Alelos
86	RPP3877	Feminino	54	Normal (GG)	Normal (CC)
87	RPP3884	Masculino	45	Normal (GG)	Normal (CC)
88	RPP4038	Feminino	69	Normal (GG)	Normal (CC)
89	RPP4238	Masculino	71	Normal (GG)	Normal (CC)
90	RPP4353	Feminino	52	Normal (GG)	Normal (CC)
91	RPP4353H	Masculino	59	Normal (GG)	R1441C (CT)
92	RPP4462	Feminino	56	Normal (GG)	Normal (CC)
93	RPP4476	Masculino	57	Normal (GG)	Normal (CC)
94	RPP4534	Masculino	62	Normal (GG)	Normal (CC)
95	RPP4589	Masculino	56	Normal (GG)	Normal (CC)
96	RPP4612	Masculino	62	Normal (GG)	Normal (CC)
97	RPP4726	Feminino	66	Normal (GG)	Normal (CC)
98	RPP4806	Masculino	70	Normal (GG)	Normal (CC)
99	RPP4827	Masculino	53	Normal (GG)	Normal (CC)
100	RPP4828	Masculino	51	Normal (GG)	Normal (CC)
101	RPP4849	Feminino	49	Normal (GG)	Normal (CC)
102	RPP4986	Masculino	67	Normal (GG)	Normal (CC)
103	RPP5004	Masculino	53	Normal (GG)	Normal (CC)
104	RPP5180	Feminino	70	Normal (GG)	Normal (CC)
105	RPP5272	Masculino	70	Normal (GG)	Normal (CC)
106	RPP5314	Masculino	64	Normal (GG)	Normal (CC)
107	RPP5420	Masculino	39	Normal (GG)	Normal (CC)
108	RPP5478	Feminino	33	Normal (GG)	Normal (CC)
109	RPP5534	Masculino	56	Normal (GG)	Normal (CC)
110	RPP5573	Feminino	41	Normal (GG)	Normal (CC)
111	RPP5598	Masculino	63	Normal (GG)	Normal (CC)
112	RPP5662	Masculino	42	Normal (GG)	Normal (CC)
113	RPP5683	Masculino	58	Normal (GG)	Normal (CC)
114	RPP5708	Masculino	68	Normal (GG)	Normal (CC)
115	RPP5849	Masculino	47	Normal (GG)	Normal (CC)
116	RPP5891	Feminino	74	Normal (GG)	Normal (CC)
117	RPP5975	Masculino	62	Normal (GG)	Normal (CC)
118	RPP6052	Masculino	56	Normal (GG)	Normal (CC)
119	RPP6100	Feminino	56	Normal (GG)	Normal (CC)
120	RPP6109	Masculino	72	Normal (GG)	Normal (CC)
121	RPP6121	Masculino	51	Normal (GG)	Normal (CC)
122	RPP6152	Masculino	72	Normal (GG)	Normal (CC)
123	RPP6156	Masculino	76	Normal (GG)	Normal (CC)
124	RPP6235	Feminino	60	Normal (GG)	Normal (CC)
125	RPP6694	Feminino	84	Normal (GG)	Normal (CC)
126	RPP6771	Masculino	53	Normal (GG)	Normal (CC)
127	RPP6833	Masculino	70	Normal (GG)	Normal (CC)
128	RPP6972	Feminino	48	Normal (GG)	Normal (CC)
129	RPP7017	Feminino	55	Normal (GG)	Normal (CC)
130	RPP7167	Feminino	71	Normal (GG)	Normal (CC)
131	RPP7230	Masculino	65	Normal (GG)	Normal (CC)
132	RPP7315	Masculino	59	Normal (GG)	Normal (CC)
133	RPP7503	Masculino		Normal (GG)	Normal (CC)
134	RPP7554	Feminino	79	Normal (GG)	Normal (CC)
135	RPP7555	Masculino	59	Normal (GG)	Normal (CC)
136	RPP7580	Feminino	48	Normal (GG)	Normal (CC)
137	RPP7646	Masculino	76	Normal (GG)	Normal (CC)
138	RPP7697	Masculino	90	Normal (GG)	Normal (CC)

Número	Registro	Sexo	Idade na análise do DNA	Exon 41 Alelos	Exon 31 Alelos
139	RPP7790	Masculino	63	Normal (GG)	Normal (CC)
140	RPP7941	Feminino	72	Normal (GG)	Normal (CC)
141	RPP7956	Feminino	56	Normal (GG)	Normal (CC)
142	RPP8059	Masculino	67	Normal (GG)	Normal (CC)
143	RPP8078	Feminino	51	Normal (GG)	Normal (CC)
144	RPP8161	Feminino	72	Normal (GG)	Normal (CC)
145	RPP8186	Feminino	71	Normal (GG)	Normal (CC)
146	RPP8199	Masculino	35	Normal (GG)	Normal (CC)
147	RPP8200	Feminino	51	Normal (GG)	Normal (CC)
148	RPP8236	Feminino	48	Normal (GG)	Normal (CC)
149	RPP8237	Masculino	39	Normal (GG)	Normal (CC)
150	RPP8239	Masculino	42	Normal (GG)	Normal (CC)
151	RPP8368	Masculino	68	Normal (GG)	Normal (CC)
152	RPP8447	Feminino	74	Normal (GG)	Normal (CC)
153	RPP8470	Feminino	60	Normal (GG)	Normal (CC)
154	RPP8560	Masculino	74	Normal (GG)	Normal (CC)
155	RPP8778	Feminino	46	Normal (GG)	Normal (CC)
156	RPP8828	Masculino	80	Normal (GG)	Normal (CC)
157	RPP8842	Masculino	39	Normal (GG)	Normal (CC)
158	RPP8857	Feminino	45	Normal (GG)	Normal (CC)
159	RPP8864	Masculino	53	Normal (GG)	Normal (CC)
160	RPP8877	Masculino	61	Normal (GG)	Normal (CC)
161	RPP8939	Masculino	82	Normal (GG)	Normal (CC)
162	RPP9010	Masculino	65	Normal (GG)	Normal (CC)
163	RPP9104	Masculino	47	Normal (GG)	Normal (CC)
164	RPP9213	Feminino	34	Normal (GG)	Normal (CC)
165	RPP9214	Masculino	79	Normal (GG)	Normal (CC)
166	RPP9386	Masculino	55	Normal (GG)	Normal (CC)
167	RPP9388	Masculino	55	Normal (GG)	Normal (CC)
168	RPP9413	Masculino	74	Normal (GG)	Normal (CC)
169	RPP9451	Feminino	65	Normal (GG)	Normal (CC)
170	RPP9543	Masculino	53	Normal (GG)	Normal (CC)
171	RPP9629	Masculino	78	Normal (GG)	Normal (CC)
172	RPP9642	Masculino	71	Normal (GG)	Normal (CC)
173	RPP9647	Masculino	52	Normal (GG)	Normal (CC)
174	RPP9699	Feminino	40	Normal (GG)	Normal (CC)
175	RPP9729	Masculino	38	Normal (GG)	Normal (CC)
176	RPP9740	Feminino	56	Normal (GG)	Normal (CC)
177	RPP9768	Feminino	70	Normal (GG)	Normal (CC)
178	RPP9869	Masculino	49	Normal (GG)	Normal (CC)
179	SPP0002	Masculino	58	Normal (GG)	Normal (CC)
180	SPP0003	Masculino	63	Normal (GG)	Normal (CC)
181	SPP0004	Masculino	66	Normal (GG)	Normal (CC)
182	SPP0005	Masculino	65	Normal (GG)	Normal (CC)
183	SPP0007	Masculino	69	Normal (GG)	Normal (CC)
184	SPP0008	Feminino	53	Normal (GG)	Normal (CC)
185	SPP0009	Feminino	58	Normal (GG)	Normal (CC)
186	SPP0011	Masculino	41	Normal (GG)	Normal (CC)
187	SPP0012	Feminino	64	Normal (GG)	Normal (CC)
188	SPP0014	Masculino	49	Normal (GG)	Normal (CC)
189	SPP0016	Masculino	49	Normal (GG)	Normal (CC)
190	SPP0017	Masculino	56	Normal (GG)	Normal (CC)
191	SPP0018	Feminino	41	Normal (GG)	Normal (CC)

Número	Registro	Sexo	Idade na análise do DNA	Exon 41 Alelos	Exon 31 Alelos
192	SPP0019	Masculino	47	Normal (GG)	Normal (CC)
193	SPP0020	Masculino	58	Normal (GG)	Normal (CC)
194	SPP0021	Masculino	59	Normal (GG)	Normal (CC)
195	SPP0022	Feminino	57	Normal (GG)	Normal (CC)
196	SPP0023	Masculino	47	Normal (GG)	Normal (CC)
197	SPP0024	Masculino	58	Normal (GG)	Normal (CC)
198	SPP0025	Masculino	67	Normal (GG)	Normal (CC)
199	SPP0026	Feminino	64	Normal (GG)	Normal (CC)
200	SPP0027	Feminino	60	Normal (GG)	Normal (CC)
201	SPP0029	Masculino	57	Normal (GG)	Normal (CC)
202	SPP0030	Masculino	75	Normal (GG)	Normal (CC)
203	SPP0031	Feminino	68	Normal (GG)	Normal (CC)
204	SPP0032	Masculino	68	Normal (GG)	Normal (CC)
205	SPP0033	Masculino	59	Normal (GG)	Normal (CC)
206	SPP0034	Feminino	55	Normal (GG)	Normal (CC)
207	SPP0035	Masculino	67	Normal (GG)	Normal (CC)
208	SPP0036	Masculino	57	Normal (GG)	Normal (CC)
209	SPP0037	Masculino	62	G2019S (GA)	Normal (CC)
210	SPP0038	Feminino	56	Normal (GG)	Normal (CC)
211	SPP0039	Feminino	65	Normal (GG)	Normal (CC)
212	SPP0040	Feminino	66	Normal (GG)	Normal (CC)
213	SPP0041	Feminino	63	Normal (GG)	Normal (CC)
214	SPP0042	Feminino	83	Normal (GG)	Normal (CC)
215	SPP0043	Masculino	58	Normal (GG)	Normal (CC)
216	SPP0044	Masculino	65	Normal (GG)	Normal (CC)
217	SPP0045	Feminino	56	Normal (GG)	Normal (CC)
218	SPP0046	Masculino	44	G2019S (GA)	Normal (CC)
219	SPP0047	Masculino	40	Normal (GG)	Normal (CC)
220	SPP0048	Feminino	50	Normal (GG)	Normal (CC)
221	SPP0049	Masculino	56	Normal (GG)	Normal (CC)
222	SPP0050	Masculino	64	Normal (GG)	Normal (CC)
223	SPP0051	Masculino	58	Normal (GG)	Normal (CC)
224	SPP0052	Masculino	72	Normal (GG)	Normal (CC)
225	SPP0055	Masculino	66	Normal (GG)	Normal (CC)
226	SPP0056	Masculino	81	Normal (GG)	Normal (CC)
227	SPP0057	Feminino	52	Normal (GG)	Normal (CC)
228	SPP0059	Masculino	70	Normal (GG)	Normal (CC)
229	SPP0061	Masculino	67	Normal (GG)	Normal (CC)

Em negrito – mutações encontradas na amostra.

Dos pacientes com o DNA analisado, 41 (17,9% - 41/229) apresentavam DP de início precoce (antes dos 40 anos) e 81 (35,8% - 82/229) apresentavam história familiar positiva para DP, incluindo familiares possivelmente afetados. No total de 148 (64,19% - 147/229) pacientes foram considerados como forma esporádica da doença.

Observado na amostra que 89 (38,86% - 89/229) pacientes eram do sexo feminino e 140 (61,13% - 140/229) eram do sexo masculino. A idade média de instalação dos sintomas foi de 49 ± 13 anos (variou entre 12 e 84 anos), e a idade média para o diagnóstico da doença foi de $51 \pm 11,75$ anos (variou entre 18 e 84 anos).

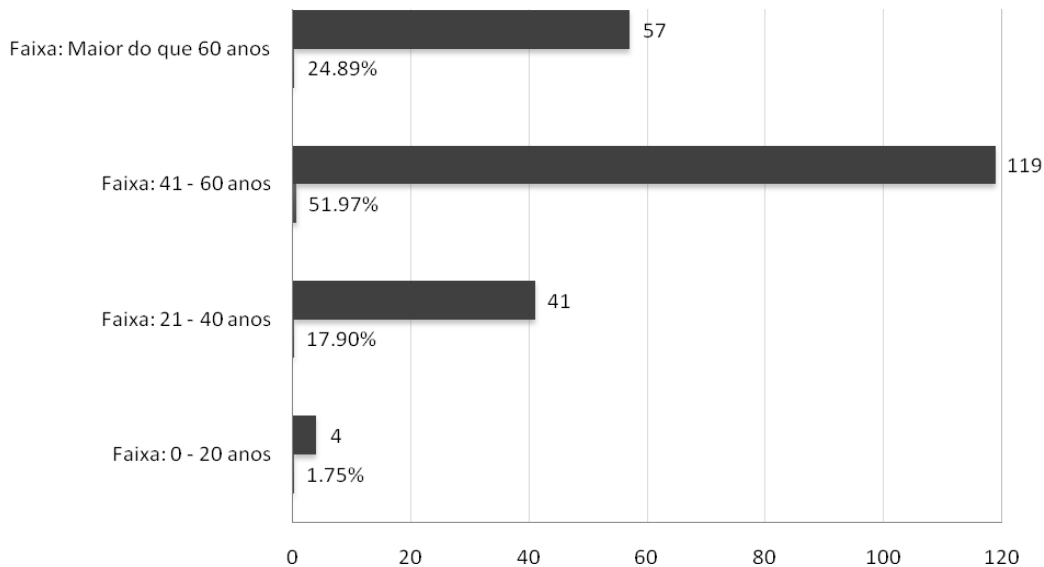


Gráfico 1 – Distribuição por faixa de idade do início das manifestações da doença

A primeira manifestação clínica apresentada pelos pacientes foi tremor (52,84% - 121/229), seguido por bradicinesia (15,72% - 36/229), seguido por rigidez (7,42% - 17/229). Em 188 (82,09% - 188/229) o início foi unilateral.

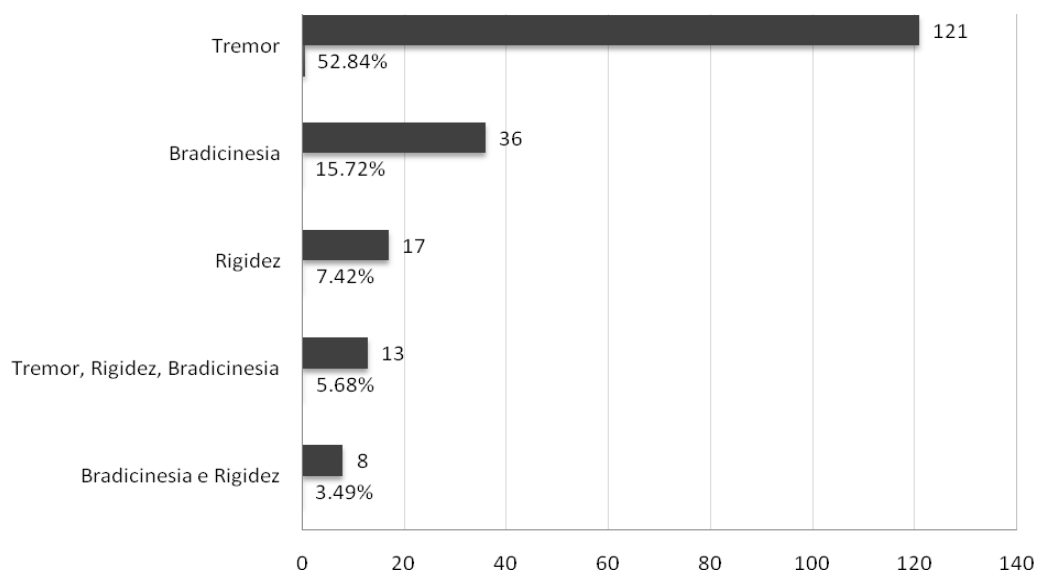


Gráfico 2 – Primeira manifestação clínica da DP

Dos pacientes analisados, 172 (75,1% - 172/229) estavam em uso de levodopa, 115 (50,21% - 115/229) estavam em uso de agonistas dopaminérgicos e 29 (12,66% - 29/229) já haviam feito uso de agonistas dopaminérgicos previamente. Entre os pacientes em uso de levodopa, 113 (65,69% - 113/172) ainda apresentavam boa resposta por mais de cinco anos de seu uso e 56 (32,55% - 56/172) manifestaram discinesias induzidas pela medicação.

Tabela 7 – Características clínicas da Amostra analisada

Número total de pacientes	229
Sexo M	140 (61,13%)
F	89 (38,86%)
Idade média de manifestação clínica	49 ± 13 anos
Início dos sintomas antes dos 40 anos	41 (17,9%)
Aposentados por invalidez pela doença	80 (34,93%)
Primeira manifestação clínica	Tremor (52,84%)
Em uso de levodopa	172 (75,1%)
Apresentando discinesias pela levodopa	56 (32,55%)
Em uso de agonistas dopaminérgicos	115 (50,21%)
História familiar de DP	81 (35,8%)

Foi observado no questionário epidemiológico que 79 (34,49% - 79/229) pacientes com DP tinham história positiva para o uso de tabaco em alguma fase de sua vida, a média em anos de exposição ao tabagismo foi de 25 anos, 9 (11,39% - 9/79) ainda mantiveram o hábito de fumar. A ingestão de cafeína foi observada em 194 pacientes (84,71% - 194/229), com seu uso predominante de 1-2 xícaras por dia, totalizando 86 (44,32% - 86/194). História de etilismo ocorreu em 100 pacientes (43,66% - 100/229), 13 (13% - 13/100) ainda mativeram o hábito de ingestão de bebida alcoólica. Na amostra analisada, 102 (44,54% - 102/229) pacientes haviam trabalhado em lavouras, e 48 (20,96% - 48/229) já haviam feito uso de pesticidas.

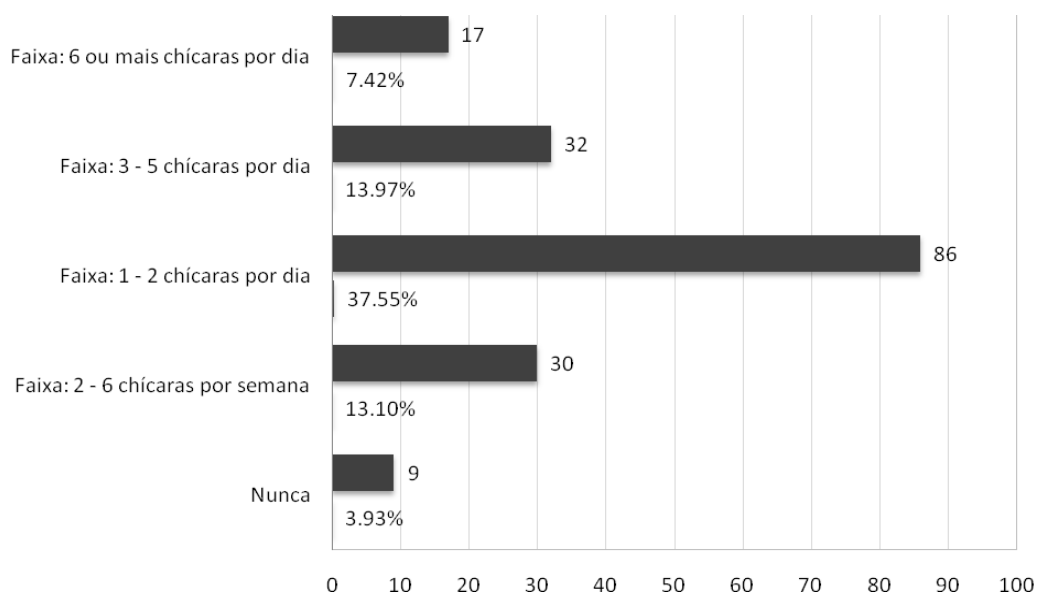


Gráfico 3 – Distribuição da taxa de consumo de cafeína

No estudo foi observado que 80 (34,93% - 80/229) pacientes se encontravam aposentados por invalidez decorrente a doença. O estágio Hoehn & Yahr da maioria dos pacientes no momento da avaliação era 2 (51,97%).

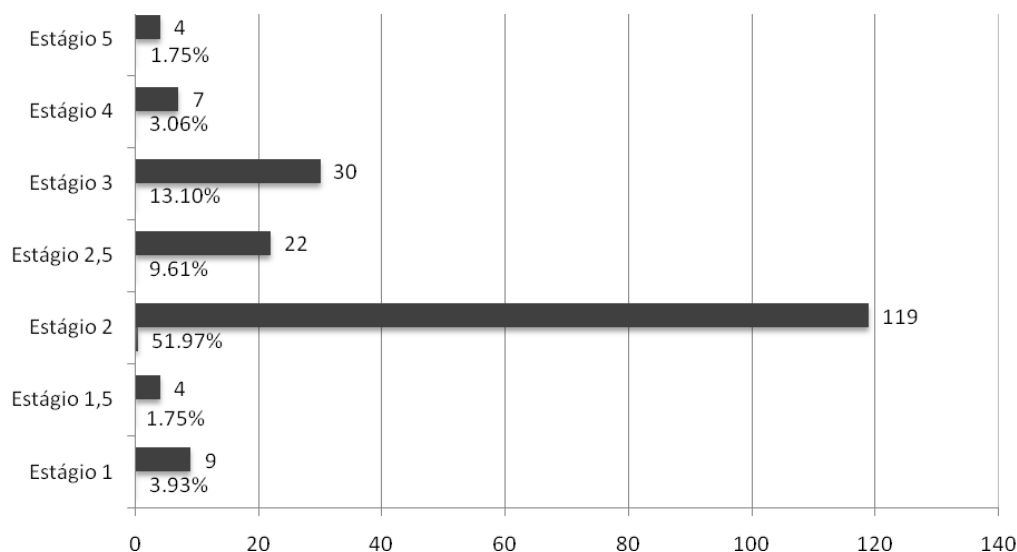


Gráfico 4 – Distribuição do estágio Hoehn &Yahr

As mutações abordadas nesse estudo foram às encontradas no gene LRRK2 (PARK8). A investigação dos demais genes relacionados à DP ainda está em andamento. Nesse estudo a mutação do LRRK2 foi encontrada em quatro pacientes (1,75% - 4/229), sendo que três apresentavam história familiar positiva para DP (3,7% - 3/81). A mutação G2019S na forma heterozigótica foi encontrada em três pacientes (1,31% - 3/229) e a mutação R1441C em um paciente (0,43% - 1/229).

Todos os pacientes positivos para a mutação eram do sexo masculino. Todos iniciaram a doença com acometimento unilateral, e a grande maioria com bradicinesia seguida de rigidez (75% - 3/4). A idade de instalação dos sintomas variou entre 38 a 55 anos. Todos os pacientes faziam uso de cafeína semanalmente. Dois já haviam trabalhado em lavoura e apenas um paciente tinha história de tabagismo e etilismo.

Tabela 8 – Pacientes positivos para a mutação no LRRK2

	Paciente SPP0037	Paciente SPP0046	Paciente RPP0925	Paciente RPP4353H
Sexo	Masculino	Masculino	Masculino	Masculino
Idade	67 anos	49 anos	75 anos	63 anos
Mutação	G2019S	G2019S	G2019S	R1441C

continua

	Paciente SPP0037	Paciente SPP0046	Paciente RPP0925	Paciente RPP4353H
Início unilateral	Sim	Sim	Sim	Sim
Sintoma inicial	Bradicinesia	Bradicinesia	Tremor	Bradicinesia e rigidez
Idade de início dos sintomas	43 anos	38 anos	55 anos	45 anos
Em uso de levodopa	Sim	Não	Sim	Sim
Resposta positiva à levodopa	Sim	-	Sim	Sim
História familiar de DP	Sim	Não	Sim	Sim

5.1 Paciente SPP0037 – Mutação G2019S

Paciente do sexo masculino, hoje com 67 anos, data de nascimento em 16/12/1948, iniciou os sintomas parkinsonianos aos 43 anos em 1991. Sua primeira manifestação foi bradicinesia seguida de rigidez no membro superior direito. Sua forma de parkinsonismo é predominante rígida-acinética. Permanece responsivo a levodopa mesmo 10 anos após o início dos sintomas. Atualmente em uso levodopa desde seu diagnóstico (1991) e em uso de agonista dopaminérgico desde 2008. Seu H&Y é de 3, refere hipercinesias induzidas por levodopa, sua UPDRS parte III no “on” foi 52.

Paciente atuou durante grande parte de sua vida ocupacional como técnico em refrigeração, atualmente está aposentado por invalidez. Referiu que na juventude também chegou a trabalhar em lavouras, mas que não ficou exposto a metais pesados ou pesticidas. Apresentava história de tabagismo e etilismo dos 12 anos aos 37 anos, em média entre 1 a 2 maços de cigarro por dia, e cerca de sete garrafas de cerveja por semana.

Paciente referiu ter ancestrais africanos e brasileiros. Apresenta dois casos de parentes possivelmente afetados pela doença, um primo e um tio do lado paterno.

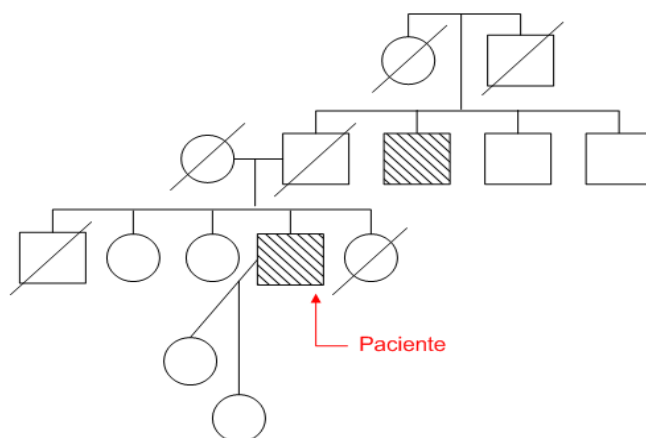


Figura 2 – Heredograma do paciente SPP0037

5.2 Paciente SPP0046 – Mutação G2019S

Paciente do sexo masculino, com data de nascimento de 17/01/1967, 49 anos, casado e com oito anos de escolaridade. Trabalhou por 20 anos como soldador, hoje é profissional autônomo. Iniciou seus sintomas motores em 2005, aos 38 anos de idade. Sua primeira manifestação foi bradicinesia no membro superior direito, e seu parkinsonismo é predominantemente rígido-acinético. Recebeu o primeiro diagnóstico de DP em 2007, aos 40 anos. Na data do preenchimento do protocolo, em 2011, não estava em uso de levodopa e fazia uso de agonista dopaminérgico desde 2008, com boa resposta a medicação. Seu H&Y na avaliação motora era de 2 e sua UPDRS parte III foi 17.

Paciente negou tabagismo em qualquer fase da vida, refere ingestão de cafeína desde os 8 anos de idade (em média de 1 a 2 xícaras por dia), negou etilismo, nunca trabalhou em lavoura ou ficou exposto a agrotóxicos.

Referiu descendência materna espanhola e paterna brasileira. Negou história familiar de DP, porém referiu história familiar de “tremor essencial”. Seus familiares não foram avaliados no presente estudo.

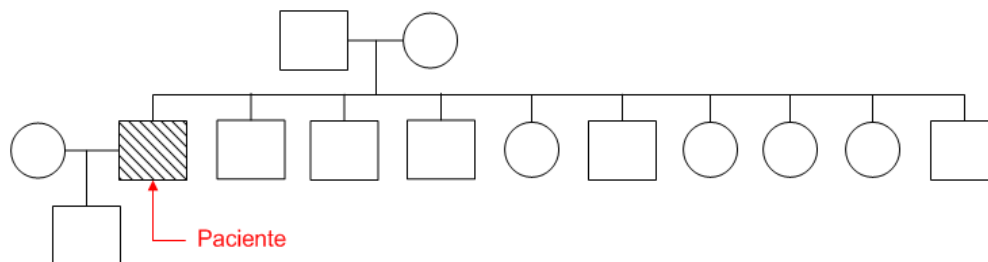


Figura 3 – Heredograma do paciente SPP0046

5.3 Paciente RPP0925 – Mutação G2019S

Paciente do sexo masculino, divorciado, com data de nascimento em 03/05/1940, 75 anos, escolaridade de cinco anos. Foi aposentado por invalidez devido à doença. Iniciou seus sintomas motores aos 55 anos com instalação gradativa de tremores em membro superior esquerdo. Sua etnia é brasileira, com relatos de descendência indígena. Referiu ter um familiar afetado pela doença, um tio materno. Seu protocolo foi preenchido em 2009, nessa data estava em uso de Levodopa, Bromocriptina e Amantadina. Relato de flutuações motoras e de discinesias induzidas pela medicação. Seu H&Y na data de aplicação do protocolo era 2.

No questionário epidemiológico, observado ingestão de cafeína diária, em média dez xícaras por dia por mais de 60 anos. Morou em meio rural por 15 anos e trabalhou na lavoura por 10 anos, mas nega exposição a agrotóxicos. Negou tabagismo ou etilismo.

Seu último registro de atendimento no ambulatório foi em 2011. Seu protocolo foi preenchido de maneira incompleta, não sendo realizado seu heredograma. Tentado contato telefônico para preenchimento do protocolo, porém sem sucesso.

5.4 Paciente RPP4353H – Mutação R1441C

Paciente do sexo masculino, 63 anos, data de nascimento em 04/07/1952, divorciado, escolaridade segundo grau completo. Trabalhou como bancário por 13

anos, e atualmente está aposentado por invalidez. Iniciou seus sintomas aos 45 anos em 1997, seu primeiro tratamento medicamentoso foi aos 48 anos com uso de levodopa, medicação em uso até hoje. Também em uso de agonista dopaminérgico desde 2005. Seus sintomas iniciais foram bradicinesia e rigidez em membro superior direito. Sua forma de parkinsonismo é a rígida-acinética. Possui boa resposta a levodopa mesmo com seu uso prolongado e apresenta discinesias induzidas pela medicação. Na data de preenchimento do questionário em fevereiro de 2014 seu H&Y foi de 2,5, UPDRS parte III em “on” foi 22.

Seus ancestrais maternos eram libaneses e seus ancestrais paternos eram espanhóis. Apresenta relato de nove familiares maternos afetados pela DP, na forma de herança autossômica dominante (AD).

Paciente nunca fez uso de tabaco. Ingere cafeína em cerca de 2 a 6 copos por semana, desde os 18 anos. Nunca fez uso de bebida alcoólica. Nunca trabalhou em lavoura ou foi exposto a metais pesados nem pesticidas.

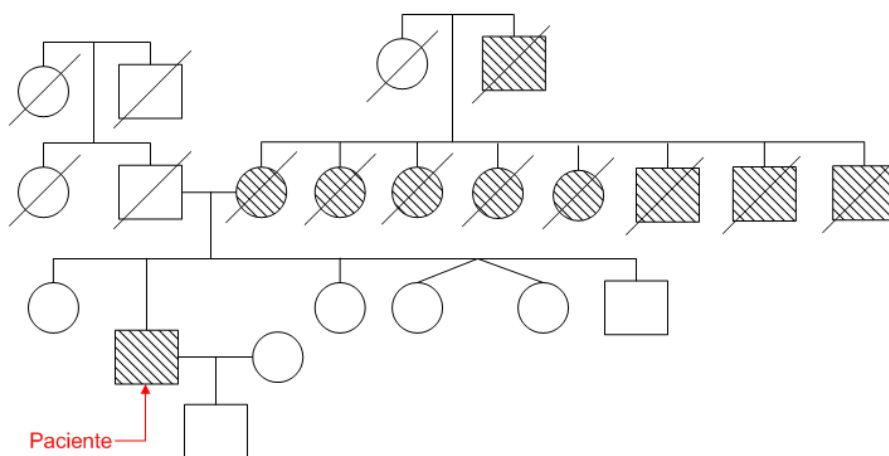


Figura 4 – Heredograma do paciente RPP4353H

6. DISCUSSÃO

Como já referido anteriormente, os fatores que levam ao desenvolvimento da DP não foram completamente esclarecidos. Após vários estudos, chegou-se a um consenso em que a DP seria resultada da associação de elementos genéticos e ambientais, que são cada vez mais visados para o desenvolvimento de futuras pesquisas e o melhor conhecimento da doença (ZAVARIZ; LIMEIRA, 2012). Hoje se reforça a ideia de uma base multifatorial, com elementos ambientais atuando em um indivíduo geneticamente susceptível (ZAVARIZ; LIMEIRA, 2012; FOLTYNIE et al., 2002). Com exceção dos casos relacionados à herança familiar, o restante, e a grande maioria dos casos, são denominados DP de origem esporádica (WERNECK; ALVARENGA, 1999).

O estudo aqui apresentado prioriza o estudo genético da DP, sendo realizada uma revisão sistematizada de artigos brasileiros publicados até 2015 sobre a análise genética para DP em populações brasileiras.

Nosso estudo abrangeu a pesquisa de mutações para o LRRK2 em 229 pacientes dos 282 pacientes que preencheram o protocolo do LARGE-PD. Como já referido anteriormente, acredita-se que não foi possível análise do DNA de todos os pacientes participantes devido ao viés do risco de perda do material por algum erro no armazenamento e no envio para Seattle. Procuramos observar a frequência de mutações tanto nos casos com história familiar positiva quanto nos casos de DP esporádica, tendo em vista que mesmo em casos esporádicos a mutação no gene LRRK2 ocorre em até 2% dos casos (COOKSON et al., 2005; GOLDWURM et al., 2005).

Observamos que em 229 pacientes analisados, quatro (1,74%) pacientes foram positivos para a mutação. No estudo de Moura et al. (2008) foram encontrados três pacientes com mutação do gene LRRK2, sendo dois casos familiares e um caso isolado, o que representa aproximadamente 2% da amostra analisada. Considerando apenas os 41 casos de início precoce (antes dos 40 anos), nosso estudo verificou a frequência de apenas um caso (2,43% - 1/41). No estudo de Barsottini et al. (2009), em que 119 pacientes provenientes do setor de distúrbios de movimentos da UNIFESP/EPM, com início dos sintomas da PD antes da idade de 50

anos, foram identificados quatro pacientes (3,36%) com mutação positiva para PARK8. Já nos estudos de Aguiar et al. (2008) foram avaliados 72 pacientes brasileiros portadores de DP hereditária de início precoce, mutações no LRRK2 representaram 5,5% de todas as mutações encontradas.

Em nosso estudo, três pacientes tinham história familiar positiva para DP (3,7% - 3/81). A idade de início dos sintomas nos pacientes com a mutação variou entre 38 e 55 anos. Foram encontrados três heterozigotos para a mutação G2019S, sendo dois com história familiar positiva (2,46% - 2/81) e um caso esporádico. No total de pacientes com DP com o DNA analisado, G2019S esteve presente em 1,31% (3/229). Foi encontrado também um caso de mutação para R1441C, esta não descrita em outros estudos brasileiros.

Assim como em nossa análise, diversos estudos demonstraram que a mutação mais encontrada do LRRK2 foi a G2019S. No estudo de Abdalla - Carvalho et al. (2010), foram recrutados 204 pacientes com DP, a mutação G2019S correspondeu a 2,4%. Moura et al. (2008) demonstrou em uma amostra de 154 pacientes brasileiros, sem história de consanguinidade, com DP familiar ou esporádica, incluindo casos de manifestação precoce ou tardia da doença, a presença da mutação LRRK2 /G2019S foi identificada em heterozigose em três probandos (2%). Munhoz et al. (2008) descreveram em seu trabalho que dentre 83 pacientes brasileiros (pré-selecionados para ter um início precoce de doença e/ou uma história familiar positiva), 3 pacientes (3,5%) apresentavam a mutação G2019S. No estudo de Chien (2007), foi encontrada essa mutação em uma incidência de 12,5% (2 casos em 16 casos com história familiar positiva).

Na amostra total do nosso estudo não foi separada a forma de herança genética. Na análise dos heredogramas dos pacientes positivos para a mutação, apenas no indivíduo R1441C foi observado uma forma de herança AD. Foi descrito por Di Fonzo et al.(2005) 61 famílias com padrão autossômico dominante (AD), sendo 4 famílias portadoras da mutação G2019S, ou seja 6,6%. Fato não observado em nosso estudo, em que a mutação G2019S não pareceu ter correlação com algum padrão de herança genética (AD ou AR), apesar de dois pacientes afirmarem presença de parentes com a doença. Este fato também foi observado no estudo de Barsottini et al. (2009) em que os pacientes positivos para a mutação não apresentaram história familiar relevante de DP (embora 75% dos pacientes tiveram consangüinidade de primeiro e segundo grau).

A mutação R1441C, como já falado anteriormente, nunca havia sido registrada em outros estudos brasileiros. O paciente portador dessa mutação possui descendência materna libanesa. Foram acometidos pela doença conforme seu heredograma: a mãe, todos os tios maternos e o avô materno. A mutação R1441C se encontra no exon 31, no mesmo domínio ROC do gene LRRK2. Analisando sua distribuição geográfica, corresponde à segunda mutação do LRRK2 mais prevalente encontrada primeiramente em uma família Norte América/ Nebraska ocidental e em pequenas famílias caucasianas (ZIMPRICH et al., 2004; HAUGARVOLL et al., 2009). Di Fonzo et al. (2006) encontraram essa mutação em uma prevalência de 3,4% em um estudo que avaliou 60 famílias com DP predominantemente italianas. Acredita-se que a família analisada no presente estudo possa ter um ancestral comum proveniente das regiões europeias onde a mutação já foi encontrada (Bélgica, Rússia, Irã e Itália). Os principais sintomas clínicos incluem parkinsonismo unilateral com tremor responsivo a Levodopa em 57% dos casos (HAUGARVOLL et al., 2009).

Dos pacientes com a presença de mutação para o LRRK2 em nosso estudo, três apresentaram como início dos sintomas bradicinesia e rigidez unilateral, vieram a desenvolver tremores conforme observado na avaliação da UPDRS, porém havia predomínio da forma rígida acinética. Relato discordante da literatura em que o tremor é descrito como bem significativo nessa mutação, muitas vezes definida como uma doença “tremor-dominante” (PAISAIN-RUIZ et al., 2004; NUYTEMANS et al., 2008). No estudo de Chien (2007), nos dois paciente em que a mutação se mostrava presente, ambos se iniciaram na forma de tremor unilateral com idades de 39 e 46 anos.

As diferenças que foram encontradas entre o estudo aqui efetuado e os demais estudos levantados na revisão de literatura se dão principalmente devido a diferente metodologia aplicada em cada um, o que faz com que gere frequências diferentes em relação à amostra de pacientes estudada. De modo que não há como comparar a frequência de mutação em uma amostra selecionada de pacientes com herança tipicamente AD com uma amostra de pacientes com parkinsonismo iniciado de forma precoce. Para diminuir esse viés seria importante a construção de estudos em populações com características semelhantes, para que possam ser comparadas.

O gene LRRK2 é um dos mais importantes genes causador de parkinsonismo genético, contudo ainda não há dados suficientes na população brasileira já estudada para se definir a sua incidência, prevalência e penetrância em nossa

população. Faz-se necessário o estudo de grandes séries de amostras pareadas, assim como o sequenciamento do gene como um todo (todos os 51 exons), para que novas mutações não passem despercebidas, e assim a análise genética se faz mais fidedigna (já que a maioria das mutações comprovadamente patogênicas encontra-se em éxons diferentes). Nichols et al. (2007) investigaram regiões ainda não exploradas deste gene em uma amostra de 430 pacientes com DP sem a mutação p.G2019S e identificaram novas variantes gênicas, potencialmente patogênicas, incluindo duas na região N-terminal, na qual nenhuma mutação tinha sido até então identificada.

Quanto à questão de realização de testes genéticos em populações diversas, mesmo na população com história familiar positiva de DP, a identificação precoce de mutações não auxilia na prevenção por ainda não haver terapia neuroprotetora. Sendo assim é recomendado o uso destes testes de forma restrita para fins de pesquisa científica. Com base nesse fato, é de fundamental importância o incentivo de estudos e pesquisas sobre genética na DP, pois o conhecimento aprofundado nessa área poderá constituir para avanços terapêuticos e melhorar, futuramente, a condução médica da doença (CHIEN, 2007). Dentre as melhorias esperadas, destaca-se a descoberta de novos agentes neuroprotetores atuando de forma preventiva, e medidas que possam interferir no curso da doença (como a terapia gênica – muito visada no futuro).

7. CONCLUSÕES

O LRRK2 em nosso estudo representou uma frequência de 1,74% em todos os pacientes com DP analisados geneticamente. Entre os pacientes com parkinsonismo de origem precoce representou 2,43% dos casos e nos pacientes com história familiar 3,7%.

A mutação G2019S foi a mais encontrada em nosso estudo, em 2,46% nos paciente com história familiar e 1,31% no total de pacientes com DP e DNA analisado.

Identificada a mutação R1441C em um paciente com padrão de herança AD, descende de libaneses, não identificada em outros estudos brasileiros.

O início dos sintomas variou entre 38 e 55 anos, sempre unilateral, com boa resposta a Levodopa. Três com predomínio de bradicinesia associado rigidez e um com predomínio de tremor. Segundo a literatura a grande maioria dos pacientes se inicia com tremor unilateral.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS¹

ABDALLA-CARVALHO C.B.; SANTOS-REBOUÇAS C.B.; GUIMARÃES B.C. Genetic analysis of LRRK2 functional domains in Brazilian patients with Parkinson's disease. **European Journal of Neurology**, Rio de Janeiro, v. 17, n. 12, p. 1479-1481, 2010.

ABOU-SLEIMAN P.M. et al. The role of pathogenic DJ-1 mutations in Parkinson's disease. **Annals of Neurology**, London, v. 54, n. 3, p. 283–286, 2003.

AGUIAR P.C. et al. Genetic and Environmental Findings in Early-onset Parkinson's Disease Brazilian Patients. **Movement Disorders**, São Paulo, v. 9, n. 23, p. 1228-1233, 2008.

ALMEIDA R.D. Distribuição geográfica mundial das mutações do gene LRRK2 em paciente com Doença de Parkinson. Monografia (conclusão de curso) Universidade Federal da Bahia. Salvador, 2013.

ATHANASSIADOU A. et al. Genetic analysis of families with Parkinson disease that carry the Ala53Thr mutation in the gene encoding alpha-synuclein. **The American Journal of Human Genetics**, Patras, v. 65, n. 2, p. 555–558, 1999.

BARSOTTINI O.G.P et al. Clinical and molecular neuroimaging characteristics of Brazilian patients with Parkinson's disease and mutations in PARK2 or PARK8 genes. **Arquivos de Neuropsiquiatria**, São Paulo, v. 67, n. 1, p. 7-11, 2009.

BENNETT D.A. et al. Prevalence of parkinsonian signs and associated mortality in a community population of older people. **New England Journal of Medicine**, Chicago, v. 334, n. 2, p. 71-76, 1996.

BERTUCCI FILHO D.C. Frequência e fenótipo de variantes dos genes PARK2 e LRRK2 em pacientes com parkinsonismo de início precoce. Dissertação de Doutorado. Universidade Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna, Setor de Ciências da Saúde. Curitiba, 2015.

BOSTANTJOPOULOU S. et al. Clinical features of parkinsonian patients with the alpha-synuclein (G209A) mutation. **Movement Disorders**, Thessaloniki, v. 16, n. 6, p. 1007–1013, 2001.

CAMARGOS S.T. et al. Familial Parkinsonism and early onset Parkinson's disease in a Brazilian Movement Disorders clinic: Phenotypic characterization and frequency of SNCA, PRKN, PINK1 and LRRK2 mutations. **Movement Disorders**, Belo Horizonte, v. 5, n. 24, p. 662–666, 2009.

¹ De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023.

CHARTIER-HARLIN M.C. et al. Alpha-synuclein locus duplication as a cause of familial Parkinson's disease. **Lancet**, Lille Cedex, v. 364, n. 9440, p. 1167–1169, 2004.

CHIEN H.F. “Estudo genético da Doença de Parkinson”. Dissertação de Doutorado. 2007. USP. Programa de Neurologia. São Paulo, 2007.

CHIEN H.F. et al. Early-onset Parkinson's disease caused by a novel parkin mutation in a genetic isolate from north-eastern Brazil. **Neurogenetics**, São Paulo, v. 7, n. 1, p. 13–9, 2005.

CHIEN H.F. et al. Frequency of the *LRRK2* G2019S mutation in late-onset sporadic patients with Parkinson's disease. **Arquivos de Neuropsiquiatria**, São Paulo, v. 72, n. 5, 2014.

CHOI J.M. et al. Analysis of PARK genes in a Korean cohort of early-onset Parkinson disease. **Neurogenetics**, Anyang, v. 9, n. 4, p. 263–269, 2008.

CLARK L.N. et al. Analysis of an early-onset Parkinson's disease cohort for DJ-1 mutations. **Movement Disorders**, New York, v. 19, n. 7, p. 796–800, 2004.

COGNATA V.L. et al. Increasing the coding potential of genomes through alternative splicing: the case of PARK2 gene. **Current Genomics**, Catania, v. 15, n. 3, p. 203–216, 2014.

COOKSON M.R. The biochemistry of Parkinson's disease. **Annual Review of Biochemistry**, Bethesda, v. 74, p. 29–52, 2005.

DAHER J.P.L. et al. Leucine-rich Repeat Kinase 2 (LRRK2) Pharmacological Inhibition Abates α -Synuclein Gene-induced Neurodegeneration. **The Journal of Biological Chemistry**, Birmingham, v. 290, n. 32, 2015.

DI FONZO A. et al. ATP13A2 missense mutations in juvenile parkinsonism and young onset Parkinson disease. **Neurology**, Rotterdam, v. 68, n. 19, p. 1557–1562, 2007.

DI FONZO A. et al. A frequent LRRK2 gene mutation associated with autosomal dominant Parkinson's disease. **Lancet**, Rotterdam, v. 365, n. 9457, p. 412–415, 2005.

DODEL R.C. et al. Costs of drug treatment in Parkinson's disease. **Movement Disorders**, Munich, v.13, n.2, p. 249–54, 1998.

FARRER M et al. Comparison of kindreds with parkinsonism and alpha-synuclein genomic multiplications”. **Annals of Neurology**, Jacksonville, v. 55, n. 2, p.174–179, 2004.

FOLTYNIE T. et al. The genetic basis of Parkinson's disease. **Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry**, Cambridge, v. 73, n. 4, p. 363–370, 2002.

FONTES A.J.V. Terapia Gênica no tratamento da Doença de Parkinson. Dissertação de Mestrado. Universidade do Algarve, Faculdade de Ciências e Tecnologia, programa de Ciências Farmacêuticas. Faro, 2011.

FUCHS J. et al. Phenotypic variation in a large Swedish pedigree due to SNCA duplication and triplication". **Neurology**, Tübingen, v. 68, n. 12, p. 916–922, 2007.

GAIG C. et al. Nonmotor symptoms in LRRK2 G2019S associated Parkinson's disease. **Plos One**, Barcelona, v. 9, n. 10, 2014.

GANDHI S. et al. PINK1-associated Parkinson's disease is caused by neuronal vulnerability to calcium-induced cell death. **Molecular Cell**, London, v. 33, n. 5, p. 627–638, 2009.

GASSER T. Molecular pathogenesis of Parkinson disease: insights from genetic studies. **Expert Reviews in Molecular Medicine**, Tübingen, v. 11, n. 22, p. 1-14, 2009.

GELMETTI V. et al. Late onset sporadic Parkinson's disease caused by PINK1 mutations: clinical and functional study. **Movement Disorders**, Roma, v. 23, n. 6, p. 881–885, 2008.

GODEIRO JUNIOR C. et al. PINK1 polymorphism IVS1–7 A→G, exposure to environmental risk factors and anticipation of disease onset in Brazilian patients with early-onset Parkinson's Disease. **Neuroscience Letters**, São Paulo, v. 1, n. 469, p. 155-158, 2010.

GODEIRO JUNIOR C. et al. PINK1 mutations in a Brazilian cohort of early-onset Parkinson's disease patients. **Movement Disorders**, São Paulo, v. 11, n. 24, p. 1693-1696, 2009.

GOLDWURM S. et al. The G6055A (G2019S) mutation in LRRK2 is frequent in both early and late onset Parkinson's disease and originates from a common ancestor. **Journal of Medical Genetic**, Milão, v. 42, n. 11, p. 65, 2005.

GUIMARÃES B.C. et al. Glucocerebrosidase N370S and L444P mutations as risk factors for Parkinson's disease in Brazilian patients. **Parkinsonism and Related Disorders**, v. 18, n. 5, p. 688-689, 2012.

HARDY J. et al. The genetics of Parkinson's syndromes: a critical review. **Current Opinion in Genetics & Development**, London, v. 19, n. 3, p. 254-265, 2009.

HAUGARVOLL K. et al. LrrK2 R1441C parkinsonism in clinically similar to sporadic Parkinson disease. **Neurology**, Jacksonville, v. 70, n. 16, p.1456-1460, 2008.

HEALY D.G. et al. Phenotype, genotype, and worldwide genetic penetrance of LRRK2-associated Parkinson's disease: a case-control study. **The Lancet Neurology**, London, v. 7, n. 7, p. 583-590. 2008.

HEDRICH K. et al. Distribution, type, and origin of Parkin mutations: review and case studies. **Movement Disorders**, Lübeck, v. 19, n. 10, p. 1146–1157, 2004.

HUGHES A.J. et al. The accuracy of diagnosis of parkinsonian syndromes in a specialist movement disorder service. **Brain**, London, v. 125, n. 4, p. 861-70, 2002.

HUGHES A.J. et al. What features improve the accuracy of clinical diagnosis in Parkinson's disease: a clinicopathologic study. **Neurology**, London, v. 42, n. 6, p. 1142-6, 1992.

IBANEZ P. et al. Alpha-synuclein gene rearrangements in dominantly inherited parkinsonism: frequency, phenotype, and mechanisms. **Archives of Neurology**, Paris, v. 66, n. 1, p. 102–108, 2009.

IBANEZ P. et al. Mutational analysis of the PINK1 gene in early-onset parkinsonism in Europe and North Africa. **Brain**, Paris, v. 129, n. 3, p. 686–694, 2006.

KACHERGUS J. et al. Identification of a Novel LRRK2 Mutation Linked to Autosomal Dominant Parkinsonism: Evidence of a Common Founder across European Populations. **The American Journal of Human Genetics**, Jacksonville, v. 75, n. 4, p. 672–680. 2005.

KHAN N.L. et al. Dopaminergic dysfunction in unrelated, asymptomatic carriers of a single parkin mutation. **Neurology**, London, v. 64, n. 1, p. 134-136, 2005.

KI C.S. et al. The Ala53Thr mutation in the alpha-synuclein gene in a Korean family with Parkinson disease". **Clinical Genetics**, v. 71, n. 5, p. 471–473, 2007.

KITADA T. et al. Mutations in the parkin gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism. **Nature**, Tokyo, v. 392, n. 6676, p. 605–608, 1998.

LAUTIER C. et al. Mutations in the GIGYF2 (TNRC15) Gene at the PARK11 Locus in Familial Parkinson Disease. **The American Journal of Human Genetics**, Providence, v. 82, n. 4, p. 822-833, 2008.

LESAGE S. et al. LRRK2 G2019S as a cause of Parkinson's disease in North African Arabs. **New England Journal Medicine**, v. 354, n. 4, p. 422–423, 2006.

LI J.Q.; TAN L.; YU J.T. The role of LRRK2 in Parkinsonism. **Molecular Neurodegeneration**, Qingdao, v. 9, n. 1, p. 47, 2014.

LIU W. et al. PINK1 defect causes mitochondrial dysfunction, proteasomal deficit and alpha-synuclein aggregation in cell culture models of Parkinson's disease. **PLoS ONE**, New York, v. 4, n. 2, 2009.

LUCKING C.B. et al. Pseudo-dominant inheritance and exon 2 triplication in a family with parkin gene mutations. **Neurology**, Paris, v. 57, n. 5, p. 924-927, 2001.

MARONGIU R. et al. Whole gene deletion and splicing mutations expand the PINK1 genotypic spectrum. **Human Mutation**, Roma, v. 1, n. 28, p. 98, 2007.

MATA I.F. et al. LRRK2 in Parkinson's Disease: protein domains and functional insights. **TRENDS in Neurosciences**, Jacksonville, v. 29, n. 5, p. 286–293, 2006.

MITSUMOTO A.; NAKAGAWA Y. DJ-1 is an indicator for endogenous reactive oxygen species elicited by endotoxin. **Free Radical Research**, Tokyo, v. 35, n. 6, p. 885–893, 2001.

MOORE D.J. The biology and pathobiology of LRRK2: Implications for Parkinson's disease. **Parkinsonism and Related Disorders**, Baltimore, v. 14, n. 2, p. 92-98, 2008.

MOURA K.C.V et al. Exon dosage variations in Brazilian patients with Parkinson's disease: Analysis of *SNCA*, *PARKIN*, *PINK1* and *DJ-1* genes. **Disease Markers**, Rio de Janeiro, v. 3, n. 32, p. 173-178, 2012.

MOURA K.C.V et al. Genetic Analysis of PARK2 and PINK1 Genes in Brazilian Patients with Early-Onset Parkinson's Disease. **Disease Markers**, Rio de Janeiro, v. 35, n. 3, p. 181–185, 2013.

MOURA K.C.V. Mutações no gene LRRK2 como causa da Doença de Parkinson em pacientes brasileiros. Dissertação de Mestrado. UERJ. Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental. Rio de Janeiro, 2008.

MUNHOZ R.P. et al. The G2019S *LRRK2* mutation in Brazilian patients with Parkinson's disease: Phenotype in monozygotic twins. **Movement Disorders**, Curitiba, v. 2, n. 23, p. 290-294, 2008.

NISHIOKA K. et al. Clinical heterogeneity of alpha-synuclein gene duplication in Parkinson's disease". **Annals of Neurology**, Tokyo, v. 59, n. 2, p. 298–309, 2006.

NISHIOKA K. et al. Expanding the clinical phenotype of SNCA duplication carriers. **Movement Disorders**, Tokyo, v. 24, n. 12, p. 1811–1819, 2009.

NUYTEMANS K. et al. Founder mutation p.R1441C in the leucine-rich repeat kinase 2 gene in Belgian Parkinson's disease patients. **European Journal of Human Genetic**, Antwerpen, v. 16, n. 4, p. 471–479, 2008.

OZELIUS L.J. et al. LRRK2 G2019S as a cause of Parkinson's disease in Ashkenazi Jews. **New England Journal Medicine**, v. 354, n. 4, p. 424–425, 2006.

PAISAN-RUIZ C. et al. Comprehensive analysis of LRRK2 in publicly available Parkinson's disease cases and neurologically normal controls. **Human Mutation**, Bethesda, v. 29, n. 4, p. 485-490, 2008.

PAPADIMITRIOU A. et al. Mutated alpha-synuclein gene in two Greek kindreds with familial PD: incomplete penetrance?. **Neurology**, Thessaly, v. 52, n. 3, p. 651–654, 1999.

PIMENTEL M.M. et al. A study of LRRK2 mutations and Parkinson's disease in Brazil. **Neuroscience Letters**, Rio de Janeiro, v. 433, n. 1, p. 17-21, 2008.

POLYMEROPOULOS M.H. et al. Mapping of a gene for Parkinson's disease to chromosome 4q21–q23. **Science**, Bethesda, v. 274, n. 5290, p.1197–1199, 1996.

POLYMEROPOULOS M.H. et al. Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. **Science**, Bethesda, v. 276, n. 5321, p. 2045–2047, 1997.

PUSCHMANN A. et al. Swedish family with de novo alpha-synuclein A53T mutation: evidence for early cortical dysfunction. **Parkinsonism & Related Disorders**, Lund, v. 15, n. 9, p. 627–632, 2009.

RAMIREZ A. et al. Hereditary parkinsonism with dementia is caused by mutations in ATP13A2, encoding a lysosomal type 5 P-type ATPase. **Nature Genetics**, Cologne, v. 38, n. 10, p. 1184–1191, 2006.

RAWAL N. et al. New parkin mutations and atypical phenotypes in families with autosomal recessive parkinsonism. **Neurology**, Paris, v. 60, n. 8, p. 1378–1381, 2003.

ROSSO A.L.; NICARETTA D.H.; MATTOS J.P. Correlações Anatomoclínicas na Doença de Parkinson. **Revista Brasileira de Neurologia**. Rio de Janeiro, v. 44, n. 4, p.41-47, 2008.

ROWLAND, L. P., PEDLEY, T. A. **Merritt Tratado de Neurologia**. 12^a Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. p. 758 – 776.

SANTOS A.V. et al. Mutational analysis of GIGYF2, ATP13A2 and GBA genes in Brazilian patients with early-onset Parkinson's disease. **Neuroscience Letters**, Rio de Janeiro, v. 2, n. 485, p. 121–124, 2010.

SANTOS-REBOUÇAS C.B. et al. Co-occurrence of Sporadic Parkinsonism and Late-Onset Alzheimer's Disease in a Brazilian Male with the LRRK2 p.G2019S Mutation. **Genetic Testing**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 4, p. 471-3, 2008.

SEN S.; WEST A.B. The Therapeutic Potential of LRRK2 and α -Synuclein in Parkinson's Disease. **Antioxidants & Redox Signaling**, Birmingham, v. 11, n. 9, p. 2167-2187, 2009.

SIDEROWF A.; STEM M. "Update on Parkinson disease". **Annals of Internal Medicine**, Pennsylvania, v. 138, n. 8, p. 651-658, 2003.

SIDEROWF A.D.; HOLLOWAY R.G.; STERN M.B. Cost-effectiveness analysis in Parkinson's disease: determining the value of interventions. **Movement Disorders**, Pennsylvania, v. 15, n. 3, p. 439-45, 2000.

SINGLETON A.B. et al. Alpha-Synuclein locus triplication causes Parkinson's disease. **Science**, Bethesda, v. 302, n. 5646, p. 841, 2003.

SPIRA P.J. et al. Clinical and pathological features of a Parkinsonian syndrome in a family with an Ala53Thr alpha-synuclein mutation. **Annals of Neurology**, Randwick, v. 49, n. 3, p. 313–319, 2001.

SPITZ M. et al. Association between Parkinson's disease and glucocerebrosidase mutations in Brazil. **Parkinsonism and Related Disorders**, São Paulo, v. 1, n. 14, p. 58-62, 2008.

SPITZ M. et al. Association of LRRK2 and GBA mutations in a Brazilian family with Parkinson's disease. **Parkinsonism & Related Disorders**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 7, p. 825-6, 2015.

TAN E. K. et al. The LRRK2 Gly2385Arg variant is associated with Parkinson's disease: genetic and functional evidence. **Human Genetics**, Singapore, v. 120, n. 6, p. 857–863, 2007.

TANNER C.; HUBBLE J.; CHAN P. Epidemiology and genetics of Parkinson's disease. In: Watts RL, Koller WC, eds. **Movement Disorders: Neurologic principles and Practice**, New York: McGraw-Hill, 1996:137-152.

TEIVE H.A.G. O papel de Charcot na Doença de Parkinson. **Arquivos de Neuropsiquiatria**, Curitiba, v. 56, n. 1, p. 141-145, 1998.

VALENTE E.M. et al. Hereditary early-onset Parkinson's disease caused by mutations in PINK1. **Science**, Roma, v. 304, n. 5674, p. 1158–1160, 2004.

VALENTE E.M. et al. Localization of a novel locus for autosomal recessive early-onset parkinsonism, PARK6, on human chromosome 1p35-p36. **The American Journal of Human Genetics**, Roma, v. 68, n. 4, p. 895–900, 2001.

VALENTE E.M. et al. PARK6-linked parkinsonism occurs in several European families". **Annals of Neurology**, Roma, v. 51, n. 1, p. 14–18, 2002.

VAN DE WARRENBURG B.P. et al. Clinical and pathologic abnormalities in a family with parkinsonism and parkin gene mutations. **Neurology**, Nijmegen, v. 56, n. 4, p. 555-557, 2001.

WANG X.; SCHWARZ T.L. The mechanism of Ca²⁺-dependent regulation of kinesin-mediated mitochondrial motility. **Cell**, Boston, v. 136, n. 1, p. 163–174, 2009.

WEIHOFEN A. et al. Pink1 forms a multiprotein complex with Miro and Milton, linking Pink1 function to mitochondrial trafficking. **Biochemistry**, Boston, v. 48, n. 9, p. 2045–2052, 2009.

WERNECK, A. L. S.; ALVARENGA, H. Genética, medicamentos e fatores do meio ambiente na Doença de Parkinson. **Arquivos de Neuropsiquiatria**, Rio de Janeiro, v. 57, n. 2B, p. 347-355, 1999.

WERNECK, A.L.S. Doença de Parkinson: etiopatogenia, clínica e terapêutica. **Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto**, Rio de Janeiro, v. 9, n. 1, p. 10-19, 2010.

ZAVARIZ R.C.M.; LIMEIRA D.M. Possíveis etiologias para a doença de Parkinson: uma breve revisão bibliográfica. **Revista Saúde e Pesquisa**, Apucarana, v. 2, n. 5, p. 388-398, 2012.

ZIMPRICH A. et al. Mutation in LRRK2 cause autosomal-dominant Parkinsonism with pleomorphic pathology. **Neuron**, Tuebingen, v. 44, n. 4, p. 601-607, 2004.

ZIMPRICH A. et al. The PARK8 locus in autosomal dominant parkinsonism: confirmation of linkage and further delineation of the disease-containing interval. **The American Journal of Human Genetics**, Tuebingen, v. 74, n. 1, p. 11-19, 2004.

ANEXOS

ANEXO A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

TERMO DE CONSENTIMENTO DE GUARDA DE MATERIAL

O preenchimento e assinatura desse termo de consentimento têm como objetivo obtermos sua autorização para uma amostra de sangue coletada do(a) Sr(a)

O objetivo desse armazenamento é ter a disposição amostras de DNA de pacientes e indivíduos normais para que possam servir no futuro para realização de novos exames ou pesquisas médicas. Este banco de amostras será chamado de “Banco de Amostras de DNA de Pacientes Portadoras de Doenças Extrapiramidais – BANEXP”.

O material doado será guardado no Laboratório de Neurologia Experimental e Aplicada da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP sob inteira responsabilidade dos Professores Wilson Marques Jr. e Vitor Tumas. Ele será identificado por um número, de forma a garantir o total sigilo sobre sua identidade e seus dados clínicos, que não poderão ser revelados sem a sua autorização. O Sr(a) também poderá a qualquer momento solicitar a destruição do material armazenado nesse banco de amostras sem sofrer qualquer represália, discriminação ou prejuízo por causa disso.

Para que seu material seja utilizado em qualquer pesquisa, sempre será novamente solicitada a sua autorização. Todas as pesquisas também deverão ser previamente autorizadas por um Comitê de Ética em Pesquisa e o(a) Sr(a) será comunicado(a) e poderá concordar ou não com o uso do material neste estudo.

O(A) Sr(a) sempre será informado(a) sobre os resultados obtidos pelos estudos realizados com seu material e poderá eventualmente se beneficiar das descobertas que esses estudos propiciarem.

Na data da coleta, o Sr(a) será avaliado pelo clínico responsável e várias informações clínicas serão armazenadas junto com sua amostra de sangue.

Eu autorizo que as amostras de meu sangue sejam guardadas para uso futuro após o meu consentimento.

Assinatura

Nome do paciente: _____ Data: _____

Eu conversei sobre a guarda de material em banco de amostra com o paciente utilizando uma linguagem adequada e apropriada. Acredito que informei o suficiente para a tomada de decisão de maneira livre e esclarecida

Assinatura do médico

Data

Nome, endereço e telefone dos responsáveis pelo banco de amostras:
 Prof. Dr. Wilson Marques Jr. e Prof. Dr. Vitor Tumas
 Departamento de Neurologia, Psiquiatria e Psicologia Médica.
 Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto – USP
 Ribeirão Preto – SP – Brasil
 14040-900
 Telefones: (16)36022391 – (16)36022616.

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO SOBRE GENÉTICA NA DOENÇA DE PARKINSON: PACIENTES

Os estudos genéticos na Doença de Parkinson têm contribuído muito para uma maior compreensão sobre a forma com esta doença se instala e os mecanismos envolvidos com a sua progressão. No futuro, espera-se que estes conhecimentos auxiliem na criação de medicações mais eficazes para o tratamento desta doença.

Você está sendo convidado a participar de um estudo científico denominado: **“Estudo Multicêntrico sobre genética da Doença de Parkinson em paciente latino-americanos”**. Este estudo pretende verificar se você ou sua família tem alguma alteração genética que possa ser responsável pelo mecanismo da Doença de Parkinson. Sua participação neste estudo é totalmente voluntária, em qualquer momento você poderá retirar seu consentimento sem ter qualquer explicação, e sem que isto repercuta em seus cuidados médicos.

Este estudo se realizará da seguinte forma:

- Em uma consulta de rotina no Ambulatório de Distúrbios do Movimento do Hospital das Clínicas, em que você é acompanhado, serão coletados alguns dados sobre você, sua doença e sua família que ficarão armazenados em forma de código para proteger a sua identidade e de sua família. Importante ressaltar que o seu acompanhamento médico continuará sendo feito pelo médico assistente, o nosso projeto não envolve qualquer tipo de tratamento ou acompanhamento médico. Quaisquer dúvidas a respeito de seu diagnóstico deverão ser esclarecidas junto ao seu médico assistente.

- Você terá que fazer uma coleta de sangue. Durante a coleta de sangue de uma veia do antebraço, você poderá sentir algum desconforto pela picada da agulha e poderá apresentar uma mancha roxa por alguns dias, no local onde o sangue for coletado, mas isso nem sempre acontece. Se isso vier a ocorrer, os pesquisadores desde estudo estarão a sua disposição para esclarecimentos e orientações.

- O sangue colhido será utilizado para o estudo genético da sua doença

- O seu material genético (DNA) ficará estocado no Laboratório de Neurologia Experimental e Aplicada da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP. A análise das amostras se realizará em colaboração com outra instituição internacional com grande experiência na investigação das causas genéticas desta enfermidade, o laboratório do Dr. Cyrus Zabetian em Seattle, WA, sempre garantindo o anonimato do paciente durante todo o processo. As amostras de sangue não terão nenhum dado que possa identificar o paciente, já que estarão codificadas por letras e números previamente ao envio ao laboratório. Estas amostras de sangue serão utilizadas unicamente para os objetivos do estudo e nunca poderão ser motivo de transação comercial.

- Os resultados serão mantidos sob estrita confiabilidade de acordo com o estabelecido pelos critérios da boa prática clínica e a Declaração de Helsinki. Os resultados poderão ser publicados em revistas científicas garantindo em todo momento o seu anonimato.

- Você tem o direito de quere ou não ser informado sobre o resultado do seu exame. Caso deseje conhecer o resultado do seu exame, deverá nos informar no ato da coleta de sangue. O resultado do exame será entregue ao seu médico assistente, o qual ficará responsável por comunicar-lhe o resultado e prestar todos os esclarecimentos sobre o exame, através de aconselhamento genético. O aconselhamento genético será realizado por um dos médicos pesquisadores, que lhe irá informar sobre a evolução de sua doença e a possibilidade de transmissão genética no caso de ser detectada a alteração genética estudada. Você não precisará pagar nada por isso. Você deverá manter seu endereço e telefone atualizados junto ao seu médico assistente, para que possa ser contatado pelo mesmo e informado sobre resultados ou resultados futuros que possam ser de seu interesse.

- A sua identidade não será revelada, apenas os pesquisadores pelo estudo terão acesso aos seus dados.

- Se um parente seu fizer parte do estudo, ele também terá que ler e assinar o termo de consentimento.

- Você terá o direito de ser mantido atualizado sobre os estudos parciais das pesquisas, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores.

- O estudo será totalmente gratuito, você não terá que pagar nada por ele e nem receberá compensação financeira pelo mesmo.

- Garantia de acesso: em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o Dr. Vitor Tumas, que pode ser encontrado no Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, Disciplina de

Neurologia, Setor de Distúrbios do Movimento. Telefone(S) (16) 36022436, (16) 36022391. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Av. Bandeirantes, 3.900 – Campus Universitário – Monte Alegre – 14.048-900. E-mail: cep@hcrp.fmrp.usp.br.

- É garantida a liberdade de retirada de consentimento a qualquer momento e de decidir deixar de participar do estudo. Caso você não queira ou desista de participar desse estudo, isto não o prejudicará em nada com relação ao seu acompanhamento médico de rotina, caso venha necessitar do mesmo.

- Em caso de dano pessoal diretamente causado pelos procedimentos, o participante tem direito a tratamento médico no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, bem como as indenizações legalmente estabelecidas.

DECLARAÇÃO

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o “**Estudo Multicêntrico sobre genética da Doença de Parkinson em paciente latino-americanos**”. Eu discuti com Dr. Vitor Tumas e/ou com o Dr. _____ sobre a minha decisão em participar deste estudo.

Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, os desconfortos, os riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

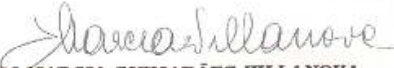
Assinatura: _____
Nome completo do paciente: _____
Endereço: _____
Cidade: _____ Estado: _____
CEP: _____ Telefone: _____
Data: _____

Assinatura: _____
Testemunha da paciente: _____

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para participação neste estudo. (Somente para o responsável do projeto)

Assinatura do responsável pelo estudo: _____
Data: _____

ANEXO B – Aprovação pelo Comitê de Ética e Pesquisa do HCFMRP-USP

	<p>HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO</p>	
<p>Ofício n.º 2171/2013 CEP/MGV</p>		<p>Ribeirão Preto, 13 de junho de 2013.</p>
<p><u>PROCESSO HCRP N.º. 3977/2008</u></p>		
<p>Prezado Pesquisador,</p>		
<p>O Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 368ª Reunião Ordinária, realizada em 10/06/2013, <u>tomou ciência</u> do relatório parcial datado de 05/06/2013 com informações sobre o andamento da pesquisa: "ESTUDO MULTICÊNTRICO SOBRE GENÉTICA DA DOENÇA DE PARKINSON EM PACIENTES LATINO-AMERICANOS". O CEP aprovou a continuidade da pesquisa.</p>		
<p>Atenciosamente,</p>		
<p> DRª MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa do HCRP e da FMRP-USP</p>		
<p>Ilustríssimo Senhor PROF. DR. VITOR TUMAS Departamento de Neurociências e Ciências do Comportamento</p>		
<p>Campus Universitário - Monte Alegre 14046-900 - Ribeirão Preto - SP</p>	<p>Comitê de Ética em Pesquisa do HCRP e FMRP-USP PWA-00002/33; JRS-03002196 e Registro Plataforma Brasil / CONEP nº 5440 (016) 3602-2226 cep@hcrp.usp.br</p>	<p>www.hcrp.usp.br</p>

ANEXO C – Escala Unificada de Avaliação da Doença de Parkinson – versão da Movement Disorders Society (MDS-UPDRS)

MDS-UPDRS			3.3a	Rigidez – cervical	
DATA DO EXAME:			3.3b	Rigidez – MSD	
1. A fonte de informação:			3.3c	Rigidez – MSE	
<input type="checkbox"/> Paciente <input type="checkbox"/> Cuidador <input type="checkbox"/> Ambos			3.3d	Rigidez – MID	
PARTE 1			3.3e	Rigidez – MIE	
1.1	Comprometimento cognitivo		3.4a	Batida dos dedos - MSD	
1.2	Alucinações ou Psicose		3.4b	Batida dos dedos - MSE	
1.3	Humor deprimido		3.5a	Movimentos manuais - MSD	
1.4	Ansiedade		3.5b	Movimentos manuais - MSE	
1.5	Apatia		3.6a	Pronação/supinação - MSD	
1.6	Sintomas SDR		3.6b	Pronação/supinação - MSE	
Quem preencheu o Formulário?			3.7a	Batida dos dedos - MID	
<input type="checkbox"/> Paciente <input type="checkbox"/> Cuidador <input type="checkbox"/> Ambos			3.7b	Batida dos dedos - MIE	
1.7	Problemas de sono		3.8a	Agilidade das pernas - MID	
1.8	Sonolência diurna		3.8b	Agilidade das pernas – MIE	
1.9	Dor e outras sensações		3.9	Levantando da cadeira	
1.10	Problemas urinários		3.10	Marcha	
1.11	Constipação		3.11	Congelamento de marcha	
1.12	Tontura ao levantar		3.12	Estabilidade postural	
1.13	Fadiga		3.13	Postura	
PARTE 2			3.14	Espontaneidade global de mov.	
2.1	Fala		3.15a	Tremor postural – MSD	
2.2	Saliva e babação		3.15b	Tremor postural – MSE	
2.3	Mastigação		3.16a	Tremor cinético – MSD	
2.4	Alimentação		3.16b	Tremor cinético – MSE	
2.5	Vestir		3.17a	Tremor repouso amp - MSD	
2.6	Higiene		3.17b	Tremor repouso amp - MSE	
2.7	Escrita		3.17c	Tremor repouso amp - MID	
2.8	Praticar hobbies e outras atividades		3.17d	Tremor repouso amp - MIE	
2.9	Viver na cama		3.17e	Tremor de repouso amp - Lábios/mandíbula	
2.10	Tremor		3.18	Constância do tremor	
2.11	Levantar da cama		Há discinesias?		<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
2.12	Marcha e Equilíbrio		As discinesias interferem com o exame?		<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
2.13	Congelamento (freezing)		Estádio de Hoehn & Yahr		
2.13 ^a	Esta usando medicação?	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	PARTE 4		
2.13b	Estado clínico	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	4.1	Tempo com discinesias	
2.13c	Está usando levodopa?	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	4.2	Impacto funcional	
2.13c1	Se sim, minutos da última tomada:		4.3	Tempo em OFF	
PARTE 3			4.4	Impacto funcional das flutuações	
3.1	Fala		4.5	Complexidade flutuações	
3.2	Expressão facial		4.6	Distonia dolorosa em OFF	

Fonte: C.G. GOETZ ET AL., 2008

ANEXO D – Avaliação cognitiva pelo teste de Montreal, MOCA - Montreal Cognitive Assessment

MONTREAL COGNITIVE ASSESSMENT (MOCA) Versão Experimental Brasileira
 Nome: _____ Data de nascimento: ____/____/____
 Escolaridade: _____ Data de avaliação: ____/____/____
 Sexo: _____ Idade: _____

VISUOESPACIAL / EXECUTIVA		Copiar o cubo		Desenhar um RELÓGIO (onze horas e dez minutos) (3 pontos)		Pontos		
				<input type="checkbox"/> Contorno <input type="checkbox"/> Números <input type="checkbox"/> Ponteiros		___/5		
NOMEAÇÃO								
						___/3		
MEMÓRIA								
Leia a lista de palavras. O sujeito deve repeti-la, faça duas tentativas. Evocar após 5 minutos.			Rosto	Veludo	Igreja	Margarida	Vermelho	Sem Pontuação
1ª tentativa								
2ª tentativa								
ATENÇÃO								
Leia a sequência de números (1 número por segundo).		O sujeito deve repetir a sequência em ordem direta		<input type="checkbox"/> 2 1 8 5 4		___/2		
		O sujeito deve repetir a sequência em ordem indireta		<input type="checkbox"/> 7 4 2				
Leia a série de letras. O sujeito deve bater com a mão (na mesa) cada vez que ouvir a letra "A". Não se atribuem pontos se ≥ 2 erros.		<input type="checkbox"/> F B A C M N A A J K L B A F A K D E A A A J A M O F A A B				___/1		
Subtração de 7 começando pelo 100		<input type="checkbox"/> 93	<input type="checkbox"/> 86	<input type="checkbox"/> 79	<input type="checkbox"/> 72	<input type="checkbox"/> 65	___/3	
4 ou 5 subtrações corretas: 3 pontos; 2 ou 3 corretas: 2 pontos; 1 correta: 1 ponto; 0 correta: 0 ponto								
LINGUAGEM								
Repetir: Eu somente sei que é João quem será ajudado hoje.		<input type="checkbox"/>		O gato sempre se esconde embaixo do Sofá quando o cachorro está na sala.		<input type="checkbox"/>	___/2	
Fluência verbal: dizer o maior número possível de palavras que comecem pela letra F (1 minuto).		<input type="checkbox"/> _____		(N ≥ 11 palavras)		___/1		
ABSTRAÇÃO								
Semelhança p. ex. entre banana e laranja = fruta		<input type="checkbox"/> trem - bicicleta		<input type="checkbox"/> relógio - régua		___/2		
EVOCAÇÃO TARDIA								
Deve recordar as palavras SEM PISTAS		Rosto	Veludo	Igreja	Margarida	Vermelho	Pontuação apenas para evocação SEM PISTAS	___/5
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
OPCIONAL								
Pista de categoria								
Pista de múltipla escolha								
ORIENTAÇÃO								
<input type="checkbox"/> Dia do mês		<input type="checkbox"/> Mês	<input type="checkbox"/> Ano	<input type="checkbox"/> Dia da semana	<input type="checkbox"/> Lugar	<input type="checkbox"/> Cidade	___/6	
© Z. Nasreddine MD www.mocatest.org Versão experimental Brasileira: Ana Luisa Rosas Sarmiento Paulo Henrique Ferreira Bertolucci - José Roberto Wajman (UNIFESP-SP 2007)						TOTAL Adicionar 1 pt se ≤ 12 anos de escolaridade	___/30	

ANEXO E – Escala de estadiamento motor Hoehn e Yahr (modificada)

Estagio 0	Nenhum sinal da doença
Estagio 1	Doença unilateral
Estagio 1,5	Envolvimento unilateral e axial
Estagio 2	Doença bilateral sem déficit de equilíbrio
Estagio 2,5	Doença bilateral leve, com recuperação no “teste do empurrão”
Estagio 3	Doença bilateral leve a moderada; alguma instabilidade postural; capacidade para viver independente.
Estagio 4	Incapacidade grave, ainda capaz de caminhar ou permanecer de pé sem ajuda.
Estagio 5	Confinado à cama ou cadeira de rodas a não ser que receba ajuda

Fonte: SHENKMAN ML et al. 2001

ANEXO F – Questionário fornecido pelo Projeto LARGE-PD

Projeto LARGE-PD

Número LARGE-PD: _____

Tipo: () HCRP () HCRP-Clínica Civil () CSE Cuiabá () Unifesp () Outro: _____

PARTE 1. Critérios de diagnóstico segundo o Banco de Cérebro de Londres

I. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

1. O paciente tem bradicinesia? () Sim () Não () Não sabe
2. O paciente tem pelo menos 1 dos seguintes:
 - a. O paciente tem rigidez? () Sim () Não () Não sabe
 - b. O paciente tem tremor de repouso 4-6Hz? () Sim () Não () Não sabe
 - c. O paciente tem instabilidade postural? () Sim () Não () Não sabe

II. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

O paciente tem algum dos critérios de exclusão? () Sim () Não () Não sabe

Critérios de exclusão: antecedentes de AVCs repetidos, progressão em degraus dos sintomas parkinsonianos, antecedentes de TCEs repetidos, antecedentes de encefalite, crise oculógiras, tratamento com neurolépticos no início dos sintomas, remissão duradoura dos sintomas, sintomas unilaterais após 3 anos de evolução, paralisia supra-nuclear do olhar vertical para baixo, sinais cerebelares, sinais de disautonomias precoces e acentuadas, demência precoce com transtornos amnésicos, da linguagem e apraxia, sinal de Babinski, presença de tumor cerebral ou hidrocefalia comunicante na tomografia computadorizada, falta de resposta a doses adequados de levodopa, exposição ao MPTP.

III. CRITÉRIOS QUE REFORÇAM O DIAGNÓSTICO

1. Início unilateral? () Sim () Não () Não sabe
2. Tremor de repouso presente? () Sim () Não () Não sabe
3. Quadro progressivo? () Sim () Não () Não sabe
4. Assimetria persistente > no lado de início? () Sim () Não () Não sabe
5. Tem excelente resposta a levodopa (70-100%)? () Sim () Não () Não sabe
6. Tem coréia induzida pela levodopa? () Sim () Não () Não sabe
7. Mantém resposta a levodopa por mais de 5 anos ou mais? () Sim () Não () Não sabe
8. Curso clínico > ou = 10 anos? () Sim () Não () Não sabe

IV. OUTROS DADOS

1. Estágio de Hoehn & Yahr: () 0 () 1 () 1,5 () 2 () 2,5 () 3 () 4 () 5
2. História de discinesias? () Sim () Não () Não sabe
3. Demência? () Sim () Não () Não sabe
4. Outras doenças neurodegenerativas? () Sim () Não () Não sabe
5. Outras doenças do paciente (especificar): _____
6. Tipo de parkinsonismo:
 - () Tremulante
 - () Rígido acinético
 - () Instabilidade postural da marcha
 - () Indeterminado

PARTE 2 – PACIENTES: Antecedentes demográficos, clínicos e familiares

1. Sintomas iniciais:
 - Bradicinesia
 - Rigidez
 - Tremor
 - Instabilidade postural
 - outro: _____

2. Localização do sintoma inicial:
 - Cabeça, rosto, pescoço
 - MSD
 - MID
 - MSE
 - MIE
 - Outro: _____

3. Início dos sintomas motores: Idade: _____ Ano: _____

4. Primeiro diagnóstico por um médico: Idade: _____ Ano: _____

5. Atualmente em uso de agonista dopaminérgico?
 - Sim, desde o ano: _____ até o ano: _____
 - Não

6. Se não está atualmente em uso de agonista, usou antes?
 - Sim, desde o ano: _____ até o ano: _____
 - Não

7. Atualmente em uso de levodopa?
 - Sim, desde o ano: _____ até o ano: _____
 - Não

8. Se não está atualmente em uso de levodopa, usou antes?
 - Sim, desde o ano: _____ até o ano: _____
 - Não

9. Idade atual: _____ Ano de Nascimento: _____

10. Sexo:
 Masculino
 Feminino
11. Número total de anos de Educação: _____
12. Até que série você estudou:
 Não estudou
 Primário incompleto
 Primário completo
 I grau (ginásio) incompleto
 I grau (ginásio) completo
 II grau (colegial) incompleto
 II grau (colegial) completo
 Superior (faculdade) incompleto
 Superior (faculdade) completo
13. Você é filho adotivo?
 Sim
 Não
14. Ancestrais do paciente:
 Africano
 Ameríndio
 Asiático
 Europeu
 Judeu
 Árabe
 Outro: _____
15. Detalhes dos ancestrais familiares:
Maternos: _____ Paternos: _____
16. Etnia:
 Hispano-americano
 Não-hispânico

17. Mais alguém da família tem Doença de Parkinson?

Sim

Não

Não sabe

18. Especificar o número de sujeitos afetados, possivelmente afetados ou não afetados pela Doença de Parkinson na família: _____ Número total de parentes acometidos pela Doença de Parkinson: _____

19. Desenho do Heredograma – Caracterização do paciente no pedigree



20. Outras doenças frequentes na família:

Demência

Tremor essencial

HAS

Diabetes

Cardiopatia

AVC

Epilepsia

Outra: _____

21. Estado civil:

Casado

Solteiro

Viúvo

Separado

Outro: _____

22. Qual é a sua atividade profissional atual?
- Profissional autônomo
 - Empregado sem carteira assinada
 - Empregado com carteira assinada
 - Do lar
 - Desempregado
 - Aposentado por tempo de serviço ou idade
 - Aposentado por invalidez
 - Outro: _____
23. Parou de trabalhar por causa da Doença de Parkinson?
- Sim
 - Não

PARTE 3 – Exposição ambiental

1. Você fumou pelo menos 100 cigarros (5 maços) durante toda a sua vida?
 Sim
 Não

2. Durante o tempo que fumou, quantos cigarros você fumou em média por dia?
 menos de ½ maço por dia durante ___ anos
 ½ maço ou mais de ½ maço, mas menos de 1 maço por dia durante ___ anos
 1 maço ou mais de 1 maço, mas menos que 2 maços por dia durante ___anos
 2 maços ou mais por dia durante ___ anos

3. Com que idade começou a fumar? ____ anos

4. Você ainda fuma?
 Sim
 Não
Se não, com que idade parou de fumar? ____anos

5. Com que frequência e por quanto tempo você toma (ou tomou) medicamentos do tipo anti-inflamatórios por sua própria conta e por quanto tempo?
 Menos de 1x/semana durante ___ anos
 Entre 1-4x/semana durante ___ anos
 Entre 5-10x/semana durante ___ anos
 Mais de 10 vezes/semana durante ___anos

6. Com que frequência e por quanto tempo você toma (ou tomou) Aspirina (AAS) e por quanto tempo?
 Menos de 1x/semana durante ___ anos
 Entre 1-4x/semana durante ___ anos
 Entre 5-10x/semana durante ___ anos
 Mais de 10 vezes/semana durante ____anos

7. Quanto café você bebe, ou bebeu, e durante quanto tempo?
 Nunca
 Menos de 2 xícaras/semana durante ___ anos
 Entre 2-6 xícaras/semana durante ___ anos
 Entre 1-2 xícaras/dia durante ___ anos
 Entre 3-5 xícaras/dia durante ___ anos
 Mais de 6 xícaras/dia durante ___ anos

8. Com que idade começou a beber café? ___ anos
9. Você ainda bebe café? () Sim () Não Se não, com que idade parou de beber? ___ anos
10. Quanto chá do tipo “chá mate”, “chá preto” ou “chá verde”, você bebe, ou bebeu, e durante quanto tempo?
- () Nunca
 - () Menos de 2 xícaras/semana durante ___ anos
 - () Entre 2-6 xícaras/semana durante ___ anos
 - () Entre 1-2 xícaras/dia durante ___ anos
 - () Entre 3-5 xícaras/dia durante ___ anos
 - () Mais de 6 xícaras/dia durante ___ anos
11. Com que idade começou a beber chá do tipo “chá mate”, “chá preto” ou “chá verde”? ___ anos
12. Você ainda bebe chá do tipo “chá mate”, “chá preto” ou “chá verde”?
- () Sim
 - () Não
- Se não, com que idade parou de beber? ___ anos
13. Quanto refrigerante você bebe, ou bebeu, e durante quanto tempo?
- () Nunca
 - () Menos de 2 latas/semana durante ___ anos
 - () Entre 2-6 latas/semana durante ___ anos
 - () Entre 1-2 latas/dia durante ___ anos
 - () Entre 3-5 latas/dia durante ___ anos
 - () Mais de 6 latas/dia durante ___ anos
14. Com que idade começou a beber refrigerante? ___ anos
15. Você ainda bebe refrigerante?
- () Sim
 - () Não
- Se não, com que idade parou de beber? ___ anos

16. Durante o período da sua vida que vai do seu nascimento até os 17 anos de idade, onde você residiu a maior parte do tempo?
- Em uma cidade grande com mais de 250.000 habitantes
 - Na periferia de uma cidade grande com mais de 250.000 habitantes
 - Em uma cidade média, com 100 mil a 250 mil habitantes
 - Em uma cidade pequena, com 25mil a 99 mil habitantes
 - Em uma cidade muito pequena, com 2 mil a 24 mil habitantes
 - Em uma fazenda na zona rural
 - Na zona rural, mas não em uma fazenda
17. Sua casa era próxima de plantações (a plantação era menos de 400 metros)?
- Sim
 - Não
 - Não sabe Se sim, qual era o tipo de plantação? _____
18. Qual a origem da água que vocês usavam para beber nessa residência?
- Água encanada da rede municipal
 - Água engarrafada ou mineral
 - Água de nascente
 - Água de um poço da comunidade
 - Água de um poço particular
 - Água da chuva
 - Água de rio/lago/represa/açude
 - Outra origem: _____
 - Não sabe
19. Durante o período da sua vida que vai dos 18 anos até os 25 anos de idade, onde você residiu a maior parte do tempo?
- Em uma cidade grande com mais de 250.000 habitantes
 - Na periferia de uma cidade grande com mais de 250.000 habitantes
 - Em uma cidade média, com 100 mil a 250 mil habitantes
 - Em uma cidade pequena, com 25mil a 99 mil habitantes
 - Em uma cidade muito pequena, com 2 mil a 24 mil habitantes
 - Em uma fazenda na zona rural
 - Na zona rural, mas não em uma fazenda

20. Sua casa era próxima de plantações (a plantação era menos de 400 metros)?
- Sim
 - Não
 - Não sabe
- Se sim, qual era o tipo de plantação? _____
21. Qual a origem da água que vocês usavam para beber nessa residência?
- Água encanada da rede municipal
 - Água engarrafada ou mineral
 - Água de nascente
 - Água de um poço da comunidade
 - Água de um poço particular
 - Água da chuva
 - Água de rio/lago/represa/açude
 - Outra origem: _____
 - Não sabe
22. Durante o período da sua vida que vai dos 26 anos até os 40 anos de idade, onde você residiu a maior parte do tempo?
- Em uma cidade grande com mais de 250.000 habitantes
 - Na periferia de uma cidade grande com mais de 250.000 habitantes
 - Em uma cidade média, com 100 mil a 250 mil habitantes
 - Em uma cidade pequena, com 25mil a 99 mil habitantes
 - Em uma cidade muito pequena, com 2 mil a 24 mil habitantes
 - Em uma fazenda na zona rural
 - Na zona rural, mas não em uma fazenda
23. Sua casa era próxima de plantações (a plantação era menos de 400 metros)?
- Sim
 - Não
 - Não sabe
- Se sim, qual era o tipo de plantação? _____

24. Qual a origem da água que vocês usavam para beber nessa residência?
- Água encanada da rede municipal
 - Água engarrafada ou mineral
 - Água de nascente
 - Água de um poço da comunidade
 - Água de um poço particular
 - Água da chuva
 - Água de rio/lago/represa/açude
 - Outra origem: _____
 - Não sabe
25. Durante o período da sua vida que vai dos 41 anos até os 60 anos de idade, onde você residiu a maior parte do tempo?
- Em uma cidade grande com mais de 250.000 habitantes
 - Na periferia de uma cidade grande com mais de 250.000 habitantes
 - Em uma cidade média, com 100 mil a 250 mil habitantes
 - Em uma cidade pequena, com 25mil a 99 mil habitantes
 - Em uma cidade muito pequena, com 2 mil a 24 mil habitantes
 - Em uma fazenda na zona rural
 - Na zona rural, mas não em uma fazenda
26. Sua casa era próxima de plantações (a plantação era menos de 400 metros)?
- Sim
 - Não
 - Não sabe
- Se sim, qual era o tipo de plantação? _____
27. Qual a origem da água que vocês usavam para beber nessa residência?
- Água encanada da rede municipal
 - Água engarrafada ou mineral
 - Água de nascente
 - Água de um poço da comunidade
 - Água de um poço particular
 - Água da chuva
 - Água de rio/lago/represa/açude
 - Outra origem: _____
 - Não sabe

28. Durante o período da sua vida que vai dos 61 anos até hoje, onde você residiu a maior parte do tempo?
- Em uma cidade grande com mais de 250.000 habitantes
 - Na periferia de uma cidade grande com mais de 250.000 habitantes
 - Em uma cidade média, com 100 mil a 250 mil habitantes
 - Em uma cidade pequena, com 25mil a 99 mil habitantes
 - Em uma cidade muito pequena, com 2 mil a 24 mil habitantes
 - Em uma fazenda na zona rural
 - Na zona rural, mas não em uma fazenda
29. Sua casa era próxima de plantações (a plantação era menos de 400 metros)?
- Sim
 - Não
 - Não sabe
- Se sim, qual era o tipo de plantação? _____
30. Qual a origem da água que vocês usavam para beber nessa residência?
- Água encanada da rede municipal
 - Água engarrafada ou mineral
 - Água de nascente
 - Água de um poço da comunidade
 - Água de um poço particular
 - Água da chuva
 - Água de rio/lago/represa/açude
 - Outra origem: _____
 - Não sabe
31. Durante a sua vida você bebeu álcool (cerveja, vinho, cachaça, licor) regularmente, quer dizer, você tomou bebida alcoólica toda semana por pelo menos 6 meses?
- Sim
 - Não
 - Não sabe
32. Com que idade começou a beber álcool regularmente?
- ___ anos
- não sabe

33. Atualmente você bebe álcool regularmente?
 Sim
 Não
 Não sabe
34. Com que idade você parou de beber álcool regularmente? ___ anos
 não sabe
 continua a beber álcool regularmente
35. Durante quanto tempo você bebeu álcool regularmente? ___ anos
 não sabe
36. Para termos uma ideia geral de quanto você bebia ou bebe, durante o tempo em que você bebeu álcool regularmente, quantas doses de bebida alcoólica você tomava ou toma por semana?
Em média ____
 Doses
 Copos
 Garrafas
 Latas de cerveja
 Cachaça/destilados
 Vinho
 Licor, ou
 Não sabe
37. Alguma vez você sofreu um trauma, choque ou pancada na cabeça que provocou um desmaio ou amnésia, isto é, um esquecimento dos fatos ocorridos?
 Sim
 Não
 Não Sabe
38. Quantos traumatismos na cabeça desse tipo você sofreu na vida toda?
 Um
 Dois
 Três
 Quatro
 Mais de quatro
39. Em que idade e ano ocorreram esses traumatismos? _____ ano: _____

40. Qual foi a profissão ou trabalho que você exerceu por mais tempo na sua vida?
Profissão: _____
41. Durante quantos anos você exerceu esse trabalho ou profissão? _____ anos
42. Você já trabalhou na lavoura?
 Sim
 Não
 Não sabe
43. Você já trabalhou com metais pesados (arsênio, cádmio, cromo, cobre, chumbo, mercúrio, manganês, níquel ou zinco)?
 Sim
 Não
 Não sabe, em caso de positivo, com que metal? _____
44. Durante quantos anos você trabalhou com metais pesados? _____ anos
 Não sabe
45. Durante a sua vida você teve algum emprego em que você misturava ou aplicava algum tipo de pesticida ou “veneno”, como herbicidas, fungicidas, inseticidas, raticidas ou fumigação (aplicação de fumaças com venenos)?
 Sim
 Não
 Não Sabe
46. Durante quanto tempo você trabalhou aplicando ou misturando “venenos”?
_____ anos, () não sabe
47. Durante esses anos todos, mais ou menos quantos dias por ano você mexeu com “venenos”?
 1 a 5 dias ao ano
 6 a 10 dias ao ano
 11 a 30 dias ao ano
 Mais de 30 dias ao ano
 Não sabe

48. Durante a sua vida você usou alguma vez produtos para matar insetos ou outras pragas, plantas, mato, mofo, etc., dentro ou ao redor de sua casa, ou no jardim, ou para tratar seu animal de estimação?

- Sim
- Não
- Não Sabe

49. Durante quanto tempo você usou “venenos” fora do trabalho? ____ anos

- Não sabe

50. Durante esses anos todos, mais ou menos quantos dias por ano você mexeu com “venenos” fora do trabalho?

- 1 a 5 dias ao ano
- 6 a 10 dias ao ano
- 11 a 30 dias ao ano
- Mais de 30 dias ao ano
- Não sabe

51. Durante o período da sua vida que vai dos 10 aos 25 anos de idade, como eram suas atividades físicas?

- Eu raramente fazia atividades físicas de qualquer intensidade
- Eu fazia um pouco de atividade física leve a moderada
- Eu fazia atividades físicas leves toda semana
- Eu fazia atividades física moderadas toda semana
- Eu fazia atividades física intensas toda semana

52. Durante o período da sua vida que vai dos 26 aos 40 anos de idade, como eram suas atividades físicas?

- Eu raramente fazia atividades físicas de qualquer intensidade
- Eu fazia um pouco de atividade física leve a moderada
- Eu fazia atividades físicas leves toda semana
- Eu fazia atividades física moderadas toda semana
- Eu fazia atividades física intensas toda semana

53. Durante o período da sua vida que vai dos 41 até o início da Doença de Parkinson ou até 5 anos atrás, como eram suas atividades físicas?

- () Eu raramente fazia atividades físicas de qualquer intensidade
- () Eu fazia um pouco de atividade física leve a moderada
- () Eu fazia atividades físicas leves toda semana
- () Eu fazia atividades física moderadas toda semana
- () Eu fazia atividades física intensas toda semana

54. Atualmente, como são as suas atividades físicas?

- () Eu raramente faço atividades físicas de qualquer intensidade
- () Eu faço um pouco de atividade física leve a moderada
- () Eu faço atividades físicas leves toda semana
- () Eu faço atividades física moderadas toda semana
- () Eu faço atividades física intensas toda semana

Nota:

Especificações sobre atividades físicas:

Atividades físicas leves: caminhar, limpar a casa.

Atividades físicas moderadas: caminhar rápido, nadar devagar, aula de ginástica, dançar, etc.

Atividades físicas intensas: correr, jogar futebol, jogar tênis, nadar rápido, etc.