



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS**

FERNANDO CINI FREITAS

**ASSOCIAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS SÉRICOS DE
NEOPTERINA E A DOENÇA DE PARKINSON**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**Florianópolis
2012**

FERNANDO CINI FREITAS

**ASSOCIAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS SÉRICOS DE
NEOPTERINA E A DOENÇA DE PARKINSON**

Dissertação de mestrado apresentada à Banca Examinadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Médicas.

Orientador:
Prof. Dr. Roger Walz

Área de Concentração: Doenças do adulto: investigação de aspectos clínicos e epidemiológicos.

Florianópolis
2012

Catálogo na fonte pela Biblioteca Universitária
da
Universidade Federal de Santa Catarina

F866a Freitas, Fernando Cini
Associação dos níveis séricos de neopterina com gravidade
de doença de Parkinson [dissertação] / Fernando Cini Freitas ;
orientador, Roger Walz. - Florianópolis, SC, 2012.
1 v.: il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-
Graduação em Ciências Médicas.

Inclui referências

1. Ciências médicas. 2. Doença de Parkinson. 3. Neopterina.
I. Walz, Roger. II. Universidade Federal de Santa Catarina.
Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas. III. Título.

CDU 61

ASSOCIAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS SÉRICOS DE NEOPTERINA E A DOENÇA DE PARKINSON

Fernando Cini Freitas

Dissertação apresentada pelo aluno Fernando Cini Freitas ao Programa de Pós Graduação em Ciências Médicas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Médicas.

Prof. Dr. Roger Walz – Departamento de Clínica Médica,
Centro de Ciências da Saúde
- Universidade Federal de Santa Catarina
Orientador

Profa Dra Márcia Margarete Menezes Pizzichini
Coordenadora do PPGCM

Comissão Julgadora

Prof. Dr. Felipe Dal Pizzol – Departamento de Medicina –
Universidade do Extremo Sul Catarinense

Prof. Dr. João Luciano Quevedo – Departamento de
Medicina – Universidade do Extremo Sul Catarinense

Profa. Dra. Alexandra Latini –
Departamento de Bioquímica – UFSC

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho aos pacientes e seus familiares que compreenderam os objetivos do trabalho e possibilitaram sua realização do mesmo.

AGRADECIMENTOS

À minha mãe Maria e meu pai Airston pelo exemplo de responsabilidade e dedicação aos estudos.

Agradeço ao Professor Roger Walz pelas oportunidades, incentivo e ensinamentos. É admirável sua persistência em contribuir cada vez mais com o progresso da ciência e da assistência médica de qualidade. Ao Professor Marcelo Linhares, por acreditar em mim.

Aos meus colegas Alexandre Paim, Ricardo Guarnieri, Maria Emília Thais, Denise Carvalho, Carla Pauli e Gisele Cavallazzi.

Aos professores e colegas do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da UFSC, que contribuíram com suas sugestões, críticas e orientações ao longo desses 2 anos.

Agradeço à Universidade Federal de Santa Catarina, especialmente ao Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas e Hospital Universitário, ao Hospital Governador Celso Ramos, instituições que possibilitaram a realização desse trabalho.

“Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina”

Cora Coralina

RESUMO

Justificativa: Evidências apontam para o envolvimento do sistema imune e neuroinflamação na gênese e progressão da doença de Parkinson. Neste trabalho investigamos a associação entre níveis séricos de neopterina, um marcador de ativação inflamatória, e a doença de Parkinson.

Objetivos: Determinar a existência de alterações nos níveis séricos de neopterina em pacientes com doença de Parkinson e sua associação com a gravidade dos sintomas motores e não motores.

Desenho do Estudo: Estudo transversal de associação, transversal.

Método: Foram incluídos 51 pacientes consecutivos, em diferentes estágios da doença de Parkinson, atendidos no ambulatório de distúrbios do movimento do HGCR e comparados com 38 controles. Foi avaliada a associação independente entre os escores de sintomas neurológicos motores avaliados através da escala UPDRS - parte III, sintomas cognitivos avaliados através das escalas MEEM e MOCA e os níveis séricos de neopterina. Todos os pacientes estavam em seu melhor estado clínico-farmacológico "ON". **Resultados:** nível plasmático médio de neopterina foi significativamente ($p < 0.0001$) mais elevado nos pacientes com doença de Parkinson (mínimo 0,3 e máximo 26,3 nmol/L – média $10,5 \pm 1,0$ nmol/L) em comparação ao grupo controle (mínimo 0,90 nmol/L e máximo 7,2 nmol/L – média $2,6 \pm 1,41$ nmol/L). Além disso, 26 dos 51 pacientes (50,9% dos casos) apresentaram níveis séricos de neopterina superiores a 10nmol/L. A análise por regressão linear múltipla observou-se ainda uma associação positiva entre a escala

UPDRS-III e a idade ($p = 0,01$) e a duração da doença ($p = 0,01$). Houve também uma tendência significativa para uma correlação entre os níveis séricos de neopterinina e a escala MEEM (Coeficiente B = 0,49; $p = 0,05$).

Conclusão: Pacientes com doença de Parkinson apresentam níveis séricos de neopterinina significativamente elevados e estes estiveram inversamente correlacionados à maior gravidade dos sintomas motores e não motores da doença. Os achados sugerem que a neopterinina possa ser um potencial biomarcador para a doença de Parkinson.

Palavras-chave: Doença de Parkinson. Neopterinina.

ABSTRACT

ASSOCIATION OF NEOPTERIN SERIC LEVELS AND PARKINSON'S DISEASE

Racional: Recent reviews suggest a participation of immune system and neuroinflammation in the genesis and progression of Parkinson's disease. In this study we investigate the association of blood levels of neopterin, an immune activation marker, and Parkinson's disease. **Objectives:** To determine the presence of alteration of blood levels of neopterin in patient with Parkinson's disease and association with motor and non motor symptoms severity. **Study Design:** Association transversal study. **Method:** It was including 51 consecutive patients, in different stage of the disease, evaluated in Hospital Governador Celso Ramos Outpatients Movement Disorders and they were compared to 38 controls. There was evaluated the independent association between motor feature, evaluated through UPDRS – part III, cognitive feature, evaluated through MMS and MoCA, and blood levels of neopterin. All patients were on best ON state. **Results:** The mean plasmatic level of neopterin was significantly more elevated in the patients with Parkinson's disease (min 0,3 e max 26,3 nmol/L – mean $10,5 \pm 1,0$ nmol/L) in comparison to the control group (min 0,90 nmol/L and max 7,2 nmol/L – mean $2,6 \pm 1,41$ nmol/L). 26 of 51 patients (50,9% of the cases) showed blood levels of neopterin higher than 10nmol/L. The analyze through multiple linear regression showed positive association among UPDRS-III and age

($p=0,01$) and duration of disease ($p=0,01$). There also were significant tendency to correlation between blood levels neopterin and MMS scale (Coefficient B = 0,49, p 0,05). **Conclusion:** Patients with Parkinson's Disease showed significantly higher levels of neopterin and there were inverse correlation with severity of motor and non motor feature. This finding suggests that neopterin can be a potential biomarker to Parkinson's disease.

Keywords: Parkinson's Disease. Neopterin.

LISTA DE FIGURAS

Figura I: Associação entre níveis séricos de neopterina e escala UPDRS-III

Figura II: Associação entre níveis séricos de neopterina e MOCA

Figura III: Associação entre níveis séricos de neopterina e MEEM

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Variáveis Clínicas, demográficas, farmacológicas e níveis séricos de neopterinina associados com UDPRS-III, MOCA e MMSE.

Tabela 2: Modelo de regressão linear múltipla mostrando a associação entre variáveis independentes e variáveis clínicas, demográficas, farmacológicas e escalas de UPDRS-III, MOCA e MMSE de pacientes com Doença de Parkinson.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BDNF - Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro
CCB – Centro de Ciências Biológicas
DP – Doença de Parkinson
EGF – Fator de crescimento eritroblástico
EUA- Estados Unidos da América
FGF – Fator de Crescimento de Fibroblasto
HGCR Hospital Governador Celso Ramos
HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana
IL - Interleucina
MEEM – Mini Exame do Estado Mental
MOCA – Montreal Cognitive Assesment – Acesso Cognitivo de Montreal
NT3 - Neurotrofina 3
NT4- Neurotrofina 4
SIDA – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
TGF – Fator de crescimento transformador
TNF – Tumor Necrosis Factor – Fator de Necrose Tumoral
UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina.
UPDRS – Unified Parkinson Disease Rate Scale – Escala Unificada de Doença de Parkinson

SUMÁRIO

I.	REFERENCIAL TEÓRICO	15
I.1	Introdução	15
I.1.1	Doença de Parkinson	15
I.1.2.	Doença de Parkinson e Neuroinflamação	18
I.1.3.	Neopterina	26
I.2	Justificativa	29
I.3	Hipótese	33
II.	OBJETIVOS	34
II.1	Objetivo Geral	34
II.2	Objetivos Específicos	34
III.	MÉTODOS	35
III.1	Delineamento do Estudo	35
III 2	Participantes/Amostra	37
III.3	Avaliação Clínica e Neurológica	38
III.4	Avaliação Laboratorial	38
III.5	Análise Estatística	40
III.6	Aspectos Éticos	42
IV.	RESULTADOS	43
V.	DISCUSSÃO	48
VI.	CONCLUSÕES E IMPLICAÇÕES	52
VII.	REFERÊNCIAS	54
VIII.	Anexos	69

I REFERENCIAL TEÓRICO

I.1 INTRODUÇÃO

I.1.1 Doença de Parkinson

A doença de Parkinson foi primeiramente descrita em 1817(1). É uma patologia neurológica progressiva que acarreta limitação física resultante de uma combinação de distúrbios específicos do movimento. O distúrbio de movimento denominado bradicinesia é caracterizado pela lentidão de início de movimentos voluntários com progressiva diminuição da velocidade e amplitude de seqüências motoras, associado, ao menos, com mais um de três distúrbios de movimento, como: tremor, rigidez ou instabilidade postural (2). Estas manifestações são o resultado da perda de neurônios dopaminérgicos da *pars compacta* da substância negra, com projeções para o núcleo estriado do cérebro (3). Esta dificuldade pode ser minimizada substancialmente, na maioria dos casos, com tratamento com levodopa (4, 5).

A Doença de Parkinson é a segunda doença neurodegenerativa mais comum em humanos, afetando, somente nos Estados Unidos, aproximadamente um milhão de pessoas (6). Um estudo conduzido no norte da Suécia evidenciou uma incidência cumulativa, próxima de 3%, em uma população acima de 89 anos de idade. Pacientes com Doença de Parkinson vivem com maior prejuízo funcional, pior qualidade de vida e risco aumentado para mortalidade precoce, quando comparado à população geral (7-11).

Os custos do tratamento da Doença de Parkinson são substanciais e provavelmente aumentarão no futuro(10). Com a evolução do tratamento dos sintomas motores, os sintomas não-motores da doença, particularmente transtornos neuropsiquiátricos e o prejuízo cognitivo, têm sido reconhecidos como as maiores causas de prejuízo funcional (11-16). No entanto, a maioria dessas comorbidades continuam sub-reconhecidas e sub-diagnosticadas na prática clínica (17-19).

Apesar de conceituada como desordem motora, pacientes com doença de Parkinson apresentam uma variedade de sintomas não

motores que incluem desordens do sistema autonômico que podem preceder os sintomas motores em 10 anos (20-25).

Tantos os casos esporádicos como os casos familiares resultam da quase completa perda de neurônios dopaminérgicos na *pars compacta* da substância negra, com a presença de inclusões proteináceas intracitoplasmáticas de alfa sinucleína chamados corpos de Lewy (26-28). Ainda não há marcadores biológicos disponíveis, mas a Doença de Parkinson pode ser distinguida das formas atípicas ou secundárias através de critérios clínicos (4, 29). A maioria dos casos é esporádica (90 a 95%), enquanto casos familiares constituem apenas 5 a 10% (30).

A progressão da doença de Parkinson é comumente associada à degeneração progressiva de neurônios dopaminérgicos, e uma perda de 70 a 80% desta população esta sucumbida quando os sintomas clínicos se tornam evidentes (31). A confirmação patológica ocorre através do encontro de severa perda de neurônios pigmentados na porção ventral da substância negra com a presença dos corpos de Lewy nestas regiões específicas do sistema nervoso (28).

Muitos estudos mostraram ser significativa a perda neuronal que ocorre antes dos sintomas clínicos (32). No estadiamento de Braak (32), a perda neuronal na Substância Negra só ocorre de forma suficiente para provocar sintomas no estágio quarto, e neste estágio, o número de outras estruturas no tronco cerebral e região cortical frontal possui significantes depósitos de alfa-sinucleína sem perda neuronal. Isso sugere que ocorre depósito de alfa-sinucleína na substancia negra em fases pré-clínicas.

Embora haja controvérsia sobre onde ocorre a iniciação, em fases precoces ocorre depósitos de alfa-sinucleína sem perda neuronal importante (8, 20). Estas alterações anatomo-patológicas são acompanhadas de significativa reação glial, e acredita-se que estas alterações são importantes na condução da progressão da doença (8).

I.1.2 Doença de Parkinson e Neuroinflamação

Partindo do conceito de que a Doença de Parkinson parece ser uma doença multifatorial, com fatores genéticos, estresse oxidativo e processos de neuroinflamação (33-35), depara-se com

mecanismos patogênicos não completamente compreendidos. A Doença de Parkinson é uma doença neurodegenerativa que acomete os gânglios da base em que estão presentes alterações do sistema imune (36). Uma das principais características da relação entre inflamação e doença de Parkinson são o aumento dos níveis de citocinas no striatum e líquido céfalo-raquidiano de pacientes parkinsonianos comparado com indivíduos controle (37). Essas características incluem citocinas pró-inflamatórias (fator de necrose tumoral – TNF-alfa, IL-1beta, IL-6), citocina associada à ativação de células T (IL-2), citocina anti-inflamatória (IL-4) e vários fatores de crescimento (EGF, TGF-alfa, bFGF, TGF-beta1). Essas alterações são corroboradas pelo estudo de Brodacki et al (38), que encontrou concentrações séricas das interleucinas IL-2, IL-10, IL-6, IL-4, TNF-alfa, e INF-gama elevadas em pacientes com parkinsonismo atípico e idiopático, o que fala a favor do envolvimento de eventos imunológicos no processo neurodegenerativo da doença de Parkinson. Outro estudo que demonstrou essa relação foi o trabalho de Chen et al(39), o qual encontrou concentrações plasmáticas elevadas de IL-6, prospectivamente associadas com um aumento no risco de se desenvolver Doença de Parkinson. Este risco esteve associado

independentemente dos outros fatores de risco para Doença de Parkinson. No entanto, as alterações imunológicas encontradas na Doença de Parkinson podem ser parcialmente atribuídas à administração de Levodopa (40). Por outro lado, um estudo brasileiro (35) não encontrou diferença em citocinas de sangue periférico de sujeitos com doença de Parkinson e controles.

O stress oxidativo é outro importante fator a ser considerado no processo degenerativo da Doença de Parkinson. A inflamação derivada do stress oxidativo e da toxicidade citocina-dependente pode resultar em degeneração da substância negra e acelerar a progressão da doença de Parkinson. A ocorrência do stress oxidativo na doença de Parkinson é confirmada tanto por estudos post-mortem quanto por estudos que demonstraram a capacidade do stress oxidativo e de toxinas oxidantes para induzir degeneração em células da *par compacta* da substância negra (41).

A formação excessiva de oxigênio reativo e espécies nitrogenadas na doença de Parkinson pode danificar componentes celulares, havendo evidências para o aumento do dano oxidativo de

lipídeos, proteínas e DNA. A oxidação protéica basal está aumentada na substância negra na doença de Parkinson, havendo um aumento dos níveis de carbonil (42). Produtos do dano oxidativo podem contribuir para a degeneração da substância negra na doença de Parkinson. Stress oxidativo pode também estar intimamente relacionado a outros processos envolvidos na morte celular, como dano mitocondrial, inflamação, excitotoxicidade, e aos efeitos tóxicos do óxido nítrico (43). No entanto, não se sabe como o stress oxidativo está relacionado à evolução da neurodegeneração da substância negra ou como esse processo está envolvido em outros relacionados à cascata de eventos que levam à morte das células dopaminérgicas.

Tecnologias avançadas em descrever genes envolvidos com o aumento de risco de Doença de Parkinson estão surpreendentemente convergindo para duas áreas: genética e bioquímica, reforçando a importância dos mesmos processos, disfunção mitocondrial e radical livre(44). A proteína Parkin é transcrita na presença de retículo endoplasmático, complexo de Golgi, vesículas sinápticas e mitocôndria(45). A mutação no parkin gene (PARK2) é responsável por quase a metade de todos os casos de Doença de Parkinson autossômica

recessiva, especialmente aquelas de início precoce(46). A ausência de corpos de Lewy nestes indivíduos levou a postular que poderia ser uma síndrome distinta da esporádica, entretanto, estudos sugerem que ambas as entidades dividem o mesmo mecanismo neurotóxico, incluindo deficiências nas atividades do Complexo I e IV(47).

Fatores tróficos, dentre eles o Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF), neurotrofina 3 e neurotrofina 4 (NT3 e NT4), são proteínas importantes para a sobrevivência e função de subpopulações celulares específicas (42, 48). O BDNF promove a sobrevivência de neurônios dopaminérgicos e os protege de toxicidade *in vitro* (27) e é um dos fatores neurotróficos mais importantes envolvidos na sobrevivência e proliferação celular neuronal. A expressão dessa proteína está reduzida no sistema nervoso de indivíduos com doença de Parkinson (48). Por causa do potencial terapêutico dos fatores tróficos nos transtornos neurológicos, pesquisas nessa área têm crescido consideravelmente.

A neuroinflamação na gênese e na progressão da doença de Parkinson vem recebendo um forte enfoque nos últimos anos (33, 34, 49-52). A neuroinflamação está associada a várias desordens

neurodegenerativas, mas algumas questões ainda permanecem sem respostas. Seria a neuroinflamação uma resposta à morte neuronal ou um processo que contribui para a neurodegeneração. Por muitos anos se considerou o cérebro como imuno privilegiado devido à barreira hematoencefálica ser capaz de prevenir que componentes imunes entrassem no sistema nervoso central. Agora é aceito que a maioria das células imunes pode ser encontrada no cérebro, que o cérebro possui suas próprias populações de células imunes e que cerca de 20% do total de células gliais são derivadas de células hematopoiéticas (53).

A ativação da micróglia foi primeiramente descrita por McGreer em 1988 (26). Imamura (54), em 2003, identificou ativação de micróglia no putamem, hipocampo, córtex transentorinal, córtex cingulado e córtex temporal em cérebros com doença de Parkinson. Ouchi (55) em 2005, usando tomografia por emissão de pósitrons (PET – pósitron emission tomography) em uma casuística de 10 pacientes, estabeleceu ativação da micróglia em estágios precoces de doença de Parkinson.

Estudos com tomografia de emissão de pósitrons mostraram que os mecanismos de iniciação da doença de Parkinson diferem dos mecanismos de progressão (56), embora o mecanismo molecular permaneça especulativo. Um modelo de alfa sinucleína semelhante ao processo infeccioso de doença de príon foi proposto (32, 57, 58). Em pacientes com transplantes de neurônios fetais, corpos de Lewy imunopositivos para alfa synucleína ocorreram após 10 anos (57, 59). Estes estudos sugerem que a progressão da doença de Parkinson pode estar direcionada através de interação célula para célula envolvendo alfa-sinucleína. Células da glia estão envolvidas em todos os contatos celulares no cérebro, e evidências sugerem o envolvimento de células da glia na progressão da doença de Parkinson (60).

Se a iniciação da doença ocorre nos primeiros depósitos de alfa-sinucleína, então astrócitos estão envolvidos nesta fase e acumulam alfa-sinucleína em seu citoplasma (61). Os astrócitos perdem sua reatividade normal e a razão disso, ainda que especulativa, seria a expressão alterada de beta-sinucleína, que perderia a função ligante para impedir a formação de fibras, levando ao acúmulo de alfa-

sinucleína (61). A progressão da neurodegeneração foi identificada devido à disfunção astrocitária na expressão de moléculas inflamatórias que induziriam a ativação microglial (62, 63).

Evidências recentes mostram duas populações distintas de micróglia no sistema nervoso central. As recentemente derivadas do sangue e as residentes de longa data, e que atuam de maneiras distintas(64). Toda micróglia ativada tem a capacidade de produzir citocinas (65) envolvidas na mediação da inflamação e que podem contribuir diretamente para neurodegeneração(66, 67), como já se é suspeito na Doença de Alzheimer, outra doença neurodegenerativa. A supressão da ativação da microglia pode representar um objetivo terapêutico.

Aumento na concentração de citocinas pró inflamatórias tem sido identificado no estriatum (37, 68, 69), na substância negra (70), no plasma (71-73) e no líquido cefalorraquidiano (37, 74-76). Um marcador inflamatório da ativação da microglia poderia ser útil para a verificação de uma efetiva intervenção anti-inflamatória (52). Supressão de micróglia ativada reduziu a neurodegeneração

dopaminérgica, sugerindo que processos imunes envolvendo micróglia estão por trás da progressão da neurodegeneração (77).

I.1.4 Neopterina:

A neopterina (D-erythro-1', 2', 3'-trihydroxypropylpterin) é um marcador biológico de ativação do sistema imune. Tem importância na patogênese e na progressão de várias doenças: infecciosas, auto-imunes ou inflamatórias, rejeição de órgãos e diversas doenças malignas. A neopterina é um componente de pirazino-pirimidina, de peso molecular de 253 D, pertencente à classe das pteridinas. Pteridina é um componente químico da fusão de anéis de pirazino-pirimidina. É um grupo heterocíclico contendo uma larga variedade de substituições em sua estrutura (78).

Sua liberação é dada por macrófagos/monócitos ativados por interferon-gama, que foram produzidos por linfócitos-T ativados. A citocina interferon-gama foi identificada como a única citocina que induz a significativa produção de neopterina (79). Outras citocinas são incapazes de funcionar desta maneira. Até mesmo fator de necrose

tumoral não é capaz de induzir diretamente a formação de neopterina, entretanto, indiretamente através do interferon-gama, pode induzir.

O valor do monitoramento de neopterina é superior quando comparado diretamente a análise de interferon-gama. A neopterina é bioquimicamente inerte e sua meia-vida é variável somente devido à função renal. A mensuração de neopterina não só reflete o efeito do interferon-gama, mas permite determinar o total de efeito do sistema imunológico e a interação de populações de monócitos e macrófagos. E esta é a base do importante valor da análise de neopterina como ferramenta de imunodiagnóstico(80).

Altos níveis de neopterinas sérica estão relacionados com progressão mais rápida em pacientes infectados com HIV (81). Aumento dos níveis de neopterina estão correlacionados com maior risco de infecção secundária em estágios tardios de SIDA (82) e com rejeição de órgãos transplantados (83). Servindo nestas doenças como monitoramento da eficaz terapêutica e da redução ou normalização de níveis após a instituição da terapêutica.

Muitas doenças com inflamação do Sistema Nervoso Central estão associadas com aumentos nos níveis de neopterinina. Esta pteridina tem valor preditivo em surtos de esclerose múltipla (84); está elevada na neurocisticercose, diminuindo após o tratamento (85); e no líquido céfalo-raquídeo de crianças com infecção no sistema nervoso central (86). Níveis elevados de neopterinina também estão associados com muitos distúrbios degenerativos do Sistema Nervoso Central, como a doença de Alzheimer (87, 88).

Estudos envolvendo doenças com alteração nos níveis de neurotransmissores, tais como depressão, encontraram diminuição dos níveis de neopterinina (89) e estudos com envolvimento de doenças com alteração no sistema dopaminérgico, distonia responsiva a levodopa, com aumento dos níveis de neopterinina (90).

Experimentos em roedores com deficiência de interferon gama expostos a 1 metil 4 fenil 1,2,3,6 tetraidropiridina (MPTP), um indutor de doença de parkinson, evidenciou uma menor perda de células dopaminérgicas da substância negra *pars compacta* quando comparado a roedores sem deficiência de interferon(91).

Somente existe estudo associando a concentração de neopterina e doença de Parkinson em pacientes com doença avançada (92), onde se evidenciou aumento na formação de neopterina neste subgrupo. Este trabalho contou com vinte e dois pacientes e onze controles.

Levando-se em conta as evidências descritas, nosso trabalho pretende avaliar o envolvimento da neopterina em sangue periférico de pacientes com Doença de Parkinson em diferentes estágios, para verificara associação desta citocina com a progressão da doença, bem como com sintomas neurológicos.

I.2 Justificativa

A Doença de Parkinson é a segunda doença neurodegenerativa mais comum. A prevalência de Parkinsonismo em idosos no Brasil é cerca de 1,5% (93), sendo que uma das causas principais é a Doença de Parkinson idiopática. Pacientes com Doença de Parkinson vivem com maior prejuízo funcional, pior qualidade de

vida e risco aumentado para mortalidade precoce quando comparado à população geral.

Os custos do tratamento da doença de Parkinson são substanciais e provavelmente aumentarão no futuro (10). Características não-motoras são tão comuns quanto funcionalmente importantes (33, 94, 95). Com a evolução do tratamento dos sintomas motores, os sintomas não-motores da doença, particularmente transtornos neuropsiquiátricos e o prejuízo cognitivo, têm sido reconhecidos como as maiores causas de prejuízo funcional (21).

Em alguns casos ocorre uma exclusão do convívio social, e os portadores de doença de Parkinson poderiam se beneficiar de um tratamento correto com a possibilidade de uma melhor qualidade de vida e de bem estar, de uma reintegração à sociedade e, até mesmo, do reposicionamento no campo de trabalho(93). No Brasil, já existe centros especializados neste tipo de tratamento em quase todas as capitais. São poucos os profissionais neurologistas que se dedicam ao estudo e tratamento deste tipo de enfermidade.

Xiang Gao(96), em uma recente publicação de um estudo coorte de seis anos com 136.197 pacientes, evidenciou um risco relativo significativamente mais baixo, de 0.62, ajustado por idade e outras covariantes, para pacientes em uso prolongado de ibuprofeno, um antiinflamatório não esteroidal. Há forte sugestão na literatura que tanto o início quanto a progressão da Doença de Parkinson estejam mediados por inflamação tanto em células da glia quanto em neurônios, mas o uso de terapia antiinflamatória ainda não está claro, embora pareça existir um menor risco relativo(97).

Nossa proposta é estudar se a neopterina colhida em sangue periférico, um marcador inflamatório, está alterado em pacientes com a doença de Parkinson. Este marcador será avaliado em pacientes com doença de Parkinson em diferentes estágios, para verificar a possível associação destas citocinas com a progressão da doença, bem como com os sintomas neurológicos.

Doenças neurodegenerativas progressivas é um desafio, pois o início clínico é obscuro, a progressão é insidiosa e os mecanismos patogênicos não estão elucidados. Ativação microglial

precoce, aliado com as observações anátomo-patológicas *postmortem* indicam que a inflamação é importante no processo degenerativo (53). Atualmente, o tratamento para doenças neurodegenerativas é paliativo e não foca o mecanismo da doença ou ao menos no mecanismo de progressão da doença. De fato, pacientes com a doença de Parkinson não manifestam seu sintomas típicos, necessários para o diagnóstico (2), até que ao menos 60% da população de neurônios dopaminérgicos da substância negra tenham sucumbido (32). Uma vez que a neuroinflamação é comum em diversas doenças neurodegenerativas, modulação da resposta inflamatória poderia ser aplicado.

E finalmente, se esta teoria conseguir ser provada, se criaria um modelo de verificação onde uma terapia antiinflamatória poderia tornar mais lento a progressão desta doença neurodegenerativa.

I.3 Hipótese

Nossa hipótese é que se a elevação da neopteria reflete uma ativação celular inflamatória, esta substância poderia estar aumentada em pacientes com doença de Parkinson.

Se os níveis de neopterin refletem os níveis de ativação da microglia(98), este ensaio poderia fornecer modelo teórico para controle da neuroinflamação e estratégias de tratamento.

II OBJETIVOS

II.1 Objetivo geral

Avaliar a ocorrência ou não de modificações nos níveis séricos da neopterina em sangue periférico de pacientes com doença de Parkinson.

II.2. Objetivos específicos

Analisar a associação independente entre os níveis séricos de neopterina e a gravidade dos sintomas não motores avaliados através da escala de avaliação cognitiva de Montreal (MOCA)(99).

Analisar a associação independente entre os níveis séricos de neopterina e a gravidade dos sintomas não motores avaliados através da escala do Mini Exame do estado mental (MEEM)(99).

III METODOLOGIA

III.1 Delineamento do Estudo

Estudo transversal, parte do projeto “Doença de Parkinson: Bases Fisiológicas, Diagnóstico, Fatores Prognósticos e Tratamento” desenvolvido no Núcleo de Pesquisa em Neurologia Experimental e Clínica (NUPNEC) da UFSC.

Foram recrutados pacientes consecutivos em acompanhamento na Unidade de Distúrbios do Movimento do Hospital Governador Celso Ramos com o diagnóstico de doença de Parkinson. Os critérios diagnósticos foram os propostos por Hughes (2) e posteriormente adotados pela Sociedade de Distúrbios do Movimento (100): O paciente deve apresentar bradicinesia (lentidão de início de movimento voluntário com progressiva redução na velocidade e amplitude em ações repetidas) e, no mínimo um dos seguintes sintomas: tremor de repouso entre quatro e seis Hertz; rigidez muscular; instabilidade postural não causada por perda visual, ou vestibular, ou cerebelar ou disfunção proprioceptiva. Não pode apresentar história de acidentes vasculares cerebrais de repetição com

progressão dos sintomas parkinsonianos em degraus; histórias de traumas cranianos de repetição; história de encefalites; crise oculogiras; tratamento com neuroléptico no início dos sintomas; remissão sustentada; sintomas estritamente unilaterais após três anos de doença; paralisia supra nuclear; sinais cerebelares, disautonomia severa precoce, demência precoce, sinal de Babinski, presença de tumor cerebral; presença de hidrocefalia; reposta negativa a altas doses de levodopa (excluído mal absorção); exposição a MPTP(1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina). Hughes (2) recomenda ainda como critérios de suporte: início unilateral; presença de tremor de repouso; desordem progressiva; assimetria persistente com lado inicial pior; excelente (70 a 100%) resposta a levodopa; discinesia induzida por levodopa; resposta por levodopa por cinco anos ou mais; curso clínico da doença por 10 anos ou mais.

Foram excluídos pacientes que: 1) usaram antiinflamatório (esteróide ou não-esteróide) nas últimas três semanas; 2) estiveram ou ainda estivessem agudamente enfermos nos últimos 60 dias; 3) estivessem com depressão ativa ou parcialmente tratada; 4) não estivessem em seu melhor ponto motor devido flutuação da medicação (do Inglês “*not Best ON state*”); 5) se recusaram a participar do estudo.

III.2 Participantes/Amostra

Foram recrutados 51 pacientes consecutivos atendidos no Ambulatório de Distúrbios do Movimento do Hospital Governador Celso Ramos, Florianópolis, SC, Brasil, entre janeiro e junho de 2011, com diagnóstico de Doença de Parkinson e que estavam sob efeito de medicação dopaminérgica.

O grupo controle (n = 38) pareado para sexo e idade, constituído de pessoas hígdas, sem história prévia de doença neurológica e psiquiátrica, que não estivessem em uso de antiinflamatório nas últimas três semanas ou doença aguda nos últimos 60 dias. Os controles eram acompanhantes (sem grau de parentesco) de pacientes do ambulatório de endocrinologia do Hospital Universitário.

Todos os pacientes e controles assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido a todos os indivíduos.

III. 3 Avaliação Clínica e Neurológica

Todos os pacientes foram submetidos à avaliação clínica e neurológica de rotina e avaliados do ponto de vista motor através da escala UPDRS parte III – Exame Motor (Unified Parkinson Disease Rate Scale part III, Motor Examination) (21)(Anexo I) e do ponto de vista cognitivo pela Escala Cognitiva MoCA (Montreal Cognitive Assesment) (99, 101, 102) (AnexoII), e pelo Mini Exame do Estado Mental (MEEM) (103) (Anexo III). Foram controlados os fármacos e as respectivas doses utilizadas. A avaliação foi realizada por neurologista especializado em Distúrbios do Movimento (mestrando Fernando Cini Freitas).

III.4 Avaliação laboratorial da Neopterinina

Depois de explicado o procedimento e obtido o termo de consentimento, foi realizada de coleta de sangue (10 L) por punção venosa periférica com BD Vacutainer. Após a centrifugação o soro foi armazenado em freezer -80°C nas dependências do HGCR. As coletas de sangue foram realizadas logo após a consulta neurológica e a aplicação das escalas motoras (UPDRS-III) e cognitivas (MOCA e MEEM). No momento da coleta da amostra de sangue os pacientes

estavam em seu melhor ponto motor devido flutuação da medicação (do Inglês “not Best ON state”).

Os níveis de neopterin foram analisados através de HPLC fase reversa com detecção por fluorescência (Alliance e2695, Waters, Milford, EUA), conforme previamente descrito (104) Brevemente, a fase móvel consiste em 1.0 mol/L de fosfato de potássio e com metanol (91/9 v/v). A excitação foi a 35 nm e a emissão a 450nm (2475 Multi-Wavelength Fluorescence Detector; Waters, Milford, EUA). A neopterin foi separada em uma coluna nucleosil C-18 (120 x 2.0 mm; Synergi Hydro, California, EUA). A velocidade de fluxo foi de 1L/min e o volume injetado de 20 µL. Os resultados foram expressos em nmol/L.

A análise das amostras foi feita de maneira cega para todos os dados clínicos dos pacientes no Laboratório de Bioenergética e Estresse Oxidativo Departamento de Bioquímica (CCB, UFSC) coordenado pela Professora Dra. Alexandra Susana Latini.

III.5 Análise estatística

A comparação entre os níveis séricos de neopterina de controles e pacientes foi realizada através do teste “t” de Student.

No primeiro momento foi investigada a associação entre os níveis séricos de neopterina e o escore dos pacientes nas escalas: UPDRS-III, MOCA e MEEM. Para diminuir a possibilidade de haver uma associação espúria entre os níveis do biomarcador e as escalas UPDRS-III, MOCA e MEEM, foram realizadas análises univariadas para determinar quais variáveis clínicas e demográficas pudessem estar associadas a cada uma das escalas de interesse. Para esta análise as escalas (UPDRS-III, MOCA e MEEM) foram consideradas variáveis dependentes e as variáveis clínicas e demográficas, bem como os níveis séricos de neopterina, foram consideradas variáveis independentes. Nesta etapa, a associação entre a variável dependente (escala UPDRS-III, MOCA ou MEEM) e as variáveis independentes (variáveis clínicas, demográficas e níveis séricos de neopterina) foi analisada através do teste “t” de Student ou pelo teste de correlação de Pearson.

Em uma segunda etapa foi realizada uma regressão linear múltipla com intuito de avaliar o nível de associação independente

entre as variáveis clínicas, demográficas e níveis séricos de neopterinina em cada uma das escalas: UPDRS-III, MOCA e MEEM. Neste momento, variáveis contínuas foram categorizadas da seguinte forma: sexo (masculino = 0 e feminino = 1); primeiro sintoma do paciente (tremor = 0, rigidez = 1, bradicinesia = 2); lado envolvido (direito = 0, esquerdo = 1); tratamento com levodopa (L-Dopa+Carbidopa = 0, L-Dopa+Benzerazida = 1, L-Dopa+Benzerazida+entacapone = 2); escolaridade (4 anos ou menos = 0, mais que 4 anos = 1). Foram incluídas na regressão múltipla as variáveis cuja associação com a variável dependente (UPDRS-III, MOCA e MEEM), observada na análise univariada, tenha sido com um grau de significância de $p < 0,15$. Dessa forma, foi determinado o modelo final de regressão linear múltipla que melhor explicar a variação dos escores das escalas UPDRS-III, MOCA e MEEM em função das variáveis clínicas, demográficas e níveis séricos de neopterinina de forma independente.

Níveis de “ p ” $< 0,05$ foram considerados significativos. Variáveis clínicas, demográficas e níveis séricos de neopterinina que mostram uma plausibilidade clínica ou biológica para associação com as variáveis dependentes (desfechos) foram mantidas no modelo,

mesmo que não tenham atingido plenamente o grau de significância de $p < 0.05$ (tendência).

III.6 Aspectos éticos

O estudo foi realizado em conformidade com a Declaração de Helsinki, Código de Ética Médica do Conselho Federal de Medicina, com a aprovação dos Comitês de Ética para Pesquisa em Seres Humanos do Hospital Governador Celso Ramos. Os participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido previamente à sua inclusão no estudo, após clara explicação sobre o mesmo.

Os pacientes foram entrevistados no ambulatório de Distúrbios do Movimento do Hospital Governador Celso Ramos e tiveram sua identidade mantida em sigilo. A opção por não participarem do estudo não trouxe prejuízo à assistência recebida. Os dados foram arquivados e mantidos sem sigilo, sendo que apenas o pesquisador e os orientadores tiveram acesso aos mesmos.

IV RESULTADOS

O nível plasmático médio (EP) de neopterinina foi significativamente ($p < 0.0001$) mais elevado nos pacientes (mínimo 0,30 e máximo 26,3 nmol/L – média $10,5 \pm 1,0$ nmol/L) em comparação ao grupo controle (mínimo 0,90 nmol/L e máximo 7,2 nmol/L – média $3,1 \pm 0,3$ nmol/L). Além disso, 26 dos 51 pacientes (52,9% dos casos) apresentaram níveis séricos de neopterinina superiores a 10nmol/L.

A tabela 1 apresenta a análise univariada que demonstra a associação entre as escalas UPDRS-III, MOCA e MEEM e as variáveis clínicas, demográficas e níveis séricos de neopterinina.

A análise univariada evidenciou uma associação significativa entre a escala UPDRS-III e maior escolaridade ($p = 0.02$). Observou-se ainda uma tendência para correlação positiva entre a escala UPDRS-III e a idade ($p = 0,13$) e uma associação significativa da escala UPDRS-III e a duração da doença ($p = 0,01$) (ver tabela 1).

Houve uma tendência entre o melhor desempenho no MOCA e o início dos sintomas em hemisfério direito ($p = 0,19$) assim como uma associação da escala MOCA com maior escolaridade ($p = 0.005$).

Houve uma ($p = 0.15$) correlação negativa (Coeficiente de Pearson = 0,24) entre o desempenho no MOCA e a duração da doença, bem como uma significativa correlação positiva (Coeficiente de Pearson = 0.) desta escala e os níveis de neopterinina ($p = 0.001$).

Houve uma associação significativa entre maior desempenho no MEEM e níveis mais elevados de escolaridade ($p = 0.0001$).

A tabela 2 apresenta os modelos de regressão linear múltipla que melhor explicam a capacidade preditiva independente das variáveis clínicas, demográficas e níveis séricos de neopterinina para as escalas UPDRS-III, MOCA e MEEM.

A análise por regressão linear múltipla demonstrou que a variação na escala UPDRS-III (Coeficiente R = 0,35; Coeficiente R quadrado ajustado = 0,13) se correlacionou significativamente de forma positiva com a idade (Coeficiente B = 1,28; $p = 0,01$).

A análise por regressão linear múltipla mostrou também que a variação na escala MOCA (Coeficiente R = 0,70; Coeficiente R ajustado = 0,46) se correlacionou significativamente de forma positiva e independente, com o nível de escolaridade (Coeficiente B = 0,12; $p = 0,0001$) e níveis séricos de neopterinina (Coeficiente B = 0,23; $p = 0,03$).

Por fim, a análise por regressão linear múltipla (tabela 2) mostrou que a variação na escala MEEM (Coeficiente R = 0,49;

Coefficiente R quadrado ajustado= 0,20) mostrou-se significativamente ($p = 0,05$) correlacionada de forma negativa e independente com o nível de escolaridade e os níveis séricos de neopterina (Coeficiente B = 0,14; $p = 0,14$).

Não houve associação ($p > 0,20$) entre os escores nas escalas UPDRS-III, MOCA e MEEM e o uso de fármacos adjuvantes no tratamento da DP, incluindo: 1) amantadina ($n = 14$); 2) pramipexol ($n = 09$); biperideno ($n = 10$); benzodiazepínicos ($n = 7$) e inibidores da recaptção de serotonina ($n = 6$) (resultados não mostrados).

Tabela 1: Variáveis Clínicas, demográficas, farmacológicas e níveis séricos de neopterina associados com UDPRS-III, MOCA e MEEM.

Variável	UPDRS-III Média (EP)	“p” Nível	MOCA Média. (EP)	“p” Nível ^d	MEEM Média (EP)	“p” Nível
Todos os pacientes (n=51)	29,7 (2,7)	N.A.	17,7 (1,0)	N.A.	24,6 (0,6)	N.A.
Sexo						
Masculino (n =29)	28,7 (3,1)		18,5 (1,2)		25,5 (0,7)	
Feminino (n = 22)	31,0 (4,8)	0,67	16,8 (1,6)	0,41	23,7 (1,0)	0,15
Primeiro sintoma queixado^a						
Tremor (n = 33)	26,6 (3,4)		17,9 (1,1)		24,3 (0,8)	
Rigidez (n = 9)	36,2 (6,7)		19,2 (3,1)		26,5 (1,1)	
Bradícinésia (n = 8)	34,2 (6,3)	0,48	16,2 (3,4)	0,69	23,8 (2,1)	0,64
Hemicorpo primeiramente envolvido^b						
Direito (32)	29,5 (3,5)		18,7(1,3)		24,8 (0,8)	
Esquerdo (19)	30,1 (4,3)	0,90	15,9 (1,5)	0,19	24,3 (1,0)	0,55
Tratamento com Levodopa^c						
L-Dopa + Carb (n = 17)	36,7 (4,3)		15,9 (1,3)		23,6 (1,0)	
L-Dopa + BS (n = 23)	24,5 (4,1)		19,6 (1,8)		25,8 (1,2)	
L-Dopa + BS + ET (n = 10)	29,0 (6,0)	0,14	18,1 (2,3)	0,27	24,8 (1,1)	0,34
Nível Educacional em anos						
≤ 4 anos (n = 33)	34,2 (3,4)		23,3 (0,8)		14,8 (0,9)	
> 4 anos (n =18)	14,2 (7,2)	0,02	14,8 (0,9)	0,005	23,2 (1,5)	0,0001
	Pearson		Pearson		Pearson	
	Correlação		Correlação		Correlação	
Idade (média± EP)						
64,2 (±1,2) anos	0,21	0,13	- 0,15	0,35	-0,07	0,66
Idade de início dos sintomas (média ±EP)						
53,5 (± 1,27) anos	-0,01	0,95	-0,01	0,98	-0,02	0,92
Tempo de Doença (média ±EP)						
10,6 (± 0,7) anos	0,35	0,01	-0,24	0,15	-0,09	0,59
Níveis Séricos de Neopterina (média ±EP)						
10,5(1,0) nmol/L	-0,20	0,16	0,51	0,001	0,41	0,009

^a Sintoma inicial não foi definido por um paciente.

^b O hemicorpo de início dos sintomas não foi definido por um paciente.

^c Um paciente estava recebendo Levodopa + Carbidopa + Entacapone.

L-Dopa = Levodopa; Carb = Carbidopa; Bens = Benserazide; Entac = Entacapone; N.A. = Não Aplicável.

Tabela 2: Modelo de regressão linear múltipla mostrando a associação entre variáveis independentes e variáveis clínicas, demográficas, farmacológicas e escalas de UPDRS-III, MOCA e MEEM de pacientes com Doença de Parkinson.

Variáveis	Coefficiente R	R quadrado ajustado	Coefficiente B	“p” Nível
UPDRS-III Duração da doença em anos	0,35	0,13	1,28	0,01
MOCA Educação em anos Níveis de Neopterinina	0,70	0,46	0,12 0,25	<0,0001 0,03
MEEM Educação Níveis de Neopterinina	0,49	0,20	2,60 0,14	0,05 0,14

V. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

O presente estudo evidenciou um aumento significativo nos níveis séricos de neopterina em pacientes com doença de Parkinson. Nossos resultados também mostram que os níveis de neopterina estão associados de forma independente à menor gravidade da doença de Parkinson sugerindo que esta pteridina possa ser um biomarcador da doença.

A dosagem de neopterina é utilizada rotineiramente em hemocentros na Áustria desde 1989 (105) com teste de rastreio para excluir doações potencialmente perigosas. Em recente estudo (80) com 680 doadores, o resultado médio da neopterina foi de 5,5nmol/L (DP:0,1) sendo que apenas 1,23% dos doadores apresentavam valores ≥ 10 nmol/L. Considerando este ponto de corte, podemos dizer que 80% dos pacientes com doença de Parkinson em nossa amostra tiveram níveis superiores ao observado em 1% da população hígida de doadores de sangue.

Há apenas um estudo na literatura investigando os níveis de neopterinina e doença de Parkinson. Widner (92) em 2002, estudando pacientes com doença de Parkinson avançada, encontrou níveis aumentados de neopterinina tanto no líquido céfalo-raquídeo quanto no soro, quando comparado a controles. Este estudo se limitava ao subgrupo de pacientes com doença avançada e foram encontrados níveis mais altos de neopterinina em pacientes com doença mais grave. Outro limitante deste estudo foi o tamanho relativamente pequeno da amostra (22 casos e 11 controles).

Na doença de Alzheimer os níveis de neopterinina estão mais elevados em relação a controles (88) sugerindo que também possa haver um estado crônico de ativação do sistema imune nesta doença. Neste estudo não foi encontrada correlação significativa entre níveis de neopterinina e escores no Mini Exame do Estado Mental e duração dos sintomas (87). Em nosso estudo não só encontramos níveis da neopterinina elevados em pacientes com doença de Parkinson quando comparados a controle, conduzindo-nos a concluir que o sistema imune está ativado na Doença de Parkinson, mas também, para nossa surpresa, encontramos uma associação inversa entre estes níveis e a severidade da doença tanto para

sintomas motores como não motores. Entretanto, o desenho do estudo não permite estabelecer a existência de relação de causa e efeito entre a neopterina e a “neuroproteção”. De fato, o real papel da neopterina sobre os neurônios sejam eles corticais ou sub-corticais ainda é desconhecido.

Outro aspecto importante é discutir a origem da neopterina dos pacientes com doença de Parkinson. Sabe-se que os macrófagos são os grandes produtores de neopterina do sistema imune além disso, a micróglia (que corresponde a aproximadamente 20% do total de células gliais do cérebro) são derivados de células linfáticas(98). Portanto a neopterina elevada dos pacientes pode estar sendo sintetizada tanto por células da glia como por macrófagos(98, 106). Neste sentido, um potencial viés de confusão seria um aumento na produção de neopterina por macrófagos devido ao uso de fármacos por exemplo. Esta hipótese é parcialmente refutada, pois a correlação entre a gravidade da doença avaliada pelo UPDRS-III, MOCA e MEEM não esteve correlacionada com a uma variação na distribuição dos fármacos utilizados pelos pacientes. Entretanto, não é possível realizar um controle adequado da “carga dopaminérgica” administrada a cada um dos pacientes ao longo de todo o tempo de

doença. Por outro lado é difícil atribuir mudanças na modulação da produção de neopterina por macrófagos no presente, decorrente de variações na “carga dopaminérgica” que vem ocorrendo há vários anos antes da retirada da amostra sanguínea. Estudos “in vitro” utilizando macrófagos estão em andamento em nosso grupo para avaliar o efeito das preparações de “levodopa” sobre a produção de neopterina. Da mesma forma, estão em andamento estudos utilizando macrófagos dos pacientes para avaliar a capacidade de produção de neopterina em comparação a controles hígidos.

Embora com um número crescente de estudos relacionando a participação do sistema imune na gênese ou na progressão da doença de Parkinson (33), o tema ainda permanece controverso. Novos achados relacionando a participação de células da micróglia e astrócitos tanto na gênese quanto na progressão da doença de Parkinson (60).

VI. CONCLUSÕES E IMPLICAÇÕES

Pacientes com doença de Parkinson apresentam níveis séricos de neopterina significativamente elevados em comparação a controles hígidos, sugerindo uma associação entre esta doença de Parkinson e ativação do sistema imunológico.

Os níveis séricos de neopterina estão inversamente correlacionados à maior gravidade dos sintomas motores e não motores da doença de Parkinson.

Esta associação observada parece não dever-se às variações na distribuição de fármacos dopaminérgicos e não dopaminérgicos utilizados no momento da dosagem de neopterina.

Estes resultados, embora preliminares, colocam a neopterina como um potencial biomarcador da progressão da doença de Parkinson. Estudos prospectivos avaliando os níveis desta pteridina em diferentes momentos da Doença de Parkinson permitirão estabelecer com maior certeza a aplicabilidade clínica deste e outros biomarcadores.

A possibilidade de a neopterina ou outra molécula do sistema imune e suas vias de sinalização tornar-se um alvo para terapêutica imunomodulatória capaz de modificar o curso natural, ou atuar como adjuvante, no tratamento da doença de Parkinson pode vir a tornar-se uma realidade.

VII REFERÊNCIAS

1. **Parkinson J. An essay on the shaking palsy. 1817. J Neuropsychiatry Clin Neurosci. 2002;14(2):223-36; discussion 2.**
2. **Hughes AJ, Ben-Shlomo Y, Daniel SE, Lees AJ. What features improve the accuracy of clinical diagnosis in Parkinson's disease: a clinicopathologic study. Neurology. 1992;42(6):1142-6.**
3. **Lotharius J, Brundin P. Pathogenesis of Parkinson's disease: dopamine, vesicles and alpha-synuclein. Nat Rev Neurosci. 2002;3(12):932-42.**
4. **Reijnders JS, Ehrt U, Weber WE, Aarsland D, Leentjens AF. A systematic review of prevalence studies of depression in Parkinson's disease. Mov Disord. 2008;23(2):183-9; quiz 313.**
5. **Camargo S, Cardoso F. Iniciar a terapia em Doença de Parkinson: L-Dopa versus agonistas da dopamina. Focus on Parkinson's disease. 2009;21.:1-4.**
6. **Dorsey ER, Constantinescu R, Thompson JP, Biglan KM, Holloway RG, Kieburtz K, et al. Projected number of people with Parkinson disease in the most populous nations, 2005 through 2030. Neurology. 2007;68(5):384-6.**
7. **Linder J, Stenlund H, Forsgren L. Incidence of Parkinson's disease and parkinsonism in northern Sweden: a population-based study. Mov Disord. 2010;25(3):341-8.**

8. Poewe W. The natural history of Parkinson's disease. *J Neurol*. 2006;253 Suppl 7:VII2-6.
9. Chaudhuri KR, Healy DG, Schapira AH. Non-motor symptoms of Parkinson's disease: diagnosis and management. *Lancet Neurol*. 2006;5(3):235-45.
10. Leibson CL, Long KH, Maraganore DM, Bower JH, Ransom JE, O'Brien PC, et al. Direct medical costs associated with Parkinson's disease: a population-based study. *Mov Disord*. 2006;21(11):1864-71.
11. Ishihara LS, Cheesbrough A, Brayne C, Schrag A. Estimated life expectancy of Parkinson's patients compared with the UK population. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2007;78(12):1304-9.
12. Langston JW. The Parkinson's complex: parkinsonism is just the tip of the iceberg. *Ann Neurol*. 2006;59(4):591-6. Epub 2006/03/28.
13. Huse DM, Schulman K, Orsini L, Castelli-Haley J, Kennedy S, Lenhart G. Burden of illness in Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2005;20(11):1449-54.
14. Pfeiffer RF. Non-motor parkinsonism. *Parkinsonism Relat Disord*. 2007;13 Suppl 3:S211-20.
15. Miyasaki JM, Shannon K, Voon V, Ravina B, Kleiner-Fisman G, Anderson K, et al. Practice Parameter: evaluation and treatment of depression, psychosis, and dementia in Parkinson disease (an evidence-based review): report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*. 2006;66(7):996-1002.

16. Weintraub D, Moberg PJ, Duda JE, Katz IR, Stern MB. Effect of psychiatric and other nonmotor symptoms on disability in Parkinson's disease. *J Am Geriatr Soc.* 2004;52(5):784-8.
17. Ravina B, Camicioli R, Como PG, Marsh L, Jankovic J, Weintraub D, et al. The impact of depressive symptoms in early Parkinson disease. *Neurology.* 2007;69(4):342-7.
18. Shulman LM, Taback RL, Rabinstein AA, Weiner WJ. Non-recognition of depression and other non-motor symptoms in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord.* 2002;8(3):193-7.
19. Weintraub D, Moberg PJ, Duda JE, Katz IR, Stern MB. Recognition and treatment of depression in Parkinson's disease. *J Geriatr Psychiatry Neurol.* 2003;16(3):178-83.
20. Dubow JS. Autonomic dysfunction in Parkinson's disease. *Dis Mon.* 2007;53(5):265-74.
21. Malaspina D, Goetz RR, Friedman JH, Kaufmann CA, Faraone SV, Tsuang M, et al. Traumatic brain injury and schizophrenia in members of schizophrenia and bipolar disorder pedigrees. *Am J Psychiatry.* 2001;158(3):440-6.
22. Poewe W. Dysautonomia and cognitive dysfunction in Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2007;22 Suppl 17:S374-8.

23. Khoo TK, Burn DJ. Non-motor symptoms may herald Parkinson's disease. *Practitioner*. 2009;253(1721):19-24, 2.
24. Krogh K, Ostergaard K, Sabroe S, Laurberg S. Clinical aspects of bowel symptoms in Parkinson's disease. *Acta Neurol Scand*. 2008;117(1):60-4.
25. Grinberg LT, Rueb U, Alho AT, Heinsen H. Brainstem pathology and non-motor symptoms in PD. *J Neurol Sci*. 2010;289(1-2):81-8.
26. McGeer PL, Itagaki S, Boyes BE, McGeer EG. Reactive microglia are positive for HLA-DR in the substantia nigra of Parkinson's and Alzheimer's disease brains. *Neurology*. 1988;38(8):1285-91.
27. Spillantini MG, Schmidt ML, Lee VM, Trojanowski JQ, Jakes R, Goedert M. Alpha-synuclein in Lewy bodies. *Nature*. 1997;388(6645):839-40.
28. Braak H, Del Tredici K. Invited Article: Nervous system pathology in sporadic Parkinson disease. *Neurology*. 2008;70(20):1916-25.
29. Reiss D, Wichmann J, Tekeshima H, Kieffer BL, Ouagazzal AM. Effects of nociceptin/orphanin FQ receptor (NOP) agonist, Ro64-6198, on reactivity to acute pain in mice: comparison to morphine. *Eur J Pharmacol*. 2008;579(1-3):141-8.
30. Wirdefeldt K, Adami HO, Cole P, Trichopoulos D, Mandel J. Epidemiology and etiology of Parkinson's disease: a review of the evidence. *Eur J Epidemiol*. 2011;26 Suppl 1:S1-58.

31. Schapira AH. Science, medicine, and the future: Parkinson's disease. *Bmj*. 1999;318(7179):311-4.
32. Braak H, Del Tredici K, Rub U, de Vos RA, Jansen Steur EN, Braak E. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging*. 2003;24(2):197-211.
33. Whitton PS. Inflammation as a causative factor in the aetiology of Parkinson's disease. *Br J Pharmacol*. 2007;150(8):963-76.
34. Przedborski S. Inflammation and Parkinson's disease pathogenesis. *Mov Disord*. 2010;25 Suppl 1:S55-7.
35. Scalzo P, de Miranda AS, Guerra Amaral DC, de Carvalho Vilela M, Cardoso F, Teixeira AL. Serum levels of chemokines in Parkinson's disease. *Neuroimmunomodulation*. 2011;18(4):240-4.
36. Olanow CW, Jenner P, Tatton NA, Tatton WG. Neurodegeneration and Parkinson's disease. *Parkinson's disease and movement disorders: Willians & Wilkins*.; 1998. p. 67-103.
37. Mogi M, Harada M, Riederer P, Narabayashi H, Fujita K, Nagatsu T. Tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) increases both in the brain and in the cerebrospinal fluid from parkinsonian patients. *Neurosci Lett*. 1994;165(1-2):208-10.
38. Brodacki B, Staszewski J, Toczyłowska B, Kozłowska E, Drela N, Chalimoniuk M, et al. Serum interleukin (IL-2, IL-10, IL-6, IL-4), TNFalpha, and

INFgamma concentrations are elevated in patients with atypical and idiopathic parkinsonism. *Neurosci Lett.* 2008;441(2):158-62.

39. Chen H, O'Reilly EJ, Schwarzschild MA, Ascherio A. Peripheral inflammatory biomarkers and risk of Parkinson's disease. *Am J Epidemiol.* 2008;167(1):90-5.

40. Gangemi S, Basile G, Merendino RA, Epifanio A, Di Pasquale G, Ferlazzo B, et al. Effect of levodopa on interleukin-15 and RANTES circulating levels in patients affected by Parkinson's disease. *Mediators Inflamm.* 2003;12(4):251-3.

41. Floor E, Wetzel MG. Increased protein oxidation in human substantia nigra pars compacta in comparison with basal ganglia and prefrontal cortex measured with an improved dinitrophenylhydrazine assay. *J Neurochem.* 1998;70(1):268-75.

42. Murer MG, Yan Q, Raisman-Vozari R. Brain-derived neurotrophic factor in the control human brain, and in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *Prog Neurobiol.* 2001;63(1):71-124.

43. Salehi Z, Mashayekhi F. Brain-derived neurotrophic factor concentrations in the cerebrospinal fluid of patients with Parkinson's disease. *J Clin Neurosci.* 2009;16(1):90-3.

44. Schapira AH. Mitochondrial pathology in Parkinson's disease. *Mt Sinai J Med.* 2011;78(6):872-81.

45. Kubo SI, Kitami T, Noda S, Shimura H, Uchiyama Y, Asakawa S, et al. Parkin is associated with cellular vesicles. *J Neurochem.* 2001;78(1):42-54.

46. Lucking CB, Durr A, Bonifati V, Vaughan J, De Michele G, Gasser T, et al. Association between early-onset Parkinson's disease and mutations in the parkin gene. *N Engl J Med.* 2000;342(21):1560-7.
47. Muftuoglu M, Elibol B, Dalmizrak O, Ercan A, Kulaksiz G, Ogus H, et al. Mitochondrial complex I and IV activities in leukocytes from patients with parkin mutations. *Mov Disord.* 2004;19(5):544-8.
48. Mogi M, Togari A, Kondo T, Mizuno Y, Komure O, Kuno S, et al. Brain-derived growth factor and nerve growth factor concentrations are decreased in the substantia nigra in Parkinson's disease. *Neurosci Lett.* 1999;270(1):45-8.
49. Tansey MG, McCoy MK, Frank-Cannon TC. Neuroinflammatory mechanisms in Parkinson's disease: potential environmental triggers, pathways, and targets for early therapeutic intervention. *Exp Neurol.* 2007;208(1):1-25.
50. Hald A, Lotharius J. Oxidative stress and inflammation in Parkinson's disease: is there a causal link? *Exp Neurol.* 2005;193(2):279-90.
51. Lee JK, Tran T, Tansey MG. Neuroinflammation in Parkinson's disease. *J Neuroimmune Pharmacol.* 2009;4(4):419-29.
52. Arif H, Buchsbaum R, Weintraub D, Pierro J, Resor SR, Jr., Hirsch LJ. Patient-reported cognitive side effects of antiepileptic drugs: predictors and comparison of all commonly used antiepileptic drugs. *Epilepsy Behav.* 2009;14(1):202-9.

- 53. Maguire-Zeiss KA, Federoff HJ. Future directions for immune modulation in neurodegenerative disorders: focus on Parkinson's disease. J Neural Transm. 2010;117(8):1019-25.**
- 54. Shimamura AP. Priming effects of amnesia: evidence for a dissociable memory function. Q J Exp Psychol A. 1986;38(4):619-44.**
- 55. Ouchi Y, Yoshikawa E, Sekine Y, Futatsubashi M, Kanno T, Ogusu T, et al. Microglial activation and dopamine terminal loss in early Parkinson's disease. Ann Neurol. 2005;57(2):168-75.**
- 56. Nandhagopal R, Kuramoto L, Schulzer M, Mak E, Cragg J, Lee CS, et al. Longitudinal progression of sporadic Parkinson's disease: a multi-tracer positron emission tomography study. Brain. 2009;132(Pt 11):2970-9.**
- 57. Li JY, Englund E, Holton JL, Soulet D, Hagell P, Lees AJ, et al. Lewy bodies in grafted neurons in subjects with Parkinson's disease suggest host-to-graft disease propagation. Nat Med. 2008;14(5):501-3.**
- 58. Hardy J. Expression of normal sequence pathogenic proteins for neurodegenerative disease contributes to disease risk: 'permissive templating' as a general mechanism underlying neurodegeneration. Biochem Soc Trans. 2005;33(Pt 4):578-81.**
- 59. Kordower JH, Chu Y, Hauser RA, Freeman TB, Olanow CW. Lewy body-like pathology in long-term embryonic nigral transplants in Parkinson's disease. Nat Med. 2008;14(5):504-6.**

- 60. Double KL, Rowe DB, Hayes M, Chan DK, Blackie J, Corbett A, et al. Identifying the pattern of olfactory deficits in Parkinson disease using the brief smell identification test. Arch Neurol. 2003;60(4):545-9.**
- 61. Ohtake H, Limprasert P, Fan Y, Onodera O, Kakita A, Takahashi H, et al. Beta-synuclein gene alterations in dementia with Lewy bodies. Neurology. 2004;63(5):805-11.**
- 62. Lee HJ, Suk JE, Patrick C, Bae EJ, Cho JH, Rho S, et al. Direct transfer of alpha-synuclein from neuron to astroglia causes inflammatory responses in synucleinopathies. J Biol Chem. 2010;285(12):9262-72.**
- 63. Gu XL, Long CX, Sun L, Xie C, Lin X, Cai H. Astrocytic expression of Parkinson's disease-related A53T alpha-synuclein causes neurodegeneration in mice. Mol Brain. 2010;3:12.**
- 64. Carson MJ, Bilousova TV, Puntambekar SS, Melchior B, Doose JM, Ethell IM. A rose by any other name? The potential consequences of microglial heterogeneity during CNS health and disease. Neurotherapeutics. 2007;4(4):571-9.**
- 65. Kreutzberg GW. Microglia: a sensor for pathological events in the CNS. Trends Neurosci. 1996;19(8):312-8.**
- 66. Giulian D. Microglia and the immune pathology of Alzheimer disease. Am J Hum Genet. 1999;65(1):13-8.**
- 67. London JA, Biegel D, Pachter JS. Neurocytopathic effects of beta-amyloid-stimulated monocytes: a potential**

mechanism for central nervous system damage in Alzheimer disease. Proc Natl Acad Sci U S A. 1996;93(9):4147-52.

68. Mogi M, Harada M, Kondo T, Narabayashi H, Riederer P, Nagatsu T. Transforming growth factor-beta 1 levels are elevated in the striatum and in ventricular cerebrospinal fluid in Parkinson's disease. Neurosci Lett. 1995;193(2):129-32.

69. Mogi M, Harada M, Kondo T, Riederer P, Nagatsu T. Interleukin-2 but not basic fibroblast growth factor is elevated in parkinsonian brain. Short communication. J Neural Transm. 1996;103(8-9):1077-81.

70. Nagatsu T, Mogi M, Ichinose H, Togari A. Changes in cytokines and neurotrophins in Parkinson's disease. J Neural Transm Suppl. 2000(60):277-90.

71. Stypula G, Kunert-Radek J, Stepien H, Zylinska K, Pawlikowski M. Evaluation of interleukins, ACTH, cortisol and prolactin concentrations in the blood of patients with parkinson's disease. Neuroimmunomodulation. 1996;3(2-3):131-4.

72. Dobbs RJ, Charlett A, Purkiss AG, Dobbs SM, Weller C, Peterson DW. Association of circulating TNF-alpha and IL-6 with ageing and parkinsonism. Acta Neurol Scand. 1999;100(1):34-41.

73. Rentzos M, Nikolaou C, Andreadou E, Paraskevas GP, Rombos A, Zoga M, et al. Circulating interleukin-15 and RANTES chemokine in Parkinson's disease. Acta Neurol Scand. 2007;116(6):374-9.

- 74. Blum-Degen D, Muller T, Kuhn W, Gerlach M, Przuntek H, Riederer P. Interleukin-1 beta and interleukin-6 are elevated in the cerebrospinal fluid of Alzheimer's and de novo Parkinson's disease patients. *Neurosci Lett.* 1995;202(1-2):17-20.**
- 75. Muller T, Blum-Degen D, Przuntek H, Kuhn W. Interleukin-6 levels in cerebrospinal fluid inversely correlate to severity of Parkinson's disease. *Acta Neurol Scand.* 1998;98(2):142-4.**
- 76. Maetzler W, Berg D, Schalamberidze N, Melms A, Schott K, Mueller JC, et al. Osteopontin is elevated in Parkinson's disease and its absence leads to reduced neurodegeneration in the MPTP model. *Neurobiol Dis.* 2007;25(3):473-82.**
- 77. Teather LA, Magnusson JE, Chow CM, Wurtman RJ. Environmental conditions influence hippocampus-dependent behaviours and brain levels of amyloid precursor protein in rats. *Eur J Neurosci.* 2002;16(12):2405-15.**
- 78. Pingle SK, Tumane RG, Jawade AA. Neopterin: Biomarker of cell-mediated immunity and potent usage as biomarker in silicosis and other occupational diseases. *Indian J Occup Environ Med.* 2008;12(3):107-11.**
- 79. Werner-Felmayer G, Werner ER, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Wachter H. Neopterin formation and tryptophan degradation by a human myelomonocytic cell line (THP-1) upon cytokine treatment. *Cancer Res.* 1990;50(10):2863-7.**

80. Mayersbach P, Fuchs D, Schennach H. Performance of a fully automated quantitative neopterin measurement assay in a routine voluntary blood donation setting. *Clin Chem Lab Med.* 2010;48(3):373-7.
81. Baier-Bitterlich G, Wachter H, Fuchs D. Role of neopterin and 7,8-dihydroneopterin in human immunodeficiency virus infection: marker for disease progression and pathogenic link. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol.* 1996;13(2):184-93.
82. Dunner DL, Amsterdam JD, Shelton RC, Loebel A, Romano SJ. Efficacy and tolerability of adjunctive ziprasidone in treatment-resistant depression: a randomized, open-label, pilot study. *J Clin Psychiatry.* 2007;68(7):1071-7.
83. Muller TF, Trosch F, Ebel H, Grussner RW, Feiber H, Goke B, et al. Pancreas-specific protein (PASP), serum amyloid A (SAA), and neopterin (NEOP) in the diagnosis of rejection after simultaneous pancreas and kidney transplantation. *Transpl Int.* 1997;10(3):185-91.
84. Giovannoni G, Lai M, Kidd D, Thorpe JW, Miller DH, Thompson AJ, et al. Daily urinary neopterin excretion as an immunological marker of disease activity in multiple sclerosis. *Brain.* 1997;120 (Pt 1):1-13.
85. Rolfs A, Muhlschlegel F, Jansen-Rosseck R, Martins AR, Bedaque EA, Tamburus WM, et al. Clinical and immunologic follow-up study of patients with neurocysticercosis after treatment with praziquantel. *Neurology.* 1995;45(3 Pt 1):532-8.

86. Millner MM, Franthal W, Thalhammer GH, Berghold A, Aigner RM, Fuger GF, et al. Neopterin concentrations in cerebrospinal fluid and serum as an aid in differentiating central nervous system and peripheral infections in children. *Clin Chem.* 1998;44(1):161-7.
87. Hull M, Pasinetti GM, Aisen PS. Elevated plasma neopterin levels in Alzheimer disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord.* 2000;14(4):228-30.
88. Leblhuber F, Walli J, Demel U, Tilz GP, Widner B, Fuchs D. Increased serum neopterin concentrations in patients with Alzheimer's disease. *Clin Chem Lab Med.* 1999;37(4):429-31.
89. Abou-Saleh MT, Anderson DN, Collins J, Hughes K, Cattell RJ, Hamon CG, et al. The role of pterins in depression and the effects of antidepressive therapy. *Biol Psychiatry.* 1995;38(7):458-63.
90. Bezin L, Nygaard TG, Neville JD, Shen H, Levine RA. Reduced lymphoblast neopterin detects GTP cyclohydrolase dysfunction in dopa-responsive dystonia. *Neurology.* 1998;50(4):1021-7.
91. Mount MP, Lira A, Grimes D, Smith PD, Faucher S, Slack R, et al. Involvement of interferon-gamma in microglial-mediated loss of dopaminergic neurons. *J Neurosci.* 2007;27(12):3328-37.
92. Widner B, Leblhuber F, Fuchs D. Increased neopterin production and tryptophan degradation in advanced Parkinson's disease. *J Neural Transm.* 2002;109(2):181-9.

93. Barbosa MT, Caramelli P, Maia DP, Cunningham MC, Guerra HL, Lima-Costa MF, et al. Parkinsonism and Parkinson's disease in the elderly: a community-based survey in Brazil (the Bambui study). *Mov Disord.* 2006;21(6):800-8.
94. Whetten-Goldstein K, Sloan F, Kulas E, Cutson T, Schenkman M. The burden of Parkinson's disease on society, family, and the individual. *J Am Geriatr Soc.* 1997;45(7):844-9.
95. Schrag A. Quality of life and depression in Parkinson's disease. *J Neurol Sci.* 2006;248(1-2):151-7.
96. Gao X, Chen H, Schwarzschild MA, Ascherio A. Use of ibuprofen and risk of Parkinson disease. *Neurology.* 2011;76(10):863-9.
97. Gagne JJ, Power MC. Anti-inflammatory drugs and risk of Parkinson disease: a meta-analysis. *Neurology.* 2010;74(12):995-1002.
98. Brochard V, Combadiere B, Prigent A, Laouar Y, Perrin A, Beray-Berthat V, et al. Infiltration of CD4+ lymphocytes into the brain contributes to neurodegeneration in a mouse model of Parkinson disease. *J Clin Invest.* 2009;119(1):182-92.
99. Chou KL, Amick MM, Brandt J, Camicioli R, Frei K, Gitelman D, et al. A recommended scale for cognitive screening in clinical trials of Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2010;25(15):2501-7.
100. Levy ML, Cummings JL, Fairbanks LA, Masterman D, Miller BL, Craig AH, et al. Apathy is not depression. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci.* 1998;10(3):314-9.

- 101. Duro D, Simoes MR, Ponciano E, Santana I. Validation studies of the Portuguese experimental version of the Montreal Cognitive Assessment (MoCA): confirmatory factor analysis. J Neurol. 2010;257(5):728-34.**
- 102. Dalrymple-Alford JC, MacAskill MR, Nakas CT, Livingston L, Graham C, Crucian GP, et al. The MoCA: well-suited screen for cognitive impairment in Parkinson disease. Neurology. 2010;75(19):1717-25.**
- 103. Weintraub D, Hoops S, Shea JA, Lyons KE, Pahwa R, Driver-Dunckley ED, et al. Validation of the questionnaire for impulsive-compulsive disorders in Parkinson's disease. Mov Disord. 2009;24(10):1461-7.**
- 104. Blau N, Kierat L, Heizmann CW, Endres W, Giudici T, Wang M. Screening for tetrahydrobiopterin deficiency in newborns using dried urine on filter paper. J Inherit Metab Dis. 1992;15(3):402-4.**
- 105. Honlinger M, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Schonitzer D, Werner ER, et al. [Serum neopterin determination for the additional safeguarding of blood transfusions. Our experiences with 76,587 blood donors]. Dtsch Med Wochenschr. 1989;114(5):172-6. Serum-Neopterinbestimmung zur zusätzlichen Sicherung der Bluttransfusion. Erfahrungen an 76 587 Blutspendern.**
- 106. Cano OD, Neurauter G, Fuchs D, Shearer GM, Boasso A. Differential effect of type I and type II interferons on neopterin production and amino acid metabolism in human astrocyte-derived cells. Neurosci Lett. 2008;438(1):22-5.**

Anexo I

MDS UPDRS Score Sheet

1.A	Source of information	<input type="checkbox"/> Patient <input type="checkbox"/> Caregiver <input type="checkbox"/> Patient + Caregiver	3.3b	Rigidity– RUE	
			3.3c	Rigidity– LUE	
Part I			3.3d	Rigidity– RLE	
1.1	Cognitive impairment		3.3e	Rigidity– LLE	
1.2	Hallucinations and psychosis		3.4a	Finger tapping– Right hand	
1.3	Depressed mood		3.4b	Finger tapping– Left hand	
1.4	Anxious mood		3.5a	Hand movements– Right hand	
1.5	Apathy		3.5b	Hand movements– Left hand	
1.6	Features of DDS		3.6a	Pronation- supination movements– Right hand	
1.6a	Who is filling out questionnaire	<input type="checkbox"/> Patient <input type="checkbox"/> Caregiver <input type="checkbox"/> Patient + Caregiver	3.6b	Pronation- supination movements– Left hand	
			3.7a	Toe tapping–Right foot	
1.7	Sleep problems		3.7b	Toe tapping– Left foot	
1.8	Daytime sleepiness		3.8a	Leg agility– Right leg	
1.9	Pain and other sensations		3.8b	Leg agility– Left leg	
1.10	Urinary problems		3.9	Arising from chair	
1.11	Constipation problems		3.10	Gait	
1.12	Light headedness on standing		3.11	Freezing of gait	
1.13	Fatigue		3.12	Postural stability	
Part II			3.13	Posture	
2.1	Speech		3.14	Global spontaneity of movement	
2.2	Saliva and drooling		3.15a	Postural tremor– Right hand	
2.3	Chewing and swallowing		3.15b	Postural tremor– Left hand	
2.4	Eating tasks		3.16a	Kinetic tremor– Right hand	
2.5	Dressing		3.16b	Kinetic tremor– Left hand	
2.6	Hygiene		3.17a	Rest tremor amplitude– RUE	
2.7	Handwriting		3.17b	Rest tremor amplitude– LUE	
2.8	Doing hobbies and other activities		3.17c	Rest tremor amplitude– RLE	
2.9	Turning in bed		3.17d	Rest tremor amplitude– LLE	
2.10	Tremor		3.17e	Rest tremor amplitude– Lip/jaw	
2.11	Getting out of bed		3.18	Constancy of rest	
2.12	Walking and balance			Were dyskinesias present	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Yes
2.13	Freezing			Did these movements interfere with ratings?	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Yes
3a	Is the patient on medication?	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Yes		Hoehn and Yahr Stage	
3b	Patient's clinical state	<input type="checkbox"/> Off <input type="checkbox"/> On	Part IV		
3c	Is the patient on Levodopa?	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Yes	4.1	Time spent with dyskinesias	
3.C1	If yes, minutes since last dose:		4.2	Functional impact of dyskinesias	
Part III			4.3	Time spent in the OFF state	
3.1	Speech		4.4	Functional impact of fluctuations	
3.2	Facial expression		4.5	Complexity of motor fluctuations	
3.3a	Rigidity– Neck		4.6	Painful OFF-state dystonia	

Anexo III

Mini Mental State Examination (MEEM)

1. Orientação (1 ponto por cada resposta correcta)

Em que ano estamos? _____

Em que mês estamos? _____

Em que dia do mês estamos? _____

Em que dia da semana estamos? _____

Em que estação do ano estamos? _____

Em que país estamos? _____

Em que distrito vive? _____

Em que terra vive? _____

Em que casa estamos? _____

Em que andar estamos? _____ **Nota:** ____ /10

2. Retenção (contar 1 ponto por cada palavra correctamente repetida)

"Vou dizer três palavras; queria que as repetisse, mas só depois de eu as dizer todas; procure ficar a sabê-las de cor".

Carro _____

Pedra _____

Tijolo _____ **Nota:** ____ /3

3. Atenção e Cálculo (1 ponto por cada resposta correcta. Se der uma errada mas depois continuar a subtrair bem, consideram-se as seguintes como correctas. Parar ao fim de 5 respostas)

100 menos 7. 93, 86,79, 72, 65.

Nota: ____ /5

4. Evocação (1 ponto por cada resposta correcta.)

"Veja se consegue dizer as três palavras que pedi há pouco para decorar".

Carro _____

Pedra _____

Tijolo _____ **Nota:** ____ /3

5. Linguagem (1 ponto por cada resposta correcta)

. "Como se chama isto? Mostrar os objectos:

Relógio _____

Lápis _____ **Nota:** ____ /2

b. "Repita a frase que eu vou dizer: O RATO ROEU A ROLHA" **Nota:** ____ /1

. "Quando eu lhe der esta folha de papel, pegue nela com a mão direita, dobre-a ao meio e ponha sobre a mesa"; dar a folha segurando com as duas mãos.

Pega com a mão direita _____

Dobra ao meio _____

Coloca onde deve _____ **Nota:** ____ /3

d. "Leia o que está neste cartão e faça o que lá diz". Mostrar um cartão com a frase bem legível, "FECHER OS OLHOS"; sendo analfabeto lê-se a frase.

Fechou os olhos _____ **Nota:** ____ /1

e. "Escreva uma frase inteira aqui". Deve ter sujeito e verbo e fazer sentido; os erros gramaticais não prejudicam a pontuação.

Frase: _____ **Nota:** ____ /1

6. Habilidade Construtiva (1 ponto pela cópia correcta.)

Deve copiar um desenho. Dois pentágonos parcialmente sobrepostos; cada um deve ficar com 5 lados, dois dos quais intersectados. Não valorizar tremor ou rotação.

Nota /1

