

UNIVERSIDADE LUTERANA DO BRASIL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E TOXICOLOGIA  
APLICADA



**HOMOCISTEÍNA EM PACIENTES COM DOENÇA DE PARKINSON:  
FATORES DETERMINANTES DE SUA CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA**

Dissertação para obtenção do Título  
de Mestre em Genética e Toxicologia  
Aplicada

**ELISEU FELIPPE DOS SANTOS**

Orientador: Prof. Dr. Moacir Wajner

CANOAS  
2007

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Este trabalho foi desenvolvido nas instalações do Laboratório de Erros Inatos do Metabolismo da Universidade Luterana do Brasil (ULBRA), sendo financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e ULBRA.

*Dedico este trabalho a minha querida esposa e amiga **Denise**, que sempre me incentivou e apoiou em minhas escolhas.*

## AGRADECIMENTOS

**“Os teus olhos me viram como substância ainda informe, e no teu livro foram escritos todos os meus dias, cada um deles escrito e determinado, quando nenhum deles havia ainda.”**

Salmo 139:16

Agradeço a **Deus** por tudo que sou e pelo que aprendi e aprenderei ao longo da vida.

Agradeço a minha **Família** de sangue e de fé.

Ao Magnífico Reitor **Ruben Eugen Becker**, que com a coragem, espiritualidade, sabedoria e discernimento conduz brilhantemente a **Universidade Luterana do Brasil**.

Na pessoa da Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. **Heloisa Helena Rodrigues de Andrade**, Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Genética e Toxicologia Aplicada, agradeço a todos os queridos professores, que não foram somente mestres, mas muito mais que isso, foram e continuam sendo amigos especiais.

A todos os colegas da Genética e Toxicologia Aplicada pelo convívio respeitoso e amigável.

A gentil e atenciosa Srt<sup>ª</sup>. **Fernanda Kieling Moreira**, secretária do curso de Pós-Graduação em Genética e Toxicologia Aplicada.

Ao querido amigo **Alexandre Gomes de Melo**, pelo apoio e grande ajuda.

Ao querido amigo, deixo de lado todos seus títulos para chamá-lo apenas de amigo: simpático, acolhedor, orientador, protetor, benigno, companheiro, e colega da nossa querida ATM 73 – FMUFRGS – Prof. Dr. **Moacir Wajner**.

## SUMÁRIO

### LISTA DE ABREVIATURAS

### LISTA DE FIGURAS

### LISTA DE TABELAS

|                                                    |           |
|----------------------------------------------------|-----------|
| <b>1. INTRODUÇÃO</b> .....                         | <b>19</b> |
| 1.1 DOENÇA DE PARKINSON.....                       | 19        |
| 1.2 FATORES DE RISCO DA DOENÇA DE PARKINSON.....   | 21        |
| 1.3 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS.....                    | 24        |
| 1.4 ETIOLOGIA (CAUSAS GENÉTICAS E AMBIENTAIS)..... | 24        |
| 1.4.1 Radicais Livres.....                         | 24        |
| 1.4.2 Estresse Oxidativo.....                      | 25        |
| 1.4.3 Disfunção Mitocôndrial.....                  | 25        |
| 1.5 ACHADOS NEUROPATOLÓGICOS.....                  | 26        |
| 1.5.1 Corpos de Lewy.....                          | 27        |
| 1.5.2 Dopamina.....                                | 28        |
| 1.6 TRATAMENTO.....                                | 30        |
| 1.6.1 Levopoda.....                                | 30        |
| 1.6.2 Carbidopa / Levopoda.....                    | 31        |
| 1.6.3 Agonistas da Dopamina.....                   | 31        |
| 1.6.4 Inibidores de MAO – B.....                   | 32        |
| 1.6.5 Inibidores da COMT.....                      | 32        |
| 1.6.6 Amantadina.....                              | 33        |
| 1.6.7 Anticolinérgicos.....                        | 33        |
| 1.7 HOMOCISTEÍNA.....                              | 33        |
| 1.7.1 Metabolismo da Homocisteína.....             | 35        |
| 1.7.2 Hiperhomocisteinemia.....                    | 37        |
| 1.7.3 Homocisteína e doenças Neurológicas.....     | 39        |
| 1.8 ÁCIDO FÓLICO.....                              | 41        |
| 1.8.1 Metabolismo do Ácido Fólico.....             | 44        |
| 1.8.2 Ácido Fólico e Neurodegeneração.....         | 48        |

|                                                                                                                                                                                                                                                                  |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 1.9 VITAMINA B 12.....                                                                                                                                                                                                                                           | 49        |
| 1.9.1 <i>Metabolismo da Vitamina B12</i> .....                                                                                                                                                                                                                   | 50        |
| 1.9.2 <i>Deficiência de Vitamina B12 e Neurodegeneração</i> .....                                                                                                                                                                                                | 53        |
| <b>2. OBJETIVOS.....</b>                                                                                                                                                                                                                                         | <b>55</b> |
| 2.1 GERAL.....                                                                                                                                                                                                                                                   | 55        |
| 2.2 ESPECÍFICOS.....                                                                                                                                                                                                                                             | 55        |
| <b>3. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>                                                                                                                                                                                                                                | <b>56</b> |
| 3.1 MATERIAL.....                                                                                                                                                                                                                                                | 56        |
| 3.2 MÉTODOS.....                                                                                                                                                                                                                                                 | 57        |
| 3.2.1 <i>Determinação dos níveis plasmáticos de Homocisteína (Hcy)</i> .....                                                                                                                                                                                     | 57        |
| 3.2.2 <i>Determinação dos níveis séricos Àcido fólico, Vitamina B12, Uréia, Creatinina e Ácido úrico</i> .....                                                                                                                                                   | 58        |
| 3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....                                                                                                                                                                                                                                     | 60        |
| 3.4 ASPECTOS ÉTICOS.....                                                                                                                                                                                                                                         | 61        |
| <b>4. RESULTADOS.....</b>                                                                                                                                                                                                                                        | <b>62</b> |
| 4.1 Caracterização da amostra (controles e pacientes com doença de Parkinson) quanto à idade, sexo, estado civil, hipertensão arterial sistêmica, cardiopatia isquêmica, diabete mérito, insuficiência renal, uso de tabaco e bebidas alcoólicas.....            | 62        |
| 4.2 Comparação entre as concentrações séricas de homocisteína, vitamina B12, ácido fólico, uréia, creatinina, ácido úrico e a idade em pacientes com a doença de Parkinson em controles normais.....                                                             | 63        |
| 4.3 Influência do sexo e do uso de bebidas alcoólicas sobre as concentrações séricas de homocisteína, vitamina B12, ácido fólico, uréia, creatinina e ácido úrico em pacientes com a doença de Parkinson e em controles normais.....                             | 68        |
| 4.4. Influência da hipertensão arterial sistêmica, diabete mérito e uso de tabaco sobre as concentrações séricas de homocisteína, vitamina B12, ácido fólico, uréia, creatinina e ácido úrico em pacientes com a doença de Parkinson e em controles normais..... | 72        |

|                                                                                                                                                                                                                                                                      |            |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 4.5. Influência dos níveis séricos de ácido fólico sobre os níveis plasmáticos de homocisteína em pacientes com doença de Parkinson e em indivíduos normais                                                                                                          | 80         |
| 4.6 Influência dos níveis séricos de homocisteína sobre os níveis de ácido fólico, vitamina B12, uréia, creatinina e ácido úrico, bem como sobre a idade em pacientes com doença de Parkinson                                                                        | 81         |
| 4.7 Influência do uso de L-dopa sobre os níveis plasmáticos de homocisteína, ácido fólico e vitamina B12 em pacientes com doença de Parkinson                                                                                                                        | 82         |
| 4.8 Influência do tempo de duração da doença sobre as concentrações plasmáticas de homocisteína, vitamina B12, ácido fólico, uréia, creatinina e ácido úrico em pacientes com doença de Parkinson                                                                    | 83         |
| 4.9 Correlação entre as concentrações séricas de homocisteína com as de vitamina B12, ácido fólico, uréia, creatinina, ácido úrico, bem como com a idade, o peso, a altura, o índice de massa corporal em pacientes com a doença de Parkinson e em controles normais | 84         |
| <b>5. DISCUSSÃO</b>                                                                                                                                                                                                                                                  | <b>93</b>  |
| <b>6. CONCLUSÕES</b>                                                                                                                                                                                                                                                 | <b>101</b> |
| <b>REFERÊNCIAS</b>                                                                                                                                                                                                                                                   | <b>103</b> |
| <b>ANEXO I</b>                                                                                                                                                                                                                                                       | <b>114</b> |
| <b>ANEXO II</b>                                                                                                                                                                                                                                                      | <b>119</b> |



## LISTA DE ABREVIATURAS

- $\alpha$ -CBT –  $\alpha$ -Cetobutirato
- AA – Aminoácidos
- Ado B12 – 5'Desoxiadenosil-Cobalamina
- AG – Ácidos Graxos
- ATP – Adenosina Trifosfato
- AVC – Acidente Vascular Cerebral
- B2 – Vitamina B2
- B6 – Vitamina B6
- B9 – Vitamina B9
- B12 – Vitamina B12
- BHMT – Homocisteína Betaína Metil Transferase
- C677T – Mutação da Enzima MTHFR (Metilene-tetra-hidrofolato redutase)
- Cbl – Cianocobalamina
- CBS – Cistationina  $\beta$  Sintase
- CH<sub>3</sub>THF – Metiltetra-hidrofolato
- CIS – Cisteína
- CL – Corpos de Lewy
- COMP – Catecol-o-metiltransferase
- CoQ<sub>10</sub> – Coenzima Q<sub>10</sub>
- Cu – Cobre
- CYS – Cistationina
- DA – Doença de Alzheimer
- DCL – Demência com Corpos de Lewy
- DHFR – Dihidrofolato Redutase
- DNA – Ácido Desoxirribonucléico
- DOPAC – Ácido Dihidroxifenilacético
- DP – Doença de Parkinson
- DTMP – Timidinamonofosfato

- DTN – Defeito do Tubo Neural
- DTT – Ditioneitol
- DUMP – Deoxiuridinamono-fosfato
- EDTA – Ácido Etileno-Diamino-Tetra-Acético
- FI – Fator Intrínseco
- GHS – Glutatião Reduzido
- GLI – Glicina
- H<sub>2</sub>O – Água
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> – Peróxido de Hidrogênio
- HAS – Hipertensão Arterial Sistêmica
- HCY – Homocisteína
- Hg – Mercúrio
- HHCY – Hiperhomocisteinemia
- HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana
- HVA – Ácido Homovanílico
- LCR – Líquido Cefalorraquidiano
- L-Dopa – Levodopa
- MAO – Monoaminoxidase
- MAO-B – Monoaminoxidase B
- Met – Metionina
- Metila-B12 – Metilcobalamina
- MMA – Ácido Metilmalônico
- Mn – Manganês
- MPP<sup>+</sup> – 1 Metil-4-Fenilpiridina
- MPTP – 1 Metil 4 Fenil 1, 2, 3, 6 Tetrahidropiridina
- MS – Metionina Sintase
- MTH – Metiltetrahidrofolato
- MTHFR – Metileno-tetrahidrofolato Redutase
- NAD<sup>+</sup> – Nicotinamida Adenina Nucleotídeo (Forma Oxidada)
- NADH – Nicotinamida Adenina Nucleotídeo
- NADPH – Nicotinamida Adenina Nucleotídeo Fosfato

- $O_2^{\cdot -}$  - Radical Superóxido
- $OH^{\cdot}$  - Radical Hidroxila
- P5'P – Piridoxal 5'Fosfato
- R5'P – Riboflavina 5'Fosfato
- RL – Radical Livre
- RNA – Ácido Ribonucléico
- SAH – S-Adenosilhomocisteína
- SAM – S-Adenosilmetionina
- SER – Serina
- SNC – Sistema Nervoso Central
- THF ou FH4 – Tetrahidrofolato

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                                                             |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura I.1.</b> Sistema Dopaminérgico no Cérebro Humano.....                                                                                                                                                                             | 21 |
| <b>Figura I.2.</b> Principais Vias do Metabolismo da Dopamina no Cérebro.....                                                                                                                                                               | 28 |
| <b>Figura I.3.</b> Biosíntese das Catecolaminas.....                                                                                                                                                                                        | 29 |
| <b>Figura I.4.</b> Aminoácidos Sulfurosos e suas Estruturas Químicas.....                                                                                                                                                                   | 34 |
| <b>Figura I.5.</b> Metabolismo da Homocisteína. SAM, S-Adenosil Metionina; SAH, S-Adenosilhomocisteína; HCY, Homocisteína; Met, Metionina; Gly, Glicina, THF, Tetrahydrofolato, MTHF, 5 Metiltetrahydrofolato; GSH, Glutatião Reduzido..... | 36 |
| <b>Figura I.6.</b> Estrutura Química do Ácido Fólico.....                                                                                                                                                                                   | 42 |
| <b>Figura I.7.</b> Redução do Folato (F) a Dihydrofolato (FH <sub>2</sub> ) e, em seguida, a Tetrahydrofolato (FH <sub>4</sub> ), pela Enzima Dihydrofolato-redutase (DHFR).....                                                            | 44 |
| <b>Figura I.8.</b> Absorção e ativação do Folato no Intestino.....                                                                                                                                                                          | 45 |
| <b>Figura I.9.</b> Transferência do grupo metila com a participação do Folato.....                                                                                                                                                          | 47 |
| <b>Figura I.10.</b> Metabolismo da metionina com a participação do Ácido Fólico.....                                                                                                                                                        | 48 |
| <b>Figura I.11.</b> Estrutura da Vitamina B12.....                                                                                                                                                                                          | 49 |
| <b>Figura I.12.</b> Participação da Vitamina B12 no Metabolismo do Folato.....                                                                                                                                                              | 51 |
| <b>Figura I.13.</b> Formação de Succinil-CoA.....                                                                                                                                                                                           | 52 |
| <b>Figura IV.1.</b> Níveis plasmáticos de Homocisteína (Hcy) em controles saudáveis e pacientes com doença de Parkinson(DP).....                                                                                                            | 68 |
| <b>Figura IV.2.</b> Relação entre as concentrações plasmáticas de Homocisteína e a idade dos pacientes com doença de Parkinson.....                                                                                                         | 85 |
| <b>Figura IV.3.</b> Relação entre as concentrações plasmáticas de Homocisteína e os níveis séricos de Ácido Úrico em pacientes com doença de Parkinson.....                                                                                 | 86 |
| <b>Figura IV.4.</b> Relação entre as concentrações plasmáticas de Homocisteína e os níveis séricos de Ácido Fólico em pacientes com doença de Parkinson.....                                                                                | 87 |
| <b>Figura IV.5.</b> Relação entre as concentrações plasmáticas de Homocisteína e os níveis séricos de Vitamina B12 em controles normais.....                                                                                                | 88 |

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                                                                                          |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela I.1.</b> Doses Recomendadas de Folato.....                                                                                                                                                                     | 44 |
| <b>Tabela IV.1.</b> Caracterização da amostra estudada (Controles e Pacientes) quanto ao Sexo.....                                                                                                                       | 64 |
| <b>Tabela IV 2.</b> Caracterização da amostra estudada (Controles e Pacientes) quanto à Raça.....                                                                                                                        | 64 |
| <b>Tabela IV 3.</b> Caracterização da amostra estudada (Controles e Pacientes) quanto ao Estado Civil.....                                                                                                               | 64 |
| <b>Tabela IV 4.</b> Caracterização da amostra estudada (Controles e Pacientes) quanto à Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS).....                                                                                        | 65 |
| <b>Tabela IV 5.</b> Caracterização da amostra estudada (Controles e Pacientes) quanto a Cardiopatia Isquêmica.....                                                                                                       | 65 |
| <b>Tabela IV 6.</b> Caracterização da amostra estudada (Controles e Pacientes) quanto à Diabete Mérito.....                                                                                                              | 65 |
| <b>Tabela IV 7.</b> Caracterização da amostra estudada (Controles e Pacientes) quanto ao uso de Tabaco.....                                                                                                              | 66 |
| <b>Tabela IV 8.</b> Caracterização da amostra estudada (Controles e Pacientes) quanto ao uso do Álcool.....                                                                                                              | 66 |
| <b>Tabela IV 9.</b> Comparação entre as concentrações séricas de Homocisteína, Vitamina B12, Ácido Fólico, Uréia, Creatinina, Ácido Úrico e idade em pacientes com doença Parkinson e controles normais.....             | 67 |
| <b>Tabela IV 10.</b> Influência do sexo sobre os níveis plasmáticos da Homocisteína, Vitamina B12, Ácido Fólico, Uréia, Creatinina, Ácido Úrico e a idade em pacientes com doença de Parkinson.....                      | 69 |
| <b>Tabela IV 11.</b> Influência do sexo sobre os níveis plasmáticos da Homocisteína, Vitamina B12, Ácido Fólico, Uréia, Creatinina, Ácido Úrico e a idade em controles normais.....                                      | 70 |
| <b>Tabela IV 12.</b> Influência do uso de bebidas alcoólicas sobre os níveis plasmáticos da Homocisteína, Vitamina B12, Ácido Fólico, Uréia, Creatinina, Ácido Úrico e a idade em pacientes com doença de Parkinson..... | 71 |

|                                                                                                                                                                                                                                    |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela IV 13.</b> Influência do uso de bebidas alcoólicas sobre os níveis plasmáticos da Homocisteína, Vitamina B12, Ácido Fólico, Uréia, Creatinina, Ácido Úrico e a idade em controles normais.....                           | 72 |
| <b>Tabela IV 14.</b> Influência da Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS) sobre os níveis Sanguíneos de Homocisteína, Vitamina B12, Ácido Fólico, Uréia, Creatinina, Ácido Úrico e a idade em pacientes com doença de Parkinson..... | 74 |
| <b>Tabela IV 15.</b> Influência da Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS) sobre os níveis plasmáticos da Homocisteína, Vitamina B12, Ácido Fólico, Uréia, Creatinina, Ácido Úrico e a idade em controles normais.....                | 75 |
| <b>Tabela IV 16.</b> Influência da Diabete Mérito sobre os níveis plasmáticos da Homocisteína, Vitamina B12, Ácido Fólico, Uréia, Creatinina, Ácido Úrico e a idade em pacientes com doença de Parkinson.....                      | 76 |
| <b>Tabela IV 17.</b> Influência da Diabete Mérito sobre os níveis plasmáticos da Homocisteína, Vitamina B12, Ácido Fólico, Uréia, Creatinina, Ácido Úrico e a idade em controles normais.....                                      | 77 |
| <b>Tabela IV 18.</b> Influência do fumo sobre os níveis plasmáticos da Homocisteína, Vitamina B12, Ácido Fólico, Uréia, Creatinina, Ácido Úrico e a idade em controles normais.....                                                | 78 |
| <b>Tabela IV 19.</b> Influência do fumo sobre os níveis plasmáticos da Homocisteína, Vitamina B12, Ácido Fólico, Uréia, Creatinina, Ácido Úrico e a idade em pacientes com doença de Parkinson.....                                | 79 |
| <b>Tabela IV 20.</b> Comparação entre os níveis plasmáticos de Homocisteína em pacientes com doença de Parkinson e controles normais com concentrações séricas de Ácido Fólico inferiores ou superiores a 13 ng/mL.....            | 81 |
| <b>Tabela IV 21.</b> Efeitos dos níveis plasmáticos de Homocisteína sobre as concentrações séricas de Ácido Fólico, Vitamina B12, Uréia, Creatinina, Ácido Úrico e a idade dos pacientes com doença de Parkinson.....              | 82 |
| <b>Tabela IV 22.</b> Influência do uso de L-DOPA sobre os níveis plasmáticos de Homocisteína, Vitamina B12 e Ácido Fólico em pacientes com doença de Parkinson.....                                                                | 83 |

|                                                                                                                                                                                                                                                      |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela IV 23.</b> Influência do tempo de duração da doença sobre as concentrações plasmáticas de Homocisteína, Vitamina B12, Ácido Fólico, Uréia, Creatinina e Ácido Úrico em pacientes com doença de Parkinson.....                              | 89 |
| <b>Tabela IV 24.</b> Correlação entre as concentrações sanguíneas de Homocisteína ( $\mu$ mol/L) com as de Vitamina B12, Ácido Fólico, Uréia, Creatinina, Ácido Úrico, bem como a idade em pacientes com doença de Parkinson.....                    | 90 |
| <b>Tabela IV 25.</b> Correlação entre as concentrações plasmáticas de Homocisteína ( $\mu$ mol/L) com as de Vitamina B12, Ácido Fólico, Uréia, Creatinina e Ácido Úrico, bem como a idade em controles normais.....                                  | 91 |
| <b>Tabela IV 26.</b> Regressão múltipla entre os níveis plasmáticos de Homocisteína (variável dependente) com a idade e as concentrações séricas de Vitamina B12 e Ácido Fólico (variáveis independentes) em controles normais.....                  | 92 |
| <b>Tabela IV 27.</b> Regressão múltipla entre os níveis plasmáticos de homocisteína (variável dependente) com a idade e as concentrações séricas de vitamina B12 e ácido fólico (variáveis independentes) em pacientes com doença de Parkinson ..... | 92 |

## RESUMO

A doença de Parkinson (DP) é uma doença neurológica de etiologia multifatorial. É caracterizada por degeneração progressiva dos neurônios dopaminérgicos da substância nigra caracterizados pelo alto conteúdo de dopamina. A doença somente se manifesta quando há perda (morte) de 75% destes neurônios. Vários fatores adquiridos, tais como exposição ambiental a pesticidas, metais e hidrocarbonetos, disfunção mitocondrial, alterações relacionadas com a síntese, transporte e metabolismo da dopamina e a formação de radicais livres parecem estar envolvidos com o dano e morte dos neurônios da substância nigra na DP. Mutações no gene da alfa-sinucleína podem também ser encontradas em uma parcela de afetados pela DP. Tendo em vista que alguns trabalhos da literatura mostraram que o aminoácido homocisteína (Hcy) apresenta-se com concentrações elevadas no sangue de pacientes com DP, o presente trabalho visou verificar os níveis plasmáticos não somente de Hcy, mas também de vitamina B12 e ácido fólico, e determinar os fatores envolvidos com as alterações destes níveis, como o fumo, álcool, hipertensão arterial sistêmica, diabete mérito, cardiopatia isquêmica, ingestão de L-DOPA, duração da doença e outros. Enfatize-se que as associações verificadas até agora entre os níveis de Hcy no plasma de pacientes afetados por DP ainda não estão bem esclarecidas e não estabeleceram se a Hcy é fator causador da disfunção neurológica ou apenas um marcador dessa doença decorrente de alterações de outros fatores. Verificamos inicialmente que a Hcy estava aumentada em cerca de 30 % nos afetados por DP, relativamente aos controles da mesma idade, sem qualquer alteração nos níveis séricos de vitamina B12, ácido fólico, uréia, creatinina e ácido úrico. Verificamos também que o uso de fumo estava associado com uma deficiência de ácido fólico nestes pacientes e nos controles normais e, que a deficiência desta vitamina estava inversamente associada ao aumento dos níveis de Hcy. Os níveis plasmáticos de Hcy estavam também inversamente correlacionados com os de vitamina B12 e positivamente com a idade nos pacientes com DP. Já nos controles, a única correlação significativa foi dos



níveis de Hcy com os de vitamina B12 de forma inversa. Verificamos ainda através de regressão múltipla que nos pacientes com DP o maior determinante dos níveis plasmáticos de Hcy foram os níveis de ácido fólico, enquanto que nos controles normais foram os de vitamina B12. Além disso, na comparação entre pacientes e controles, a diferença dos níveis plasmáticos de Hcy entre esses dois grupos se acentuava (esses níveis aumentavam mais ainda nos pacientes) quando os níveis de ácido fólico eram mais baixos. Observamos também em nosso estudo que o uso de álcool, a diabetes mellito, a hipertensão arterial sistêmica, a cardiopatia isquêmica, o sexo, o uso de L-DOPA e a duração da doença não alteraram os níveis plasmáticos de Hcy, ácido fólico e vitamina B12 nos pacientes. Desta forma, tendo em vista os efeitos deletérios da Hcy sobre o sistema nervoso central, preconiza-se que nos pacientes com DP seja administrado ácido fólico para que os níveis de Hcy se normalizem, deixando de ser um possível agente neurotóxico que juntamente com outros determinam uma pior evolução da doença.

## ABSTRACT

Parkinson's disease (PD) is a neurological disorder of multifactorial etiology. It is characterized by progressive degeneration of dopaminergic neurons of the substantia nigra, which contains high amounts of dopamine. The disease is clinically manifested when 75 % or more of these neurons are lost. Various acquired factors, such as environmental exposure to pesticides, metals and hydrocarbonides, mitochondrial dysfunction, deficient synthesis, transport or metabolism of dopamine and free radical generation are involved in the damage and death of substantia nigra neurons. Mutations in the alpha-sinuclein gene may also be found in affected patients with PD. Since some reports have shown that the blood concentrations of the amino acid homocysteine (Hcy) are increased in patients with PD, the present work aimed to measure the plasma levels of Hcy, as well as vitamin B12 and folic acid, and to determine the factors involved in alteration of these levels, such as smoke, hypertension, diabetes mellitus, ischemic cardiopathy, L-DOPA and others. It should be emphasized that the associations observed so far between Hcy plasma levels in patients with PD did not establish whether Hcy causes neurological dysfunction or is a marker of this disorder due to other factors. We initially observed that plasma Hcy levels were increased at around 30 % in patients affected by PD compared to age matched controls, without modifications on serum concentrations of vitamin B12, folic acid, urea, creatinine and uric acid between these groups. We also verified that smoke was associated with a deficit of folic acid in PD patients and in controls and that deficiency of this vitamin was inversely correlated to the increase of Hcy levels. Plasma Hcy levels were also inversely correlated with those of vitamin B12 and positively correlated with the age of the patients. In controls, we found an inverse correlation between plasma Hcy levels and vitamin B12 concentrations. We also found that the major determinant of plasma Hcy levels in PD patients were folic acid, whereas in the controls was vitamin B12. Besides, the difference between plasma Hcy concentrations in PD patients and controls increased when serum folic acid concentrations were low. We also observed in our investigation that alcohol, diabetes mellitus, hypertension, ischemic cardiopathy, sex, L-DOPA and

duration of the disease did not alter plasma Hcy, folic acid and vitamin B12 levels in the patients. Therefore, considering the deleterious effects of Hcy on the central nervous system, we postulate that folic acid should be supplemented to patients affected by PD in order to normalize plasma Hcy levels, therefore avoiding a possible neurotoxic agent that together with others determine a worse evolution of this disease.

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. Doença de Parkinson

A doença de Parkinson (DP) é uma doença neurológica de etiologia multifatorial dependente da idade, bem como de fatores ambientais e genéticos. Foi descrita pela primeira vez, em 1817, pelo médico inglês James Parkinson. É caracterizada por degeneração progressiva dos neurônios dopaminérgicos na substância negra, causando perda da pigmentação da substância. Os neurônios da substância nigra contêm quantidades altas de dopamina, sendo necessário que ocorra aproximadamente uma perda de mais ou menos 75% da dopamina ou neurônios que contem dopamina, para que ocorram sintomas da DP. Há uma perda de axônios, que partem desta região e se projetam para o neostriado. A lesão da via dopaminérgica nigroestriada determina diminuição da transmissão dopaminérgica no corpo estriado, especialmente no putâmen (MARJAMA-LYONS E SHOMON, 2003).

Vários fatores adquiridos são suspeitos de estarem envolvidos com a DP, tais como exposição ambiental a pesticidas, metais e hidrocarbonetos, disfunção mitocondrial, alterações relacionadas com a síntese, transporte e metabolismo da dopamina e a formação de radicais livres (MOLACE et al. 2003; KLODOWSKA DUDA et al 2005).

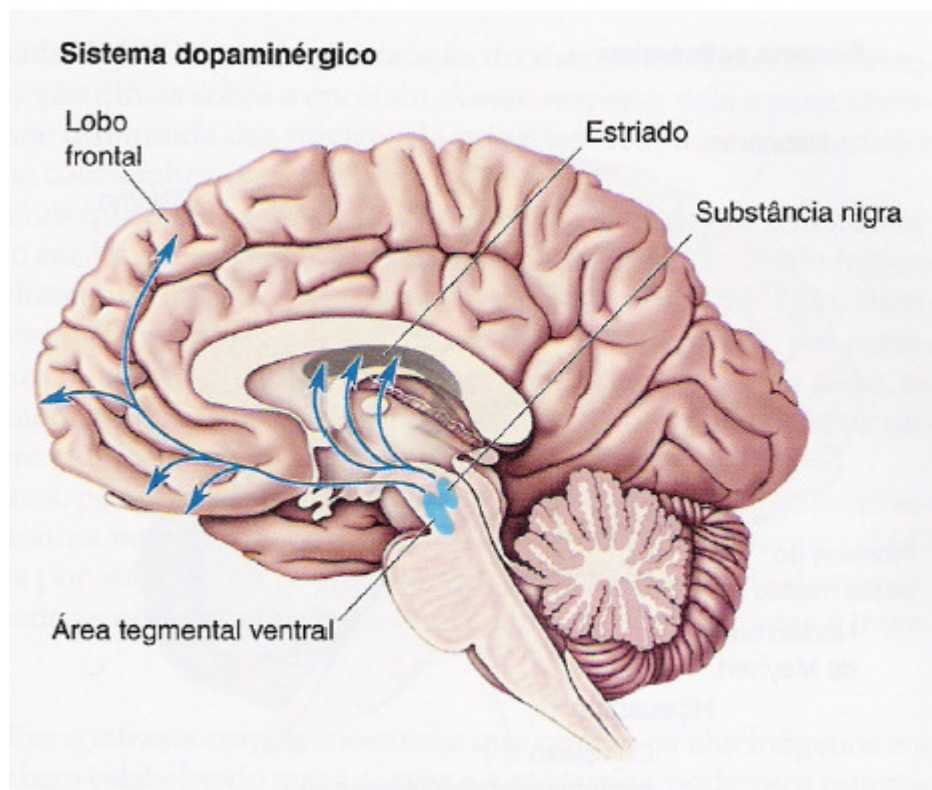
Em uma parcela de portadores de DP observa-se mutação no gene da alfa-sinucleína, o que acarreta alteração molecular da proteína, fazendo com que haja agregações anômalas entre proteínas da mesma ou de outras classes.

Conforme estudos, em alguns grupos familiares portadores de doença de Parkinson familiar, pôde-se observar uma importante mutação no gene da alfa-sinucleína. Esta proteína atípica possui uma substituição de uma alanina e uma treonina na posição 53 (A53T). Uma hipótese proposta para explicar o surgimento dos Corpos de Lewy (CL) seria que essa alteração molecular predisporia a alfa-sinucleína a agregar-se entre outras proteínas da mesma classe ou entre

proteínas de outras classes (por exemplo: subunidades neurofibrilares) (POLYMERPOULOS et al., 1997). No entanto, em outro estudo, Higuchi et al. (1998) avaliaram a presença dessa mutação (A53T) em 329 casos esporádicos de doença de Parkinson (DP), Demência com Corpos de Lewy (DCL) e doença de Alzheimer e sua presença não foi observada em nenhum dos casos, o que sugere o não envolvimento dessa mutação nessas doenças neurológicas.

O termo parkinsonismo se refere a qualquer condição de anormalidade de movimentos, com destruição dos neurônios dopaminérgicos, semelhantes à DP. O parkinsonismo secundário pode ser causado por várias situações, tais como acidente vascular cerebral, encefalite ou meningite. Outras doenças neurodegenerativas tais como a paralisia supranuclear progressiva, a degeneração corticoestriatal, podem também lesar esses neurônios dopaminérgicos, causando essa patologia. Medicamentos tais como o haloperidol, metoclopramida, fenotiazina, pimozide, cinarizina, flunarizina, reserpina e alfametildopa são outras causas comuns de parkinsonismo secundário. Substâncias tóxicas (MPTP, Cu, Mn, Hg), acidentes vasculares, traumáticos e tumores cerebrais também são causas de parkinsonismo secundário. Causas menos frequentes de parkinsonismo secundário incluem overdose de narcóticos ou anestésicos utilizados em cirurgia, exposição a toxinas e envenenamento por monóxido de carbono, quando esses agentes lesam os neurônios dopaminérgicos. O parkinsonismo secundário causado por antipsicóticos é geralmente reversível, mas aquele causado por toxinas, infecções, drogas ou outras doenças com dano cerebral podem não ser reversíveis. Os sintomas de parkinsonismo incluem a rigidez de tronco, braços, pernas e região facial, tremor fino, algumas formas de paralisia e anormalidades de movimentos. O parkinsonismo secundário mais frequentemente se associa a déficit cognitivo resultando em demência (HANG. et al, 2004)

Em resumo, fatores ambientais, exposição a substâncias tóxicas, alterações genéticas, alterações hormonais e outros fatores também podem desencadear a DP. A figura I.1 mostra o sistema dopaminérgico no cérebro humano, distinguindo a localização da substância nigra.



**Figura I.1.** Sistema Dopaminérgico no Cérebro Humano

*Fonte:* DAVIS & GECK, 1974

## 1.2. Fatores de Risco da doença de Parkinson

- **Sexo**

A DP afeta ambos os sexos, mas vários estudos encontraram a DP com predominância maior em homens. Na China, a DP ocorre três vezes mais em homens do que em mulheres (MARJAMA-LYONS E SHOMON, 2003).

Outro estudo envolvendo africanos, hispânicos e caucasianos demonstrou menor incidência de DP em mulheres. Uma pesquisa mostrou um aumento de duas vezes mais DP em homens italianos do que em mulheres italianas (MARJAMA-LYONS E SHOMON, 2003).

O hormônio estrógeno pode atuar como agente neuroprotetor das células dopamínicas do cérebro, evitando a morte das mesmas.

Em mulheres portadoras de DP, observa-se menopausa precoce e baixa reposição hormonal pós-menopausa (HIRAYAMA, 2006).

- **Idade**

O envelhecimento está associado ao aumento do risco de adquirir-se a DP. A incidência da doença, para pessoas com idade inferior a 50 anos, é de 10 por 100.000, entretanto a incidência aumenta para 200 por 100.000 em pessoas com idade entre 60 a 80 anos.

Estima-se que 5% a 10% de pacientes com DP experimentaram os primeiros sintomas antes dos 45 anos e o pico da incidência dos sintomas entre 55 e 60 anos. O número de pessoas diagnosticadas com DP diminui depois dos 80 anos, mostrando que não é só o envelhecimento que leva à DP (HIRAYAMA, 2006).

- **Etnia**

Estudos mostram que há uma prevalência maior da DP na população caucasiana, em torno de 100 a 300 casos por 100.000 pessoas na América do Norte e Europa. Na Ásia e na África a prevalência é menor, com 50 casos por 100.000. Entretanto recentes estudos com imigrantes asiáticos e africanos, residentes na América do Norte, mostram uma prevalência e incidências semelhantes aos caucasianos americanos, mostrando a importância do meio ambiente e de outros fatores (HIRAYAMA, 2006).

- **Geografia**

A DP é mais predominante em certas regiões. As causas podem ser muitas e devem ser mais bem estudadas. Neste particular, 31 por 100.000 pessoas, que residem na Líbia são portadores de DP, enquanto em Bombaim, na Índia, as taxas são de 328 por 100.000 pessoas. Além disso, há um aumento da incidência

de DP em pessoas que vivem no meio rural que pode, possivelmente, estar relacionado com o contato com herbicidas e outras substâncias tóxicas (MARJAMA-LYONS E SHOMON, 2003).

- **Produtos Tóxicos**

Herbicidas e pesticidas, drogas, alumínio, metais pesados (cobre, chumbo, ferro, manganês), monóxido de carbono, solventes orgânicos e outras substâncias tóxicas desencadeiam morte das células dopamínicas levando o aparecimento da DP.

- **MPTP – 1 Metil 4 Fenil 1,2,3,6 Tetrahidropiridina**

Em 1982, um grupo de viciados jovens na Califórnia repentinamente desenvolveu uma forma grave de DP (Síndrome do Viciado Congelado) e a causa foi atribuída MPTP (1 metil 4 fenil 1,2,3,6, tetrahidropiridina), droga substituta da heroína, que causou a destruição irreversível dos neurônios dopaminérgicos nigroestriatais.

A droga MPTP é metabolizada pela MAO-B (monoaminoxidase B) produzindo MPP<sup>+</sup> e altas taxas de Radicais livres (RL), diminuindo formação de ATP, devido à inibição da enzima NADH (nicotinamida adenina nucleotídeo hidrogênio). Com a diminuição da formação de ATP, que é a chave energética molecular da célula, ocorre a morte celular (HANG. 2004)

- **Genéticos**

Alterações genéticas decorrentes de mutações acarretam alterações no DNA, alterando a síntese protéica. Este parece ser a causa em algumas formas familiares de DP. Neste sentido, alguns estudos indicam que a DP pode dever-se a defeitos nas proteínas envolvidas na degradação das proteínas alfa-nucleína e ou parkina. Daí, na DP considerada de origem genética, o erro está localizado nos



genes da alfa-nucleína ou parkina. Tais defeitos levariam ao aumento dessas proteínas, ao decorrer do tempo, sob a forma de Corpos de Lewy.

### **1.3 Manifestações Clínicas**

A DP é caracterizada clinicamente por sintomas neurológicos como tremor de repouso, rigidez muscular e lentidão anormal de movimentos (bradicinesia). Encontramos também outros sintomas, como depressão, ansiedade, irritabilidade, perda olfatória, dificuldade na escrita, perda das funções cognitivas, alterações da voz com dificuldade na articulação das palavras, alterações urinárias, restrição respiratória com diminuição da amplitude torácica e disfunção erétil.

### **1.4 Etiologia (Causas Genéticas e Ambientais)**

As causas da DP estão relacionadas a vários fatores, tais como a idade, vírus, substâncias tóxicas (pesticidas, metais, hidrocarbonetos), mutações que alteram a expressão gênica, estresse oxidativo e outros. O uso do tabaco, radiações, processos inflamatórios e aumento de radicais livres também podem desencadear a DP.

#### **1.4.1 Radicais Livres (RL)**

São estruturas químicas que possuem um elétron desemparelhado ocupando um orbital atômico ou molecular. São altamente reativos, podendo combinar-se com moléculas integrantes da estrutura celular e agregarem-se anormalmente com proteínas citoplasmáticas causando neurodegeneração.

O metabolismo normal do neurotransmissor dopamina produz radicais hidroxilas ( $\text{OH}^\bullet$ ) e peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), os quais na presença de depósitos de ferro, no cérebro, podem inibir a cadeia respiratória celular e ocasionar neurotoxicidade.

#### **1.4.2 Estresse Oxidativo**

Quando ocorre um desequilíbrio entre a formação de RL e enzimas antioxidantes, ocorre o estresse oxidativo, devido ao aumento da quantidade de RL, acarretando alterações celulares, com efeitos deletérios sobre o DNA, alterando a transcrição gênica e a síntese de proteínas (LIESUY, 2002).

Danos oxidativos em ácidos nucleicos causam neurodegeneração dopaminérgica da substância nigra, liberando a hidroxiguanosina (8-HGO) que está elevada em pacientes com DP.

Quando a quantidade de dopamina na substância nigra diminui, ocorre interação com várias moléculas (peróxidos) formando RL tóxicos. O processo oxidativo com a formação aumentada de RL é prejudicial aos neurônios da substância nigra, podendo levá-los à morte.

No metabolismo da dopamina há geração de peróxido de hidrogênio o qual forma RL e para combater a formação dos radicais hidroxilas e superóxido existem processos que envolvem a enzima superóxido-dismutase que catalisa a conversão do radical superóxido ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ) em  $\text{H}_2\text{O}_2$ , que sofrerá ação da enzima glutathione peroxidase, liberando  $\text{H}_2\text{O}$  e glutathione-disulfeto que é a forma oxidada da glutathione. Em cérebros saudáveis, os peróxidos são detoxificados na presença da glutathione.

#### **1.4.3 Disfunção Mitocondrial**

Mitocôndrias são organelas citoplasmáticas que existem em todos vegetais e animais, em quantidades proporcionais às atividades aeróbicas de cada um, sendo variável nas diferentes células (CONRADT, 2006). A função das mitocôndrias é fundamentalmente produção de energia, é respiração celular com concomitante produção energética, localizando-se preferencialmente nas regiões onde existe grande consumo energético (LY & VERSTREKEN, 2006).

Alterações no DNA mitocondrial, associadas ao estresse oxidativo, aumento das taxas de ferro e disfunções genéticas contribuem para o surgimento da DP e de outras patologias neurodegenerativas. Descobriu-se que o uso da droga MPTP (1 metil 4 fenil 1, 2, 3, 6, tetrahidropiridina) em humanos e animais desencadeava a morte neuronal no cérebro, com grande diminuição da taxa de dopamina.

A droga MPTP é metabolizada pela MAO-B (monoaminoxidase B), produzindo MPP<sup>+</sup> e altas quantidades de RL, que diminuem formação de ATP, devido à inibição da enzima NADH desidrogenase ou complexo I da cadeia respiratória. Com a diminuição da formação de ATP, ocorre a morte celular. Todo este processo ocorre no da mitocôndria.

A coenzima Q 10 (CoQ10) chamada de ubiquinona, que atua como antioxidante, captando os RL tóxicos, está deficiente na DP. Vários herbicidas como a rotenona, que inibe o complexo I da cadeia respiratória, podem causar DP.

## **1.5 Achados Neuropatológicos**

Após a manifestações clínicas, a DP afeta os gânglios da base e mais especificamente a substância nigra, caracterizando-se por perda de neurônios dopaminérgicos. Pode ocorrer também degeneração das terminações nervosas no corpo estriado, acarretando diminuição de dopamina no corpo estriado. No cérebro humano, os núcleos da base (substância nigra, estriado, globus pallidus, núcleo subtalâmico e tálamo) conectam entre si as partes do cérebro que controlam as funções motoras com o córtex motor.

Quando uma parte deste sistema não funciona adequadamente, como acontece na DP, todo o sistema é afetado. O resultado final com a diminuição da dopamina no sistema nervoso central é a inibição dos sinais elétricos do córtex motor. Esta parte do cérebro tem tantas conexões com funções motoras sensitivas e de raciocínio, incluindo o tronco cerebral, onde se pensa que muitas alterações presentes na DP, incluindo as várias conexões e sinais, possam levar aos sintomas motores tais como bradicinesia, tremores e rigidez e cognitivos da doença.

Medicamentos e tratamento cirúrgico tentam restaurar a atividade e função dopaminérgica normal do circuito motor para permitir o retorno das habilidades motoras normais.

### **1.5.1 Corpos de Lewy**

Os corpos de Lewy (CL) são formados por um grupo de proteínas que pode ser encontrado dentro do citoplasma de algumas células cerebrais, tipicamente em pacientes com DP. Os CL são arredondados e identificados pela coloração hematoxilina-eosina ou através de imunocitoquímica pela antiubiquitina. Podem se apresentar fora dos neurônios com formas ovais ou alongadas em várias regiões do cérebro, entretanto quando se localizam na via nigroestriatal são patognomônicos da DP. Os CL, embora raramente, podem também ser visualizados em células neurais de pessoas não portadoras de DP, como por exemplo, em idosos com envelhecimento normal.

As proteínas que compõem os CL são a alfa-sinucleína e a ubiquitina-ligase.

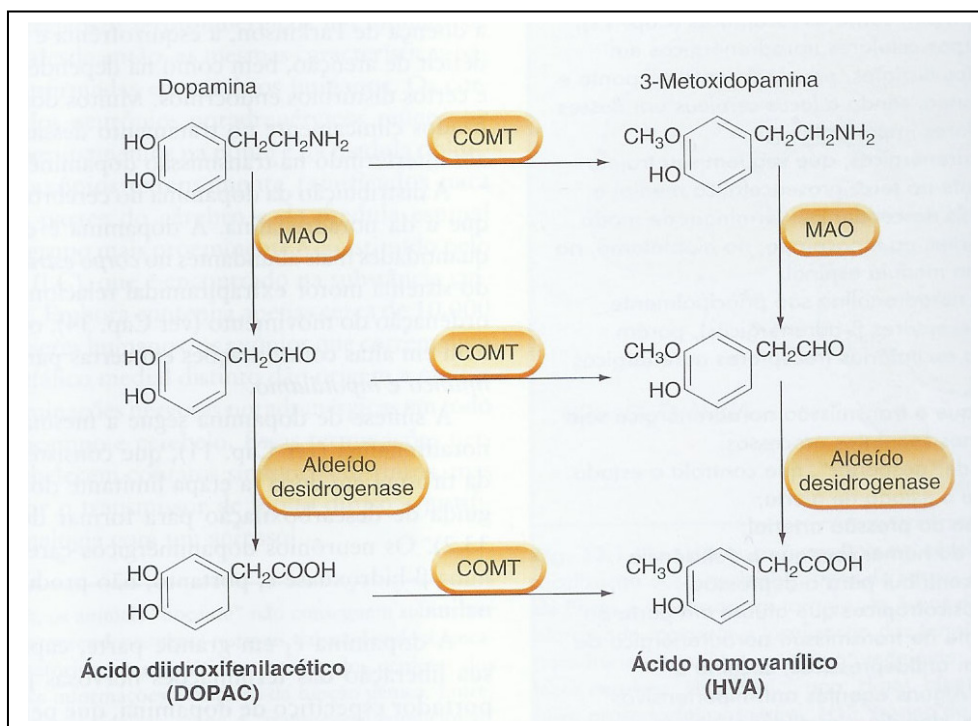
A alfa-sinucleína, em condições fisiológicas, reage com fosfolípidios de membranas, regula a diferenciação celular, participando da morfologia e fisiologia sináptica e da neurotransmissão dopaminérgica.

A ubiquitina-ligase é uma importante enzima que desdobra e decompõe as cadeias polipeptídicas grandes e anormais, com a finalidade de eliminar essas proteínas que não são necessárias para a função cerebral.

Acredita-se que os CL podem ser o resultado da degeneração dos neurônios.

### 1.5.2 Dopamina

Em um adulto normal existe cerca de 400.000 neurônios dopaminérgicos no Sistema Nervoso Central (SNC), os quais liberam dopamina para estimular os receptores do sistema motor. A dopamina é elaborada por uma série de reações bioquímicas e degradada por duas importantes enzimas, a MAO (monoaminoxidase) e a COMT (catecol-o-metiltransferase), levando à formação dos produtos o ácido diidroxifenilacético (DOPAC) e o ácido homovanílico (HVA).

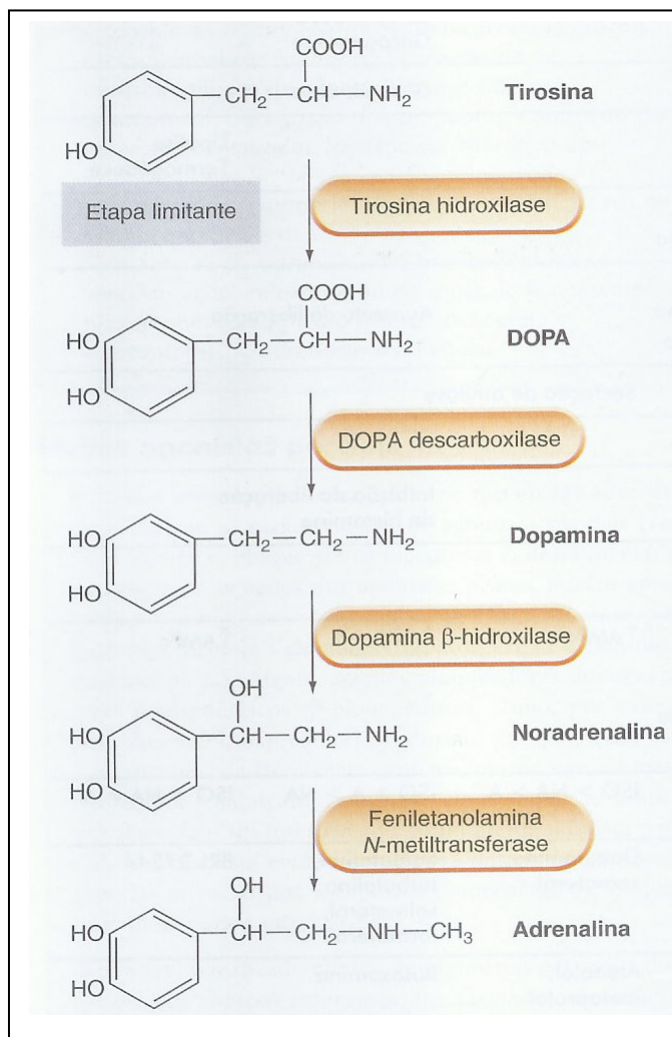


**Figura I.2.** Principais vias do Metabolismo da dopamina no cérebro

Fonte: HANG, 2004

A dopamina é encontrada em quantidades mais abundantes no corpo estriado, relacionado com a coordenação dos movimentos, mas também ocorre em altas concentrações em certas partes do sistema límbico e hipotálamo.

A síntese da dopamina consiste na conversão da tirosina em DOPA, seguida de descarboxilação para formar dopamina.



**Figura I.3.** Biosíntese das catecolaminas

Fonte: HANG, 2004

## 1.6 Tratamento

Os medicamentos usados para tratar a DP são divididos em:

- Medicamentos para substituir, estimular e aumentar a atividade dopaminérgica, com o objetivo de melhorar a função motora (levodopa);
- Medicamentos que mimetizam a ação da dopamina nos receptores D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub> ou D<sub>3</sub> (bromocriptina, pergolida, lisurida, promipexol);
- Medicamentos que inibem a MAO - B (selegilina);
- Medicamentos que inibem a COMT (tolcapone e entacapone);
- Medicamentos que liberam a dopamina (amantadina);
- Medicamentos antagonistas do receptor colinérgico muscarínico (benzatropina).

### 1.6.1 Levodopa

É um aminoácido (3,4 – dihidroxi - fenilalanina) precursor da dopamina, que sob a ação da enzima dopadescarboxilase dá origem a dopamina. A administração da Levodopa aumenta as quantidades de dopamina no cérebro.

Não deve ser usada isoladamente no início da doença, então se usam medicamentos menos potentes.

É uma droga importante, considerada de primeira linha, entretanto no passado foi usada, unicamente, com resultados não muito satisfatórios. Por isso usam-se de modo concomitante inibidores da dopadescarboxilase que agem periféricamente (carbidopa, benserazida).

A levopoda é bem absorvida na parte proximal do intestino delgado. No entanto, alimentos gordurosos e ricos em proteína, ingeridos próximos ao horário da ingestão do medicamento dificultam sua absorção. Uma porção importante da

levodopa é metabolizada em dopamina antes de atingir o cérebro, pela dopadescarboxilase.

Alguns pacientes respondem bem ao tratamento nos primeiros 4 – 5 anos, pois ainda existem neurônios com condições de armazenar a dopamina produzida pela medicação. Com a evolução da doença, diminui a capacidade de armazenamento de dopamina nas células cerebrais devido à degeneração das mesmas e a eficácia do medicamento diminui.

Novas drogas devem então ser utilizadas para aumentar a ação da levodopa.

### **1.6.2 Carbidopa / Levodopa**

É considerado o mais efetivo medicamento para controlar tremor, rigidez e bradicinesia; esta associação reduz a dose necessária em 10 vezes menos, todavia, com o passar do tempo, a eficácia vai gradativamente diminuindo.

É bem absorvido no intestino delgado, embora uma porção importante seja desativada pela MAO da parede intestinal, entretanto, no geral é muito benéfica ao paciente.

Apresenta alguns efeitos colaterais indesejados tais como discinesia (movimentos involuntários de contorção), efeito liga-desliga (piora e melhora os sintomas em poucas horas), náuseas, anorexia, hipotensão e alterações psicológicas, na forma de alucinações.

### **1.6.3 Agonistas da Dopamina**

São substâncias com ações semelhantes à dopamina, entretanto não necessitam de transformações enzimáticas para atuarem. Não são tão potentes



como a dopamina. Agem nos receptores da dopamina que se localizam nas células do estriado. Existem receptores D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub> e outros subtipos.

Os principais agonistas utilizados foram os derivados do ergot (derivados do esporão do centeio). Os principais são: bromocriptina (Parlodel, Bagren), pergolida (Celance), lisurida (Dopergin) e cabergolina.

Recentemente foram lançados agonistas não derivados do ergot tais como o pramipexol (Mirapex, Sifrol) e ropinerol (Requip), que possuem maior eficácia.

#### **1.6.4 Inibidores de MAO – B**

A enzima MAO-B age no cérebro, na transformação da dopamina em seu metabólito, o ácido homovanílico. É responsável pela remoção natural da dopamina e atua diminuindo a velocidade de remoção da dopamina, aumentando o tempo de vida útil e elevando as taxas de dopamina.

Pode ser administrada com a levopoda, aumentando a eficácia temporal da droga, entretanto não deve ser usada a noite, pois ocasiona insônia.

#### **1.6.5 Inibidores da COMT**

Outra enzima de grande importância no metabolismo da dopamina catecol-o-metil-transferase (COMT) é responsável juntamente com a MAO-B pela remoção da dopamina, todavia também age sobre a levodopa, transformando-a em 3-o-metildopa, sem efeito terapêutico, ocasionando perda significativa da levopoda. Medicamentos como o tolcapone (Tasmar) e o entacapone (Comtan) são utilizados para aumentar a eficácia da levodopa. O tolcapone atua tanto fora como dentro do cérebro, o entacapone atua apenas fora do cérebro. Os efeitos colaterais são semelhantes aos da levodopa, podendo surgir hipotensão arterial e diarreia, que quase sempre obriga a retirada do medicamento.

### **1.6.6 Amantadina**

A amantadina foi introduzida como fármaco antiviral, sendo descoberta em 1969, como benéfica para a DP. Atua como antagonista de receptores excitatórios nos gânglios da base. A droga ainda está sendo estudada, sabe-se que é menos eficaz que a levopoda ou bromocriptina e seus efeitos colaterais são semelhantes à levodopa. É tida como dopamina endógena e é usada na busca de novas alternativas.

### **1.6.7 Anticolinérgicos**

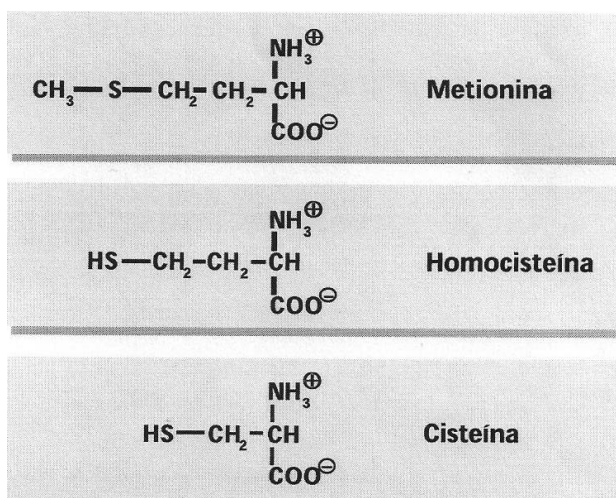
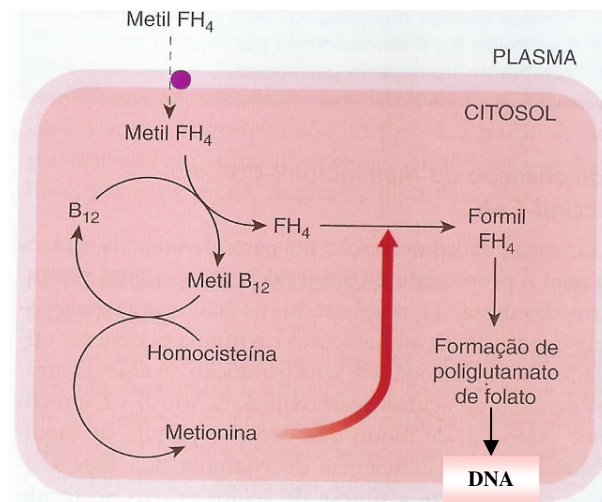
Até a levodopa ser descoberta, a atropina e correlatos foram usados no tratamento da DP. Os receptores muscarínicos da acetilcolina exercem efeitos excitatórios, contrários aos da dopamina, em neurônios do estriado e também desempenham papel inibitório pré-sináptico sobre as terminações dopaminérgicas. A supressão desses efeitos compensa os efeitos da dopamina, restabelecendo o equilíbrio entre acetilcolina e dopamina.

O biperídeno (Akineton, Akineton-R) e trihexifenidil (Artane) são as drogas disponíveis deste grupo de medicamentos.

## **1.7 Homocisteína**

Homocisteína (Hcy) é um aminoácido sulfurado que não é um constituinte dietético e não forma proteína. A Hcy é exclusivamente derivada da desmetilação da metionina, um aminoácido abundante em proteínas de plantas e animais. Há uma semelhança entre a Hcy com a metionina e a cisteína, sendo os três

aminoácidos portadores de enxofre e estão metabolicamente ligados entre si (Figura I.4).



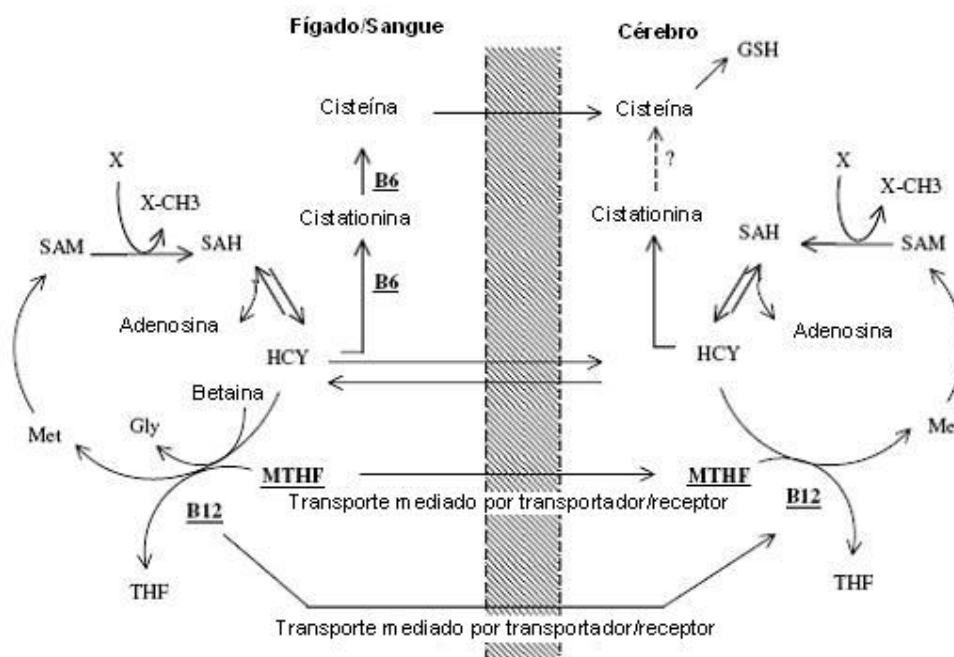
Fonte: HANG, 2004

**Figura I.4.** Aminoácidos sulfurosos e suas estruturas químicas

Fonte: HANG, 2004

### 1.7.1. Metabolismo da Homocisteína

O metabolismo da homocisteína ocorre nos rins e no fígado. A única fonte de Hcy em seres humanos é a desmetilação do aminoácido essencial metionina através de dois compostos intermediários, a S-adenosilmetionina (SAM) e a S-adenosilhomocisteína (SAH) (FINKESLSTEIN e MARTIN, 1986). A SAM é doadora de grupos metila para mais de 100 reações químicas envolvendo metiltransferases, incluindo aquelas do DNA, RNA, proteínas e lipídios (SCOTT et al., 1994). A metilação do DNA tem um papel crítico na expressão e regulação gênicas (FRISO et al., 2002). Com a transferência do grupo metila, a SAM transforma-se em SAH que é depois convertida em Hcy e adenosina pela SAH hidrolase que está amplamente distribuída nos tecidos. A Hcy pode ser metabolizada através de duas rotas alternativas: 1) sendo irreversivelmente degradada através de transulfuração em cistationina e após em cisteína (principal rota) ou 2) remetilada a partir de 5-metiltetrahidrofolato para metionina. Essas reações ocorrem principalmente no fígado e no rim e utilizam os cofatores ácido fólico, vitamina B6 e vitamina B12. No entanto, a remetilação de Hcy é uma fonte importante de grupos metila no cérebro (SCOTT et al., 1994). Neste particular, numerosas reações de metilação ocorrem no cérebro, tais como a síntese e a degradação de neurotransmissores, fosfolipídios de membrana e metilação de DNA (Figura 1.5). Além disso, é conhecido que a enzima cistationina  $\beta$  sintase (CBS) tem sido detectada no cérebro humano (ICHINOHE et al., 2005).



**Figura I.5.** Metabolismo da Homocisteína. SAM, S-Adenosil Metionina; SAH, S-Adenosilhomocisteína; HCY, Homocisteína; Met, Metionina; Gly, Glicina, THF, Tetrahidrofolato, MTHF, 5 Metiltetrahidrofolato; GSH, Glutatião Reduzido.

Fonte: PANIZ et al. 2005.

As concentrações intracelulares de Hcy estão sob controle efetivo, que atuam principalmente nas enzimas de remetilação e transulfuração. Quando a Hcy penetra na corrente sangüinea, devido à alta reatividade do seu grupo tiólico, é rapidamente oxidada ou se une a outra molécula de Hcy, formando homocistina ou então a grupos tiólicos de outras moléculas, tais como a cisteína, gama-glutamilcisteína, glutatião ou proteínas, formando pontes dissulfetos. Em condições normais, apenas 1 a 2 % da Hcy se encontra no plasma como tal, sendo que a maior parte (98 %) está sob forma oxidada (ANDERSSON et al., 1995). O fígado e o rim são os órgãos que mais degradam e excretam Hcy.

No que se refere às concentrações de Hcy no plasma e no LCR, as concentrações plasmáticas desse aminoácido são cerca de 20 a 100 vezes maiores do que as do líquido céfalo raquidiano (LCR). Estudos em animais de experimentação indicam que a Hcy é transportada para o cérebro por um receptor

específico saturável e também por difusão simples (GRIEVE et al., 1992; GRIFFITHS et al., 1992). Esse transportador pode importar Hcy do plasma para o cérebro e vice-versa, sendo considerado um transportador bidirecional (GRIEVE et al., 1992). Além disso, foi demonstrado em cultura de neurônios que a Hcy pode ser produzida dentro do cérebro e que esse aminoácido pode alterar a integridade da barreira hemato-encefálica (HO et al., 2002).

O metabolismo da Hcy envolve vários cofatores, tais como folatos, vitaminas B2, B6 e B12, que são usados na remetilação. A vitamina B6 é usada na via transulfuração. Carência de folato, ou vitaminas B6 e B12, causam alterações no metabolismo da homocisteína, acarretando hiperhomocisteinemia. FIG. 1.5 .

Mutações genéticas que envolvam as enzimas metilenetetrahydrofolato redutase (MTHFR), a metionina sintase (MS) e a cistationina- $\beta$ -sintase (CBS) também produzem hiperhomocisteinemia. Mutações que atinjam dois alelos idênticos podem desencadear alterações, resultando uma severa hiperhomocisteinemia e levando a uma doença rara chamada homocistinúria.

A Hcy é sintetizada através da S-adenosilmetionina (SAM) e S-adenosilhomosisteína (SAH). O grupo metila é transferido para a homocisteína formando a metionina, este processo é realizado pelas enzimas metionina sintase (MS) e homocisteína-betaína metiltransferase (BHMT) dependentes de vitamina B12.

A homocisteína é também convertida à cisteína através da via de transulfuração, iniciada pela vitamina B6 dependente-cistationina  $\beta$  sintase (CBS). O ciclo de folato forma 5-metiltetrahydrofolato (CH<sub>3</sub>, THF) para a remetilação da Hcy para metionina.

### **1.7.2 Hiperhomocisteinemia**

A hiperhomocisteinemia corresponde a uma situação com aumento das concentrações circulantes de Hcy total em jejum, devendo-se principalmente a

defeitos da remetilação da Hcy. Níveis elevados de Hcy geralmente resultam de um distúrbio no metabolismo intracelular deste aminoácido, que é dependente da atividade das enzimas intimamente envolvidas com o seu metabolismo, bem como de seus cofatores ácido fólico, vitamina B12 e vitamina B6.

A hiperhomocisteinemia se deve a fatores adquiridos e/ou genéticos (FOWLER et al., 1987). Na primeira categoria a hiperhomocisteinemia é leve a moderada, devendo-se a fatores nutricionais como concentrações baixas de algumas vitaminas do complexo B, que participam no metabolismo da Hcy, como cofatores ou substratos, sendo considerados estes como as mais comuns causas de hiperhomocisteinemia moderada (HAYNES, 2002). Neste particular, as concentrações plasmáticas de Hcy estão inversamente correlacionadas com as concentrações plasmáticas de vitamina B12, vitamina B6 e principalmente de folato, que dependem fundamentalmente da ingestão adequada dessas vitaminas (GRAHAM e O'CALLAGHAN, 2002). Por outro lado, as concentrações plasmáticas de Hcy em jejum, se regularizam nesses casos pela restrição dietética de Hcy e pela suplementação de ácido fólico e de vitamina B12, mas não de vitamina B6 (Homocysteine Lowering Trialists Collaboration, 1998). A insuficiência renal também provoca hiperhomocisteinemia devido a menor filtração glomerular (WOLLESEN et al., 1999). O sexo também influencia os níveis plasmáticos de Hcy, sendo maiores nos indivíduos do sexo masculino e parecendo estar relacionado com a atividade da remetilação e transmetilação da Hcy (BOSTON e CULLETON, 1999). Neste particular, verificou-se um aumento dos níveis plasmáticos de Hcy após a menopausa e uma diminuição desses níveis após suplementação de estrógenos a transexuais, refletindo a influência de hormônios estrogênicos (GILTRAY et al., 1998). Além disso, acredita-se que os níveis circulantes diferenciais de Hcy, em ambos os sexos, poderiam se dever a massa muscular maior nos homens. A idade é outro fator que influencia os níveis plasmáticos de Hcy, sendo que esses níveis praticamente dobram da adolescência a velhice. Neste particular, não se pode ignorar a diminuição da função renal e da ingestão de vitaminas como causa dos níveis elevados de Hcy no idoso. Há outros fatores que alteram a concentração plasmática de Hcy que diminui durante a gestação e aumenta em tabagistas, sedentários, bem como no

alcoolismo e com o uso de anticonvulsivantes. Outro achado interessante é que consumidores moderados de álcool possuem níveis mais baixos de Hcy (LIEVERS et al., 2003<sup>a</sup>).

Já a hiperhomocisteinemia severa ocorre em doenças genéticas ou então pelo tratamento com metotrexate, que provoca uma queda nos níveis de folato. Nestes casos, o quadro clínico característico é de sintomas neurológicos agudos como convulsões e psicose. As doenças genéticas mais comuns que causam esta forma de hiperhomocisteinemia são as deficiências da cistationina  $\beta$  sintase (CBS), conhecida como homocistinúria, de 5,10-metilenotetrahidrofolato redutase (MTHFR) (SIBANI et al., 2000), deficiência funcional de metionina sintase (MS), metionina sintase redutase (MSR), bem como defeitos do metabolismo intracelular de cianocobalamina (Cbl) indiretamente afetando a atividade da MS. Os achados clínicos característicos de pacientes afetados por estes distúrbios incluem problemas vasculares e neurológicos.

### **1.7.3 Homocisteína e doenças Neurológicas**

O efeito do metabolismo alterado da Hcy sobre o sistema nervoso central e periférico é uma área de pesquisa nova que está se expandindo e que necessita ser mais bem explorada. Assim, pouco se tem investigado sobre o papel da Hcy e da hiperhomocisteinemia sobre doenças neurodegenerativas, embora haja alguns relatos na literatura demonstrando que a hiperhomocisteinemia leve a moderada está relacionada de alguma forma, não esclarecida, com algumas doenças neurodegenerativas. De particular interesse é a evidência recente de que pacientes confirmados histologicamente com doença de Alzheimer possuem níveis plasmáticos significativamente maiores de Hcy do que grupos controles. Foi verificado também que níveis elevados de Hcy ocorrem no sangue de pacientes com doença de Parkinson, demência vascular e nos distúrbios cognitivos da idade, bem como em algumas doenças psiquiáticas do tipo esquizofrenia e depressão (SELHUB et al., 2000; SESHADRI et al., 2002; ISOBE et al., 2005). A



hiperhomocisteinemia foi particularmente demonstrada em pacientes com doença de Parkinson tratados com levodopa e em pacientes epiléticos tratados com drogas anticonvulsivantes (LAMBERTI et al., 2005). Por outro lado, estudos epidemiológicos e longitudinais sugerem uma relação causal entre Hcy e déficit cognitivo, não somente devido ao dano endotelial e cerebrovascular, mas também a mecanismos neurotóxicos próprios da Hcy (NURK et al., 2005; SACHDEV, 2005). Outros trabalhos demonstraram uma redução dos níveis plasmáticos de ácido fólico e vitamina B12 e/ou B6 na demência do idoso, mas não evidenciaram se a deficiência dessas vitaminas ou a hiperhomocisteinemia secundária estaria relacionada com o déficit cognitivo nesses indivíduos (GOODWIN et al., 1983). De fato, embora se saiba que deficiências de ácido fólico e vitamina B12 podem causar alterações neurológicas, pouco se sabe sobre as associações dessas deficiências com o acúmulo de Hcy sobre o dano cerebral. Alguns estudos sugerem que a Hcy está envolvida com dano cerebral e com o declínio cognitivo e da memória, porém não foi esclarecido se os aumentos desse aminoácido ou se as deficiências nos cofatores que levam a esse acúmulo, são os mecanismos fisiopatológicos desses quadros clínicos.

Relativamente aos mecanismos neurotóxicos da Hcy, acredita-se que ela possa causar distúrbios na metilação e/ou alteração no potencial redox celular, resultando em influxo de cálcio, apoptose e morte neuronal. Além disso, a Hcy é um agonista de receptores ionotrópicos e metabotrópicos, além de causar estresse oxidativo (HO et al., 2003) e déficit do metabolismo energético em tecido cerebral (STRECK et al., 2002, 2003). Também foi verificado que alguns efeitos neurotóxicos da Hcy podem ser prevenidos, ao menos parcialmente, pelo uso de suplementação de folato, enfatizando o papel neurotóxico da deficiência de ácido fólico ou pela restauração dos níveis normais de Hcy através da suplementação com esse cofator. Antagonistas de receptores glutamatérgicos ou antioxidantes também reduziram os efeitos neurotóxicos da Hcy, refletindo a importância do sistema glutamatérgico e da geração de espécies reativas nesta ação. Por outro lado, não se pode também descartar que os metabólitos da Hcy (ácido homocisteico, etc.) também atuem como agentes neurotóxicos, visto que eles também podem estar em concentrações elevadas em situações com

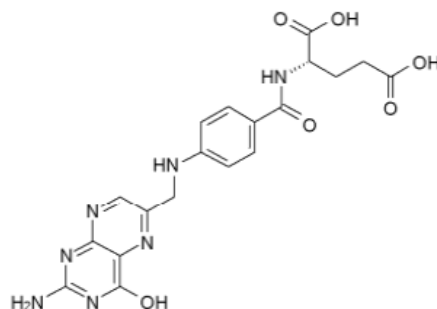
hyperhomocisteinemia. Assim, foi demonstrado que a Hcy e alguns de seus metabólitos parecem atuar sobre a função neuronal ativando receptores glutamatérgicos ionotrópicos e metabotrópicos (LIPTON et al., 1997; SHI et al., 2003; ZIEMINSKA et al., 2003; SELLEY, 2003). No entanto, enfatize-se que não está ainda estabelecido se os metabólitos da Hcy causam disfunção neuronal em menor ou maior grau que a própria Hcy e também em que concentrações isso ocorre (fisiológicas ou suprafisiológicas). No entanto, devemos considerar que as maiorias dos estudos sobre os mecanismos neurotóxicos da Hcy foram feitos em neurônios cultivados e com concentrações suprafisiológicas de Hcy, assim como em animais de experimentação e não em seres humanos. Desta forma, as diferenças metabólicas e genéticas entre roedores e seres humanos podem limitar a extrapolação dos dados obtidos em roedores para a espécie humana, o que salienta o valor da presente investigação em seres humanos.

Tendo em vista que alguns trabalhos da literatura mostraram que a Hcy induz a produção de radicais livres, produzindo dano oxidativo em cérebro (STARKEBAUM e HARLAM, 1986; STRECK et al., 2003) e já que o estresse oxidativo tem sido encontrado em tecidos de pacientes com doenças neurodegenerativas e mais especificamente com a doença de Parkinson, o presente trabalho visou determinar os níveis plasmáticos não somente de Hcy, mas também de vitamina B12 e ácido fólico, e determinar fatores envolvidos com alterações destes níveis, como o fumo, álcool, hipertensão arterial sistêmica, diabetes mérito e outros nesta doença. Enfatize-se que as associações verificadas até agora entre os níveis de Hcy no plasma de pacientes afetados pela doença de Parkinson não estabeleceram se a Hcy é fator causador da disfunção neurológica ou apenas um marcador dessa doença decorrente de alterações de outros fatores.

## **1.8 Ácido Fólico**

O ácido fólico foi inicialmente estudado, na década de 1930, por Wills e colegas, sendo chamado de fator de Wills, o qual foi retirado de extratos crus de

fígado. Em 1943, o ácido fólico (pteroilglutâmico) foi purificado por Stokstad. Foi cristalizado por Pfiffner e colegas também em 1943. Em 1945, Angier e colegas sintetizaram e determinaram a sua estrutura (Figura I.6).



**Estrutura do ácido fólico (ácido pteroil glutâmico)**

**Figura I.6.** Estrutura química do ácido fólico

*Fonte: Gregory, 1998*

O ácido fólico, folacina ou ácido pteroilglutâmico é um derivado da vitamina B, também conhecido por vitamina B<sub>9</sub>, hidrossolúvel, eficiente no combate à anemia e às doenças cardiovasculares. A carência de ácido fólico acarreta diminuição do crescimento, anemia megaloblástica e outros distúrbios sangüíneos, glossites e distúrbios no trato gastrointestinal. O ácido fólico está envolvido em um grande número de processos bioquímicos essenciais para a vida, tem importante papel na metilação do DNA e na síntese de purinas e pirimidinas. Tem ação importante na conversão de homocisteína em metionina, tendo a vitamina B12 como cofator, na conversão da serina em glicina, na síntese do timidilato e no metabolismo da histidina.

Vários agentes quimioterápicos inibem a enzima dihidrofolato redutase, tais como: metotrexato, trimetoprim e pirimetamina. Os compostos mais conhecidos que interferem com a absorção, utilização e armazenagem dos folatos são os contraceptivos orais, o álcool, a colestiramina (anticolesterolêmico), os antiepilépticos (barbituratos e difenil-hidantoína) e a sulfasalazina (sulfonamida usada no tratamento da colite ulcerativa). Medicamentos que reduzem a acidez intestinal, tais como antiácidos e antiulcerosos, interferem na ação do ácido fólico.

Vitaminas do grupo B e vitamina C contribuem para uma boa função do ácido fólico.

O ácido fólico pode diminuir o risco de mal-formações congênitas. Tem grande importância na diminuição das ocorrências de defeitos no fechamento do tubo neural (DTN). Além disso, o uso terapêutico do ácido fólico reduz as concentrações de homocisteína.

O ácido fólico também age na prevenção e na melhora da colite ulcerativa e também tem sido usado no tratamento do vitiligo e na diminuição dos processos inflamatórios bucais e gengivais.

Causas genéticas ou deficiência desta vitamina têm sido relacionadas ao câncer (BALUZ et al., 2002).

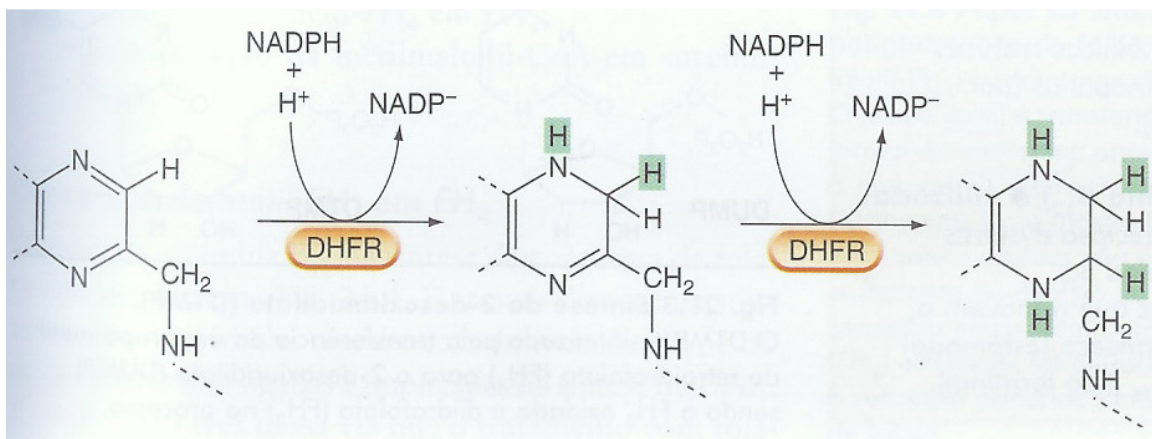
Os folatos orais são geralmente disponíveis em duas formas: ácido fólico e ácido folínico. A administração do ácido folínico proporciona que sejam ultrapassadas as etapas de desdobramentos e redução, requeridas para o ácido fólico, sendo, portanto mais metabolicamente ativo, capaz de aumentar a eficácia em relação ao ácido fólico, diminuindo o tempo intermediário gasto na redução dos folatos.

O etilismo agudo ou crônico, o suplemento dietético inadequado e o estresse provocado por várias doenças neoplásicas causam deficiência de folato.

As fontes do ácido fólico são: espinafre, vegetais de folhas verdes, fígado, levedo de cerveja, feijões, fermento, sementes de trigo, beterraba, leite e derivados, pão integral, suco de laranja, cenoura, gema de ovo, aveia e algumas frutas. O folato dos alimentos é altamente sensível a agentes físico-químicos como: oxidação, calor e luz ultravioleta. O cozimento prolongado pode destruir 90% do folato destes alimentos. A absorção destes alimentos ocorre pela ação de uma carboxipeptidase das membranas das células mucosas. A forma reduzida absorvida é metilada pela dihidrofolato redutase, presente em abundância na porção proximal do intestino delgado (duodeno e jejuno proximal). Doenças que acometem o jejuno podem acarretar deficiência de folato (espru não-tropical e tropical).

O ácido fólico é a forma mais estável de folato, mas não é encontrada naturalmente em tecidos vivos; precisa ser reduzido *in vivo*, o que resulta em di-

hidrofolato e tetra-hidrofolato pela adição de átomos de hidrogênio no anel pirazina da pteridina, nas posições 7, 8 e 5, 6, 7 e 8 respectivamente (Figura I.7).



**Figura I.7.** Redução do folato (F) a dihidrofolato (FH<sub>2</sub>) e, em seguida, a tetra-hidrofolato (FH<sub>4</sub>), pela enzima dihidrofolato-redutase (DHFR)

Fonte: HANG, 2004

**A tabela I.1** Doses diárias recomendadas de folato na alimentação.

|            |                  |
|------------|------------------|
| • Homens   | 200µg/dia        |
| • Mulheres | 180 µg/dia       |
| • Gravidez | 400 µg/dia       |
| • Lactação | 600 µg/dia (OMS) |
| • Bebês    | 20-40 µg/dia     |
| • Crianças | 50-150 µg/dia    |

### 1.8.1. Metabolismo do Ácido Fólico

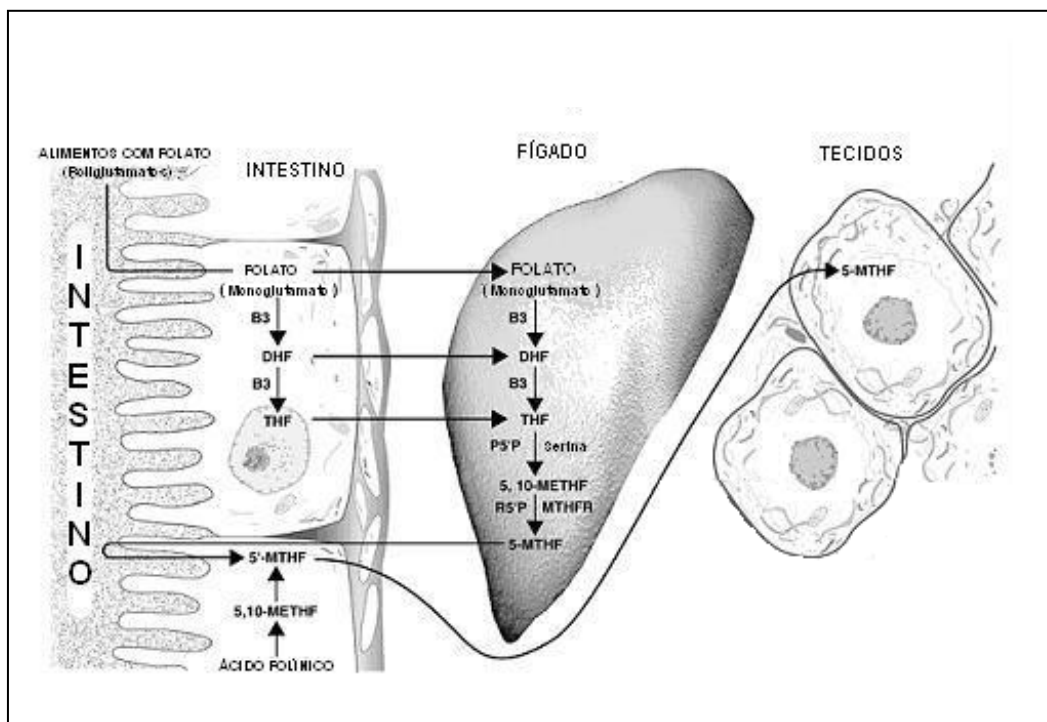
O ácido fólico age como coenzima de processos de oxidação, redução e transferência de radicais metila. Estes processos estão relacionados com a

ingestão de folato, vitaminas B6 e B12 e a ação da enzima MTHFR (Metilendetrahidrofolato redutase).

O folato participa efetivamente de reações de metilação, envolvidas nas etapas de síntese de purinas e pirimidinas, no metabolismo de aminoácidos e na liberação do radical metila, onde a SAM (s-adenosilmetionina) participa em mais de uma centena de reações de transferência da metila, doando ou recebendo o radical. Na falta do folato as reações de metilação ficam comprometidas.

No plasma, o folato endógeno liga-se a proteínas de baixa afinidade, tais como a albumina, que é responsável por mais de 50% do folato ligado. Nos tecidos, o folato liga-se a receptores de folato reduzidos e seus análogos inativos.

O ácido fólico é geralmente bem absorvido pelo homem, entretanto o processo de conversão para uma coenzima metabolicamente ativa é complexo. O ácido fólico é inicialmente desdobrado nas células da parede intestinal em monoglutamato (figura I.8).



**Figura I.8.** Absorção e ativação do folato no intestino

Fonte: GREGORY, 1998

No fígado, este composto é reduzido a dihidrofolato (DHF,  $FH_2$ ) e tetraidrofolato (THF,  $FH_4$ ) através da ação da dihidrofolatorredutase. Há necessidade de NADPH (nicotinamida adenina nucleotídeo fosfato) como cofator. O próximo passo requer o aminoácido serina, para combinar com o fosfato de piridoxol (vitamina B6) e transmitir o grupo hidroximetil ao tetrafolato ( $FH_4$ ). O resultado é a formação do composto 5-10 metilenetetraidrofolato e glicina.

O 5-10 metilenetetraidrofolato têm grande importância neste processo, proporcionando que o precursor metabolicamente ativo, 5 metilenetetraidrofolato, seja utilizado, na remetilação da homocisteína.

O folato sob as formas ativas e inativas é excretado em média de 100  $\mu$ g/dia na urina e bile dos humanos.

A primeira metilação  $FH_4$  (THF) necessita da serina, que se converte em glicina, de grande importância nas etapas de síntese do DNA. Nesta reação com a ação da enzima MTHFR (metilenetetraidrofolatorredutase) ocorre a síntese do composto 5-10 metilenetetraidrofolato, do qual será doado o grupamento metila (5 – metila THF) para a homocisteína, sob ação catalizadora da enzima metilasintase (MS) formando a metionina. Esta etapa é chamada de remetilação, um ciclo de regeneração metionina – homocisteína – metionina.

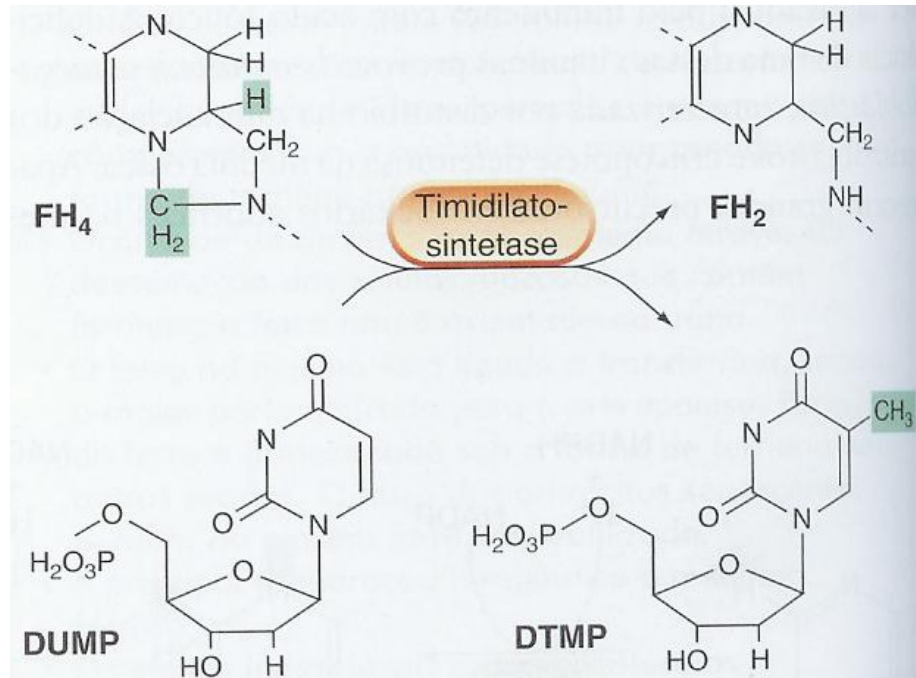
Na carência de folato, ocorre o aumento das taxas de homocisteína (hiperhomocisteinemia) e o mecanismo de regulação se faz através da transulfuração. Nesta via, a homocisteína é convertida em cistationina, na seqüência ocorre a transformação em  $\alpha$ -cetogluturato e cisteína, isto ocorre devido a ação da cistationina  $\beta$  sintetase (CBS) e vitamina B6.

A cisteína participa de várias vias metabólicas, podendo dar origem à taurina, ao sulfato inorgânico ou ser eliminada pela urina.

O SAM (s-adenosilmetionina) age tanto na remetilação como na transulfuração, inibindo a MTHFR (remetilação) ou ativando a CBS (transulfuração), dependendo da quantidade da metionina ou folato ingerida. A SAM tem grande importância na síntese do DNA, sendo o folato o cofator, doando metila para a metilação do DNA.

Durante o processo de doação do grupo metila (metila  $FH_4$ ) a homocisteína, gerando a metionina, ocorre a utilização do  $FH_4$  em outra etapa reativa, formando

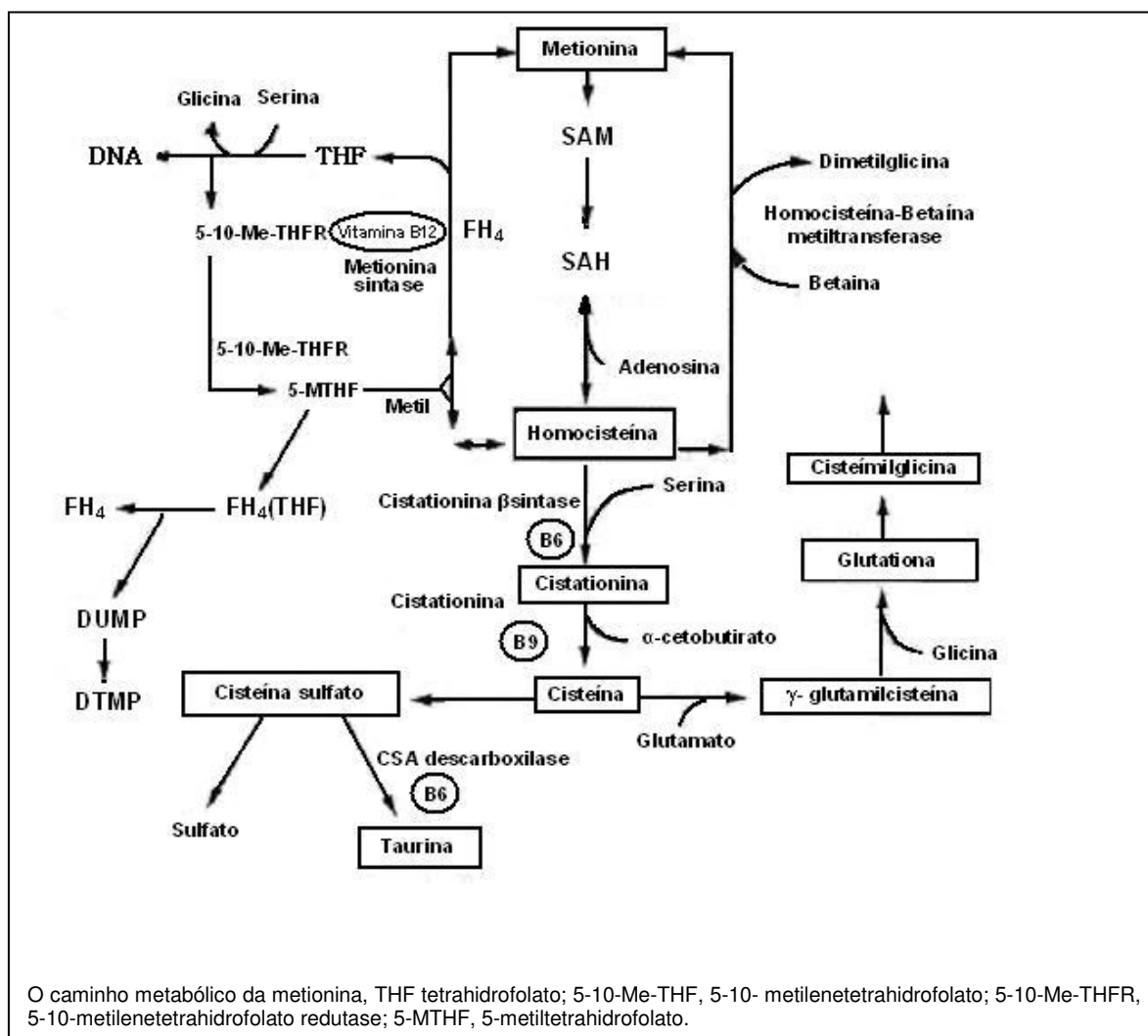
o timidilato, que converte o DUMP (deoxiuridinamono-fosfato) em DTMP (timidinamono-fosfato) e em purinas (Figura I.9).



**Figura I.9.** Transferência do grupo metila com a participação do folato

*Fonte:* HANG, 2004





**Figura I.10.** Metabolismo da metionina com a participação do ácido fólico

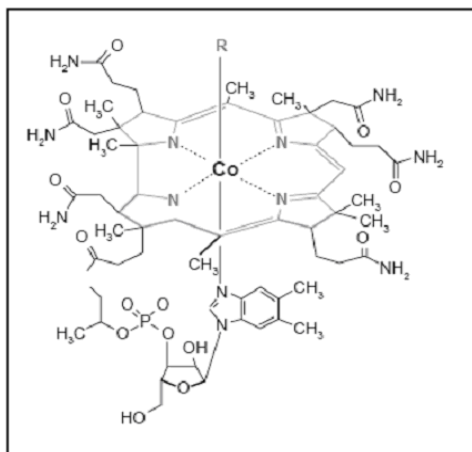
Fonte: MOHAMED, 1999.

### 1.8.2 Ácido Fólico e Neurodegeneração

Há poucos estudos sobre a influência da deficiência de ácido fólico nos processos neurodegenerativos. Neste contexto, acredita-se que a deficiência dessa vitamina é um fator determinante da atrofia cortical na doença de Alzheimer (SNOWDOWN et al., 2000; HEIJER et al., 2003).

## 1.9 Vitamina B12

A vitamina B12 é uma substância complexa, que faz parte de uma família de compostos denominados genericamente de cobalaminas (figura I.11).



**Figura I.11.** Estrutura da vitamina B12

*Fonte:* PANIZ, 2005.

É uma vitamina hidrossolúvel, sintetizada exclusivamente por microorganismos (GILLHAM, 1997) e encontrada em alimentos de origem animal, tais como a carne (fígado), peixes, ovos e laticínios. A vitamina B12 utilizada como medicamento é a hidroxicobalamina.

Todas as cobalaminas, tanto dietéticas quanto terapêuticas, devem ser convertidas em metilcobalaminas (metila - B12) ou 5' - desoxiadenosilcobalamina (ado - B12) para a sua ativação e ação no organismo.

A vitamina B12 liga-se ao fator intrínseco (FI), proteína produzida pelo estômago, formando um complexo resistente a enzimas proteolíticas intestinais e ligando-se após, aos receptores das células epiteliais do íleo terminal, sendo finalmente ligada a um transportador plasmático (transcobalamina) e lançada finalmente na circulação sanguínea. A vitamina B12 absorvida no íleo é distribuída pelo corpo e o FI é eliminado pelo intestino. A vitamina B12 é

armazenada principalmente no fígado, sendo 4 mg a quantidade total de vitamina B12 no corpo.

A vitamina B12 no organismo age como cofator humano para a realização de duas reações bioquímicas principais:

- Conversão do metil – FH4 em FH4
- Isomerização do metilmalonil – CoA em succinil-CoA

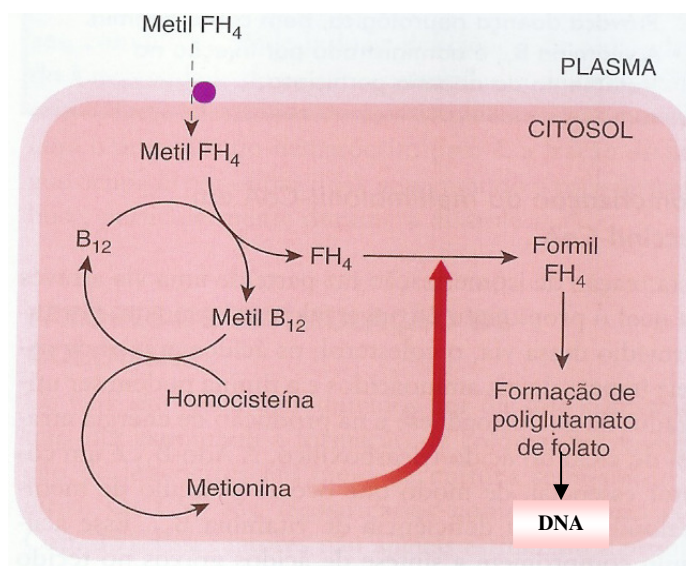
A maioria das reações em que a vitamina B 12 participa envolve a redistribuição de hidrogênios e carbonos. Qualquer processo que altere a absorção da vitamina B12 acarreta deficiência da mesma, o que é muito freqüente em idosos, vegetarianos e em indivíduos que adotam baixa dieta protéica. Na deficiência genética do FI, a absorção da vitamina B12 é comprometida, também levando as baixas concentrações da mesma.

Doenças gástricas, que reduzem as secreções gástricas importantes na absorção também ocasionam a diminuição da vitamina B12. A deficiência de vitamina B12 pode levar as alterações hematológicas (anemia perniciosa), neurológicas, psiquiátricas e gastrintestinais. As causas desta deficiência incluem: doença de Crohn e Whipple, gastrectomia parcial, espru, esclerodermia, alcoolismo, hipertireoidismo, anemia hemolítica, alimentação exclusivamente vegetariana, linfoma, exposição a óxido nítrico e HIV (VASCONCELLOS et al., 2002).

### **1.9.1 Metabolismo da vitamina B12**

A vitamina B12 age como cofator essencial para duas enzimas: metionina sintase e L-metilmalonil-CoA mutase, ambas direta ou indiretamente envolvidas no metabolismo da homocisteína (PANIZ, ET AL., 2005).

A importância da vitamina B12 na formação do folato está especificada abaixo (figura I.12).



**Figura I.12.** Participação da Vitamina B12 no Metabolismo do Folato

Fonte: HANG, 2004

A vitamina B12 e o ácido fólico participam da síntese do DNA. O processo inicial consiste na transformação da metila-FH<sub>4</sub> em FH<sub>4</sub> e metila-B<sub>12</sub>, convertendo a homocisteína em metionina. A enzima envolvida na reação é a homocisteína-metionina-metiltransferase, sendo necessária a presença de vitamina B12 como cofator e de metila-FH<sub>4</sub>, sendo o grupo metila transferido para a homocisteína, formando a metionina. O FH<sub>4</sub> forma o formil-FH<sub>4</sub> que finalmente origina o poliglutamato.

Outra reação com a utilização da vitamina B12 é a isomerização da metilmalonil-CoA em succinil-CoA. Este processo transforma o propionato em succinato. Os ácidos graxos de cadeia ímpar de carbonos, o colesterol, alguns aminoácidos e a timina originam a metilmalonil-CoA que após ser convertida em succinil-CoA é oxidada no ciclo de Krebs. Na deficiência de vitamina B12, ocorre acúmulo de metilmalonil-CoA, com a conseqüente formação do ácido metilmalônico (MMA), levando a neurodegeneração (Figura I.13).



a serina formando cistationina, sendo esta reação catalisada pela cistationina  $\beta$  – sintase.

A cistationina é hidrolisada e forma cisteína e  $\alpha$  cetobutirato. Estas etapas são dependentes da vitamina B6. A metionina e a SAM ativam a enzima cistationina  $\beta$  – sintase, para eliminar o excesso de homocisteína e metionina. Na rota metabólica da transulfuração ocorre a participação da enzima L-metilmalonil-CoA mutase a qual age catalisando a transformação da metilmalonil coenzima A, para succinil coenzima A, tendo adenosilcobalamina como cofator (HERRMANN et al, 2000).

### **1.9.2 Deficiência de Vitamina B12 e Neurodegeneração**

A deficiência da vitamina B12 afeta os tecidos com rápida renovação celular, tais como a medula óssea. Assim, alterações na diferenciação dos eritroblastos e eritropoiese defeituosa na medula óssea são decorrentes de deficiência de vitamina B12. A vitamina B12 também é essencial para síntese do DNA. Com deficiência desta vitamina, ocorre diminuição na síntese do DNA e conseqüentemente alterações na proliferação celular. A anemia megaloblástica é caracterizada por distúrbio na diferenciação dos eritrócitos e na eritropoiese alterada, na medula óssea, com maturação anormal.

As alterações neurológicas que a deficiência de vitamina B12 causa são decorrentes de danos crônicos e progressivos dos sistemas nervosos central e periférico, manifestando-se com polineurites, ataxias, reflexo de Babinski, distúrbios esfínterianos e diminuição da acuidade visual, devido a atrofia óptica.

A carência de vitamina B12, também se manifesta por alterações neuropsiquiátricas, sendo a mais comum à degeneração combinada subaguda da medula espinhal. No sistema nervoso central, a ação patológica mais acentuada é na mielina, causando degeneração esponjosa e desmielinização difusa das colunas lateral e posterior da medula, as mais típicas alterações patológicas. Nos hemisférios cerebrais as alterações são semelhantes (SILVA, et al., 2000).

Na deficiência da vitamina B12, encontramos comumente alterações de memória, disfunções cognitivas, demência e alterações depressivas.

A deficiência de vitamina B12, em gestantes, aumenta o risco de má formação fetal, ocasionado defeito no tubo neural, constituindo-se numa das mais comuns alterações congênitas (KIRKE, et al., 1993).

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Geral**

Determinar os níveis plasmáticos de homocisteína e os fatores determinantes dos mesmos em pacientes com doença de Parkinson.

### **2.2 Específicos**

- 1) Estudar se os níveis plasmáticos de homocisteína (Hcy), vitamina B12 e ácido fólico estão alterados em pacientes afetados pela doença de Parkinson (DP) quando comparados aos de controles normais com idade semelhante;
- 2) Investigar se níveis plasmáticos de Hcy se correlaciona com os níveis séricos de vitamina B12, ácido fólico, uréia, creatinina e ácido úrico, bem como com a idade dos pacientes com DP;
- 3) Investigar se níveis plasmáticos de Hcy estão associados ao uso de L-DOPA e à duração da doença;
- 4) Investigar se níveis plasmáticos de Hcy se correlacionam com o uso de bebidas alcoólicas, tabagismo, raça, diabete mérito, cardiopatia isquêmica ou hipertensão arterial sistêmica.



### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Material

Nossa amostra consistiu de 69 pacientes com doença de Parkinson (DP) e 52 indivíduos controles com idade semelhante. O diagnóstico de DP foi estabelecido por um neurologista dos Serviços de Neurologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre ou do Hospital São Lucas de Porto Alegre e foi baseado na presença de pelo menos dois sinais cardinais e resposta ao tratamento com L-DOPA (Unified parkinson's disease Rating Scale (UDPRS) motor scale (FAHN et al., 1987; HOEHN e YAHR, 1967; GELB et al., 1999). Os critérios de exclusão foram por algumas condições que poderiam afetar os níveis de Hcy, tais como depressão ou demência, história de toxicidade por drogas, com alucinações, delírio ou confusão mental, história de AVC e outra doença neurológica do que a DP, ou outras doenças sérias concomitantes, tais como insuficiência renal ou deficiências de vitaminas B6, B12 ou ácido fólico, doença vascular, psiquiátrica, câncer, desnutrição, uso de anticonvulsivantes ou de antifolatos, e quando todas as causas de parkinsonismo secundário (demência, uso de neurolépticos, etc) tinham sido excluídas. A maioria dos pacientes utilizava L-DOPA. Os grupos controles normais foram parentes ou amigos dos pacientes com idade semelhante aos mesmos, sem história de doença neurológica ou de outras condições que poderiam alterar os níveis plasmáticos de Hcy. Durante as visitas aos Serviços de Neurologia acima mencionados, foram preenchidos questionários (Anexo I), bem como assinados Termos e Consentimento Livre e Esclarecido para todos os indivíduos que concordaram com esta investigação (Anexo II) e a investigação somente foi realizada com os indivíduos (DP e controles) que assinaram os termos).

## 3.2 Métodos

### 3.2.1 Determinação dos níveis plasmáticos de Homocisteína (Hcy)

Amostras de sangue venoso periférico foram colhidas após 12 horas de jejum. Para a medida da Hcy plasmática, as amostras de sangue foram coletadas em tubos, contendo EDTA e colocadas em um refrigerador a 4°C em tempo inferior a 15 min após a coleta. As amostras de plasma foram separadas em menos de 2 horas da coleta e armazenadas a -70°C por menos de 2 meses até a análise ser realizada.

A determinação quantitativa de homocisteína (Hcy) foi feita inicialmente pelo equipamento IMMULITE 2000 (APC Medlab.). O método trata-se de um imunoenensaio competitivo (número de catálogo L2KHO2 (200 testes), código do teste: HCY). As amostras de plasma ou soro são inicialmente pré-incubadas por 30 min com S-adenosilL-homocisteína (SAH) hidrolase e ditioneitol (DTT), sendo posteriormente transferidas para um tubo contendo SAH-ligada a partículas na fase sólida (beads) e um anticorpo específico para SAH marcado com fosfatase alcalina. Após 30 min de incubação, a SAH da amostra de plasma ou soro compete com a SAH imobilizada pela ligação com o anticorpo. O conjugado de enzima não ligado é removido por lavagem com centrifugação. O substrato é adicionado e a quantidade de Hcy é determinada pela emissão de luminescência.

Os níveis séricos de Hcy foram também medidos através de espectrometria de massa em Tandem de acordo com Magera e colaboradores (1999). O primeiro passo foi quantificar 40 amostras de plasma (20 de indivíduos normais e 20 de pacientes com doença de Parkinson) pelos dois métodos. Verificamos que as dosagens feitas pelos dois métodos eram essencialmente as mesmas. Após isto, utilizamos apenas a espectrometria em massa Tandem para quantificar as outras amostras de plasma. Brevemente, 100 µl das amostras de plasma foram misturadas com 20 µl da solução do padrão interno (2 nmol de

homocistina). A redução dos disulfetos foi feita pela adição de 20  $\mu$ l de 500 mmol/L de dieritritol com reação a temperatura ambiente de 15 min. Após, as proteínas da amostra foram precipitadas com 200  $\mu$ l de 1 mL/L de ácido fórmico e 0,5 mL/L de ácido trifluoracético em acetonitrilo. A amostra foi centrifugada e o sobrenadante utilizado para a medida de Hcy em um espectrômetro de massa em Tandem (perki-elmer). A curva de calibração foi preparada com concentrações de Hcy variando de 0 a 60  $\mu$ mol/L. Os coeficientes de variação intra e intraensaios foram respectivamente de 2,1 e 3,2 respectivamente.

### **3.2.2 Determinação dos níveis séricos ácido fólico, vitamina B12, uréia, creatinina e ácido úrico**

Para a determinação de ácido fólico, vitamina B12, uréia, creatinina e ácido úrico, o procedimento de armazenamento e separação das amostras foi semelhante ao utilizado para a dosagem de Hcy. No entanto os tubos de coleta não continham anticoagulante e as determinações desses parâmetros foram, portanto, feitas em soro. Todos esses parâmetros foram medidos por métodos automatizados usando um aparelho COBAS.

A determinação quantitativa de ácido fólico foi feita pelo teste Folato ADVIA Centaur que é um imunoenasio competitivo que utiliza tecnologia quimioluminescence direta. O folato na amostra compete com o folato marcado com éster de acridina no Reagente Lite por uma quantidade limitada de proteína ligadora de folato marcada com biotina. A proteína ligadora de folato marcada com biotina se liga a avidina, que é covalentemente ligada a partículas paramagnéticas na Fase Sólida. No teste Folato ADVIA Centaur, a amostra é pré-tratada para liberar o folato a partir das proteínas ligadoras endógenas na amostra.

O sistema realiza automaticamente as seguintes etapas:

- Adição 150  $\mu$ L de amostra em uma cubeta;
- Adição 50  $\mu$ L de DDT/agente de liberação;

- Adição 100µL de Proteína ligadora de folato e 200µL de Fase Sólida e incuba durante 5,0 minutos a 37°C;
- Adição 100µL de Reagente Lite e incuba durante 2,5 minutos a 37°C
- Separa, aspira e lava as cubetas com água reagente;
- Adição 300µL de Reagente Ácido e a mesma quantidade de Reagente Básico para iniciar a reação quimiluminescência;
- Adição os resultados de acordo com a opção selecionada, conforme descrito nas instruções operacionais do sistema ou no sistema de ajuda on-line.

Existe uma relação inversa entre a quantidade de folato presente na amostra do paciente e a quantidade de unidades relativas de luz (RLUs) detectadas pelo sistema.

Tendo em vista que os folatos são sensíveis à luz, exposição à luz deve ser minimizada durante o manuseio e o armazenamento da amostra.

Os níveis de vitamina B12 foram determinados pelo teste VB12 ADVIA Centaur que consiste em um imunoensaio competitivo que utiliza tecnologia quimioluminescente direta. Neste teste, a vitamina B12 proveniente da amostra do paciente compete com a vitamina B12 marcada com éster de acridina no reagente lite por uma quantidade limitada do fator intrínseco purificado, que está covalentemente ligado a partículas paramagnéticas da Fase Sólida. O teste utiliza um agente de liberação (hidróxido de sódio) e DTT para liberar a vitamina B12 das proteínas ligadoras endógenas na amostra e cobinamida para evitar a religação após a adição da Fase Sólida à amostra.

O sistema realiza automaticamente as seguintes etapas:

- Lava a sonda do reagente auxiliar com 100 µL de reagente auxiliar para T3/T4/VB12;
- Adição 100µL de amostra em uma cubeta;
- Adição 115µL de DTT/agente de liberação;
- Adição 200µL de Fase Sólida e incuba durante 5,0 minutos a 37°C;
- Adição 200µL de Reagente Lite e incuba durante 2,5 minutos a 37°C;
- Separa, aspira e lava as cubetas com água reagente;

- Adição 300 $\mu$ L de Reagente Ácido e a mesma quantidade de Reagente Básico;
- Mostra os resultados de acordo com a opção selecionada, conforme descrito nas instruções operacionais do sistema ou no sistema de ajuda on-line.

Existe uma relação inversa entre a vitamina B12 na amostra e as unidades relativas de luz (RLUs) detectadas pelo sistema.

Os coeficientes de variação intra e interensaio foram respectivamente 3,5 e 3,8 % para a vitamina B12 e de 3,9 e 4,5 % para o ácido fólico.

### **3.3. Análise estatística**

As variáveis são apresentadas como médias  $\pm$  erro padrão da média (contínua) ou número e percentagem (categóricas). Para os objetivos desse estudo, definimos concentrações plasmáticas altas de Hcy como superiores a 15  $\mu$ mol/L. Uma vez que os níveis plasmáticos de Hcy não diferiram significativamente por sexo, esse cut off foi utilizado para homens e mulheres. As concentrações séricas de ácido fólico foram categorizadas em altas quando acima de 13 nmol/L e de vitamina B12 superiores a 251 pmol/L.

As associações entre Hcy, ácido fólico, vitamina B12 e outros parâmetros bioquímicos foram feitas por coeficiente de correlação linear e por análise de regressão múltipla. O teste *t* de Student para amostras independentes e a análise de variância de uma via também foram utilizados para várias análises quantitativas, bem como o chi-quadrado para a comparação de variáveis qualitativas. Todas as análises foram feitas usando o programa SPSS versão 15.0. níveis de significância foram considerados quando o  $P < 0,05$ .

### **3.4. Aspectos éticos**

A presente investigação foi aprovada pelo Comitê de Ética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (processo GPPG número 06-419). Todos os participantes (controles e pacientes com doença de Parkinson) do projeto assinaram Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Caracterização da amostra (controles e pacientes com doença de Parkinson) quanto à idade, sexo, estado civil, hipertensão arterial sistêmica, cardiopatia isquêmica, diabetes mérito, insuficiência renal, uso de tabaco e bebidas alcoólicas

Inicialmente procuramos caracterizar nossa amostra (controle e pacientes com doença de Parkinson – DP) em relação à idade, sexo, estado civil, HAS, cardiopatia isquêmica, diabetes mérito e tabagismo e uso de álcool. As tabelas IV.1 (sexo), 2 (cor), 3 (estado civil), 4 (HAS), 5 (cardiopatia isquêmica), 6 (diabetes mérito), 7 (uso de tabaco) e 8 (uso de bebidas alcoólicas). Verificamos que havia mais indivíduos do sexo masculino nos pacientes com DP do que nos controles [Chi-quadrado = 6,557;  $P < 0,01$ ] e que os indivíduos normais (controles) consumiam mais bebidas alcoólicas (Chi-quadrado = 5,223;  $P < 0,05$ ), enquanto os outros parâmetros (idade, estado civil, HAS, cardiopatia isquêmica, diabetes mérito, insuficiência renal e uso de tabaco) não variaram entre os dois grupos.

## **4.2 Comparação entre as concentrações séricas de homocisteína, vitamina B12, ácido fólico, uréia, creatinina, ácido úrico e a idade em pacientes com a doença de Parkinson e em controles normais**

Logo a seguir investigamos se os níveis séricos de homocisteína (Hcy) e de outros parâmetros bioquímicos, tais como ácido fólico, vitamina B 12, uréia, creatinina e ácido úrico, bem como a idade diferiam em indivíduos portadores da doença de Parkinson (DP), quando comparados ao controle. Verificamos que as concentrações séricas de Hcy estavam significativamente maiores nos afetados pela doença de Parkinson (DP) do que nos controles ( $t(78) = 2,688$ ;  $P < 0,01$ ) (Figura IV.1), enquanto os outros parâmetros bioquímicos e a idade não diferiram entre os dois grupos (Tabela IV.9).

Tais resultados sugerem que o aumento da Hcy observado nos pacientes com DP provavelmente não se deveu à idade, as alterações nos níveis de vitamina B 12 ou ácido fólico que afetam os níveis de Hcy, ou então a aumentos da uréia e creatinina que refletem a filtração glomerular.

No entanto, considerando que à medida que a idade avança os níveis de Hcy e creatinina também aumentam, resolvemos melhor identificar se os níveis de creatinina poderiam estar associados aos níveis de Hcy separadamente nos pacientes com doença de Parkinson e nos controles normais. A regressão múltipla revelou que os níveis de Hcy estavam relacionados com a idade ( $\beta = 0,332$ ;  $P < 0,05$ ), mas não com os níveis de creatinina ( $\beta = 0,104$ ;  $P > 0,05$ ), nos pacientes com DP, afastando a hipótese de que uma menor filtração glomerular poderia ser responsável pelo nível aumentado de Hcy. Já nos controles normais, a regressão múltipla demonstrou que os níveis de Hcy não estavam associados aos de creatinina ( $\beta = 0,327$ ;  $P > 0,05$ ) ou idade ( $\beta = 0,225$ ;  $P > 0,05$ ) dos indivíduos.



**Tabela IV.1.** Caracterização da amostra estudada (Controles e Pacientes) quanto ao sexo

|       |           | Grupo      |            | Total      |
|-------|-----------|------------|------------|------------|
|       |           | Controle   | Paciente   |            |
| Sexo  | Masculino | 13 (28,3%) | 33 (71,7%) | 46 (100%)  |
|       | Feminino  | 39 (52%)   | 36 (48%)   | 75 (100%)  |
| Total |           | 52 (43,%)  | 69 (57 %)  | 121 (100%) |

Chi-quadrado = 6,557;  $P < 0,01$

**Tabela IV 2.** Caracterização da amostra estudada (Controles e Pacientes) quanto à raça

|       |        | Grupo      |            | Total    |
|-------|--------|------------|------------|----------|
|       |        | Controle   | Paciente   |          |
| Cor   | Branco | 32 (42,7%) | 43 (57,3%) | 75(100%) |
|       | Preto  | 2 (66,7%)  | 1 ( 33,3%) | 3 (100%) |
| Total |        | 34         | 44         | 78       |

Chi-quadrado = 0,676;  $P > 0,05$

**Tabela IV 3.** Caracterização da amostra estudada (Controles e Pacientes) quanto ao estado civil

|              |                        | Grupo      |            | Total     |
|--------------|------------------------|------------|------------|-----------|
|              |                        | Controle   | Paciente   |           |
| Estado Civil | Solteiro               | 06 (60%)   | 04 (40%)   | 10(100%)  |
|              | Casado                 | 26 (44,1%) | 33 (55,9%) | 59 (100%) |
|              | Separado ou Divorciado | 01 (16,7%) | 05 (83,3%) | 06 (100%) |
|              | Viúvo                  | 02 (33,3%) | 04 (66,7%) | 06 (100%) |
| Total        |                        | 35         | 46         | 81        |

Chi-quadrado = 1,131;  $P > 0,05$

**Tabela IV 4.** Caracterização da amostra estudada (Controles e Pacientes) quanto à hipertensão arterial sistêmica (HAS)

|       |     | Grupo      |            | Total     |
|-------|-----|------------|------------|-----------|
|       |     | Controle   | Paciente   |           |
| HAS   | Sim | 18 (51,4%) | 17 (48,6%) | 35(100%)  |
|       | Não | 22 (40%)   | 33 (60%)   | 55 (100%) |
| Total |     | 40         | 50         | 90        |

Chi-quadrado = 1,131; P > 0,05

**Tabela IV 5.** Caracterização da amostra estudada (Controles e Pacientes) quanto a cardiopatia isquêmica

|                       |     | Grupo      |            | Total     |
|-----------------------|-----|------------|------------|-----------|
|                       |     | Controle   | Paciente   |           |
| Cardiopatia Isquêmica | Sim | 0 (0%)     | 1 (100%)   | 1 (100%)  |
|                       | Não | 40 (44,9%) | 49 (55,1%) | 89 (100%) |
| Total                 |     | 40         | 50         | 90        |

Chi-quadrado = 0,809; P > 0,05

**Tabela IV 6.** Caracterização da amostra estudada (Controles e Pacientes) quanto à diabetes mérito

|                |     | Grupo      |            | Total     |
|----------------|-----|------------|------------|-----------|
|                |     | Controle   | Paciente   |           |
| Diabete Mérito | Sim | 4 (44,4%)  | 5 (55,6%)  | 9 (100%)  |
|                | Não | 36 (44,4%) | 45 (55,6%) | 81 (100%) |
| Total          |     | 40         | 50         | 90        |

Chi-quadrado = 0,001; P > 0,05

**Tabela IV 7.** Caracterização da amostra estudada (Controles e Pacientes) quanto ao uso de tabaco

|       |                 | Grupo      |            | Total     |
|-------|-----------------|------------|------------|-----------|
|       |                 | Controle   | Paciente   |           |
| Fuma  | Sim             | 06 (60%)   | 04 (40%)   | 10(100%)  |
|       | Não             | 22 (48,9%) | 23 (51,1%) | 45 (100%) |
|       | fumou mas parou | 10 (30,3%) | 23 (69,7%) | 33 (100%) |
| Total |                 | 38         | 50         | 88        |

Chi-quadrado = 3,3981; P > 0,05

**Tabela IV 8.** Caracterização da amostra estudada (Controles e Pacientes) quanto ao uso do álcool

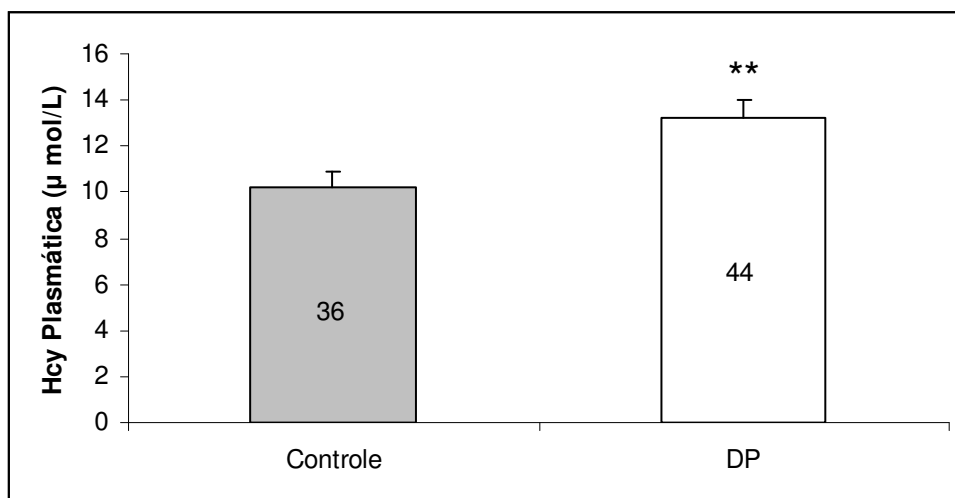
|        |     | Grupo      |            | Total     |
|--------|-----|------------|------------|-----------|
|        |     | Controle   | Paciente   |           |
| Álcool | Sim | 10 (71,4%) | 04 (28,6%) | 14(100%)  |
|        | Não | 28 (38,4%) | 45 (61,6%) | 73 (100%) |
| Total  |     | 38         | 49         | 87        |

Chi-quadrado = 5,223; P < 0,01

**Tabela IV 9.** Comparação entre as concentrações séricas de homocisteína, vitamina B12, ácido fólico, uréia, creatinina, ácido úrico e idade em pacientes com doença Parkinson e controles normais

|                                | Grupo    | N  | Média | EPM  | <i>t</i> | Sig.     |
|--------------------------------|----------|----|-------|------|----------|----------|
| Homocisteína<br>( $\mu$ mol/L) | Controle | 36 | 10,2  | 0,72 | 2,688    | P < 0,01 |
|                                | Paciente | 44 | 13,2  | 0,81 |          |          |
| Vitamina B12<br>(pmol/L)       | Controle | 49 | 554   | 53,6 | 1,272    | P > 0,05 |
|                                | Paciente | 62 | 473   | 37,3 |          |          |
| Ácido Fólico<br>(ng/mL)        | Controle | 47 | 12,9  | 0,64 | 0,729    | P > 0,05 |
|                                | Paciente | 62 | 12,4  | 0,47 |          |          |
| Uréia<br>(mg/dL)               | Controle | 49 | 38,8  | 1,55 | 1.024    | P > 0,05 |
|                                | Paciente | 62 | 41,2  | 1,65 |          |          |
| Creatinina<br>(mg/dL)          | Controle | 49 | 0,90  | 0,03 | 0,154    | P > 0,05 |
|                                | paciente | 62 | 0,89  | 0,02 |          |          |
| Ácido Úrico<br>(mg/dL)         | Controle | 49 | 4,48  | 0,19 | 0,841    | P > 0,05 |
|                                | Paciente | 62 | 5,44  | 1,00 |          |          |
| Idade<br>(anos)                | Controle | 47 | 58,4  | 1,80 | 1,648    | P > 0,05 |
|                                | Paciente | 68 | 61,6  | 1,04 |          |          |

A comparação entre as médias dos controles e pacientes foi feita pelo teste *t* de Student para amostras independentes.



**Figura IV.1.** Níveis plasmáticos de homocisteína (Hcy) em controles saudáveis e pacientes com doença de Parkinson (DP).

Os resultados estão apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média. (n= número de casos). \*\*  $P < 0,01$  (teste *t* de Student para amostras independentes)

#### **4.3 Influência do sexo e do uso de bebidas alcoólicas sobre as concentrações séricas de homocisteína, vitamina B12, ácido fólico, uréia, creatinina e ácido úrico em pacientes com a doença de parkinson e em controles normais**

Tendo em vista que havia mais indivíduos do sexo masculino com DP e que nesses pacientes os níveis de Hcy eram significativamente superiores aos do controle, testamos se em nossa amostra o sexo influencia os níveis séricos de Hcy, bem como de outros parâmetros bioquímicos em indivíduos portadores da DP.

Não detectamos nenhuma influência do sexo sobre os níveis de Hcy, vitamina B12, ácido fólico ou ácido úrico nos indivíduos com DP. No entanto, os níveis de uréia ( $t(59) = 2,009$ ;  $P < 0.05$ ) e creatinina ( $t(59) = 5,304$ ;  $P < 0.0001$ ) estavam significativamente superiores nos homens com DP (Tabela IV.10). Estes

resultados sugerem que o sexo não foi determinante dos níveis mais elevados de Hcy em nossa amostra de parkinsonianos. Já nos controles, os níveis de ácido úrico estavam mais aumentados nos homens relativamente às mulheres ( $t(45) = 4,69$ ;  $P < 0,01$ ), enquanto os outros parâmetros não variaram (Tabela IV.11).

Uma vez que foi verificada uma diferença entre controles e pacientes com DP quanto ao uso de bebidas alcoólicas, investigamos a influência do álcool sobre os níveis séricos de Hcy e outros parâmetros bioquímicos. Observamos que nos parkinsonianos o uso de bebidas alcoólicas estava relacionado com o aumento dos níveis plasmáticos de Hcy ( $t(43) = 3,033$ ;  $P < 0,01$ ), sem que os outros parâmetros variassem (Tabelas IV.12). Por outro lado, verificamos que apenas os níveis séricos de ácido úrico ( $t(76) = 2,242$ ;  $P < 0,05$ ) foram significativamente superiores nos indivíduos normais em uso de álcool, sem qualquer outra alteração dos níveis de Hcy e dos outros parâmetros bioquímicos estudados, bem como da idade (Tabelas IV.13).

**Tabela IV 10.** Influência do sexo sobre os níveis plasmáticos da homocisteína, vitamina B12, ácido fólico, uréia, creatinina, ácido úrico e a idade em pacientes com doença de Parkinson

|                                | Sexo      | N  | Média | EPM  | <i>t</i> | Sig.       |
|--------------------------------|-----------|----|-------|------|----------|------------|
| Homocisteína<br>( $\mu$ mol/L) | Masculino | 24 | 14,4  | 1,14 | 1,635    | $P > 0,05$ |
|                                | Feminino  | 20 | 11,8  | 1,09 |          |            |
| Vitamina B12<br>(pmol/L)       | Masculino | 29 | 488   | 63,4 | 0,348    | $P > 0,05$ |
|                                | Feminino  | 32 | 462   | 44,6 |          |            |
| Ácido Fólico<br>(ng/mL)        | Masculino | 29 | 11,6  | 0,70 | 1,324    | $P > 0,05$ |
|                                | Feminino  | 32 | 12,8  | 0,61 |          |            |
| Uréia<br>(mg/dL)               | Masculino | 29 | 44,4  | 2,53 | 2,009    | $P < 0,01$ |
|                                | Feminino  | 32 | 37,9  | 2,08 |          |            |
| Creatinina<br>(mg/dL)          | Masculino | 29 | 1,01  | 0,04 | 5,304    | $P < 0,01$ |
|                                | Feminino  | 32 | 0,78  | 0,02 |          |            |
| Ácido Úrico<br>(mg/dL)         | Masculino | 29 | 5,12  | 0,25 | 0,291    | $P > 0,05$ |
|                                | Feminino  | 32 | 5,73  | 1,95 |          |            |
| Idade<br>(anos)                | Masculino | 32 | 62,4  | 1,54 | 0,772    | $P > 0,05$ |
|                                | Feminino  | 35 | 60,7  | 1,45 |          |            |

A comparação entre as médias dos controles e pacientes foi feita pelo teste *t* de Student para amostras independentes.

**Tabela IV 11.** Influência do sexo sobre os níveis plasmáticos da homocisteína, vitamina B12, ácido fólico, uréia, creatinina, ácido úrico e a idade em controles normais

|                                | Sexo      | N  | Média | EPM  | <i>t</i> | Sig.     |
|--------------------------------|-----------|----|-------|------|----------|----------|
| Homocisteína<br>( $\mu$ mol/L) | Masculino | 7  | 12,6  | 2,11 | 1,776    | P > 0,05 |
|                                | Feminino  | 27 | 9,42  | 0,75 |          |          |
| Vitamina B12<br>(pmol/L)       | Masculino | 12 | 408   | 59,6 | 1,653    | P > 0,05 |
|                                | Feminino  | 35 | 615   | 70,0 |          |          |
| Ácido Fólico<br>(ng/mL)        | Masculino | 12 | 12,1  | 1,33 | 0,805    | P > 0,05 |
|                                | Feminino  | 33 | 13,4  | 0,77 |          |          |
| Uréia<br>(mg/dL)               | Masculino | 12 | 40,9  | 2,74 | 0,632    | P > 0,05 |
|                                | Feminino  | 35 | 38,6  | 1,92 |          |          |
| Creatinina<br>(mg/dL)          | Masculino | 12 | 1,00  | 0,08 | 1,658    | P > 0,05 |
|                                | Feminino  | 35 | 0,87  | 0,04 |          |          |
| Ácido Úrico<br>(mg/dL)         | Masculino | 12 | 5,76  | 0,35 | 4,690    | P < 0,01 |
|                                | Feminino  | 35 | 4,03  | 0,18 |          |          |
| Idade<br>(anos)                | Masculino | 11 | 56,4  | 2,82 | 0,673    | P > 0,05 |
|                                | Feminino  | 35 | 59,3  | 2,23 |          |          |

A comparação entre as médias dos controles e pacientes foi feita pelo teste *t* de Student para amostras independentes.

**Tabela IV 12.** Influência do uso de bebidas alcoólicas sobre os níveis plasmáticos da homocisteína, vitamina B12, ácido fólico, uréia, creatinina, ácido úrico e a idade em pacientes com doença de Parkinson

|                                | Álcool | N  | Média | EPM  | <i>t</i> | Sig.     |
|--------------------------------|--------|----|-------|------|----------|----------|
| Homocisteína<br>( $\mu$ mol/L) | Sim    | 2  | 15,3  | 0,00 | 1,039    | P > 0,05 |
|                                | Não    | 23 | 12,2  | 0,87 |          |          |
| Vitamina B12<br>(pmol/L)       | Sim    | 3  | 483   | 93,4 | 0,361    | P > 0,05 |
|                                | Não    | 39 | 439   | 32,4 |          |          |
| Ácido Fólico<br>(ng/mL)        | Sim    | 3  | 14,6  | 2,88 | 1,018    | P > 0,05 |
|                                | Não    | 39 | 12,3  | 0,59 |          |          |
| Uréia<br>(mg/dL)               | Sim    | 3  | 40,3  | 7,13 | 0,119    | P > 0,05 |
|                                | Não    | 39 | 41,2  | 1,95 |          |          |
| Creatinina<br>(mg/dL)          | Sim    | 3  | 0,83  | 0,09 | 0,340    | P > 0,05 |
|                                | Não    | 39 | 0,87  | 0,30 |          |          |
| Ácido Úrico<br>(mg/dL)         | Sim    | 3  | 4,93  | 0,55 | 0,797    | P > 0,05 |
|                                | Não    | 39 | 4,37  | 0,19 |          |          |
| Idade<br>(anos)                | Sim    | 4  | 66,8  | 0,95 | 1,678    | P > 0,05 |
|                                | Não    | 43 | 59,9  | 1,24 |          |          |

A comparação entre as médias dos controles e pacientes foi feita pelo teste *t* de Student para amostras independentes.



**Tabela IV 13.** Influência do uso de bebidas alcoólicas sobre os níveis plasmáticos da homocisteína, vitamina B12, ácido fólico, uréia, creatinina, ácido úrico e a idade em controles normais

|                                | Álcool | N  | Média | EPM  | <i>t</i> | Sig.        |
|--------------------------------|--------|----|-------|------|----------|-------------|
| Homocisteína<br>( $\mu$ mol/L) | Sim    | 5  | 9,47  | 0,62 | 0,745    | P ><br>0,05 |
|                                | Não    | 21 | 11,1  | 1,03 |          |             |
| Vitamina B12<br>(pmol/L)       | Sim    | 10 | 603   | 128  | 1,217    | P ><br>0,05 |
|                                | Não    | 25 | 481   | 38,0 |          |             |
| Ácido Fólico<br>(ng/mL)        | Sim    | 10 | 12,4  | 1,46 | 0,293    | P ><br>0,05 |
|                                | Não    | 24 | 12,8  | 0,84 |          |             |
| Uréia<br>(mg/dL)               | Sim    | 10 | 42,4  | 4,87 | 1,412    | P ><br>0,05 |
|                                | Não    | 25 | 36,3  | 1,93 |          |             |
| Creatinina<br>(mg/dL)          | Sim    | 10 | 0,94  | 0,09 | 0,647    | P ><br>0,05 |
|                                | Não    | 25 | 0,88  | 0,05 |          |             |
| Ácido Úrico<br>(mg/dL)         | Sim    | 10 | 5,16  | 0,41 | 2,242    | P <<br>0,01 |
|                                | Não    | 25 | 4,04  | 0,27 |          |             |
| Idade<br>(anos)                | Sim    | 8  | 57,0  | 4,80 | 0,238    | P ><br>0,05 |
|                                | Não    | 27 | 58,2  | 2,40 |          |             |

A comparação entre as médias dos controles e pacientes foi feita pelo teste *t* de Student para amostras independentes.

#### **4.4. Influência da hipertensão arterial sistêmica, diabetes mérito e uso de tabaco sobre as concentrações séricas de homocisteína, vitamina B12, ácido fólico, uréia, creatinina e ácido úrico em pacientes com a doença de Parkinson e em controles normais**

Procuramos então investigar se a hipertensão arterial sistêmica, a diabetes mérito e o uso de tabaco provocam alterações das concentrações séricas de Hcy, vitamina B12, ácido fólico, uréia, creatinina e ácido úrico, bem como se indivíduos

mais velhos são mais afetados por HAS em pacientes com a doença de Parkinson e em controles normais.

Observamos inicialmente que a HAS não provoca alteração dos níveis séricos de Hcy, ácido fólico, vitamina B12 e ácido úrico. No entanto, a idade ( $t(46) = 1,967$ ;  $P < 0,05$ ) e os níveis de uréia ( $t(41) = 2,174$ ;  $P < 0,05$ ) foram significativamente maiores nos hipertensos com DP (Tabela IV.14). A idade ( $t(34) = 2,431$ ;  $P < 0,05$ ) e os níveis de uréia ( $t(33) = 2,520$ ;  $P < 0,05$ ) também foram maiores nos indivíduos controle com HAS (Tabela IV.15).

Por outro lado, verificamos que a diabetes mérito não interferiu em nenhum dos parâmetros bioquímicos analisados nos pacientes com DP (Tabela IV.16) e nos indivíduos controle (Tabela IV.17). Devemos, no entanto, observar que os níveis de Hcy foram 50 % maiores nos controles com diabetes, não atingindo significância pelo número pequeno de amostras e pela alta variabilidade dos dados. É mister que se investigue maior esse fator no que se relaciona aos níveis de Hcy.

No que se refere ao uso do tabaco, os indivíduos controles que fumavam ativamente apresentaram uma tendência não significativa de aumento da Hcy e uma diminuição significativa do ácido fólico ( $t(22) = 2,241$ ;  $P < 0,05$ ) e da vitamina B12 ( $t(23) = 2,396$ ;  $P < 0,05$ ) (Tabela IV.18). Uma diminuição significativa do ácido fólico ( $t(41) = 2,504$ ;  $P < 0,05$ ), bem como um decréscimo não significativo da vitamina B12 e aumento não significativo da Hcy ocorreu com os pacientes com DP que fumavam ativamente (Tabela IV.19).

**Tabela IV 14.** Influência da hipertensão arterial sistêmica (has) sobre os níveis sanguíneos de homocisteína, vitamina B12, ácido fólico, uréia, creatinina, ácido úrico e a idade em pacientes com doença de Parkinson

|                                | HAS | N  | Média | EPM  | <i>t</i> | Sig.     |
|--------------------------------|-----|----|-------|------|----------|----------|
| Homocisteína<br>( $\mu$ mol/L) | Sim | 10 | 12,8  | 1,30 | 0,337    | P > 0,05 |
|                                | Não | 15 | 12,2  | 1,08 |          |          |
| Vitamina B12<br>(pmol/L)       | Sim | 14 | 390   | 35,2 | 1,096    | P > 0,05 |
|                                | Não | 29 | 461   | 41,3 |          |          |
| Ácido Fólico<br>(ng/mL)        | Sim | 14 | 12,2  | 3,69 | 0,167    | P > 0,05 |
|                                | Não | 29 | 12,5  | 1,92 |          |          |
| Uréia<br>(mg/dL)               | Sim | 14 | 46,9  | 3,69 | 2,174    | P < 0,01 |
|                                | Não | 29 | 38,8  | 1,92 |          |          |
| Creatinina<br>(mg/dL)          | Sim | 14 | 0,94  | 0,06 | 1,782    | P > 0,05 |
|                                | Não | 29 | 0,84  | 0,03 |          |          |
| Ácido Úrico<br>(mg/dL)         | Sim | 14 | 9,61  | 4,35 | 1,866    | P > 0,05 |
|                                | Não | 29 | 4,02  | 0,16 |          |          |
| Idade<br>(anos)                | Sim | 15 | 63,9  | 1,59 | 1,967    | P > 0,05 |
|                                | Não | 33 | 59,2  | 1,47 |          |          |

A comparação entre as médias dos controles e pacientes foi feita pelo teste *t* de Student para amostras independentes.

**Tabela IV 15.** Influência da hipertensão arterial sistêmica (has) sobre os níveis plasmáticos da homocisteína, vitamina B12, ácido fólico, uréia, creatinina, ácido úrico e a idade em controles normais

|                                | HAS | N  | Média | EMP  | <i>t</i> | Sig.     |
|--------------------------------|-----|----|-------|------|----------|----------|
| Homocisteína<br>( $\mu$ mol/L) | Sim | 12 | 9,39  | 0,52 | 1,578    | P > 0,05 |
|                                | Não | 13 | 12,1  | 1,57 |          |          |
| Vitamina B12<br>(pmol/L)       | Sim | 16 | 564   | 49,6 | 1,219    | P > 0,05 |
|                                | Não | 19 | 452   | 73,0 |          |          |
| Ácido fólico<br>(ng/mL)        | Sim | 15 | 14,0  | 0,95 | 1,726    | P > 0,05 |
|                                | Não | 19 | 11,5  | 1,05 |          |          |
| Uréia<br>(mg/dL)               | Sim | 16 | 43,3  | 2,77 | 2,520    | P < 0,01 |
|                                | Não | 19 | 34,0  | 2,43 |          |          |
| Creatinina<br>(mg/dL)          | Sim | 16 | 0,97  | 0,08 | 1,195    | P > 0,05 |
|                                | Não | 19 | 0,86  | 0,05 |          |          |
| Ácido úrico<br>(mg/dL)         | Sim | 16 | 4,66  | 0,43 | 0,968    | P > 0,05 |
|                                | Não | 19 | 4,19  | 0,27 |          |          |
| Idade<br>(anos)                | Sim | 17 | 62,9  | 2,68 | 2,431    | P < 0,01 |
|                                | Não | 19 | 53,5  | 2,77 |          |          |

A comparação entre as médias dos controles e pacientes foi feita pelo teste *t* de Student para amostras independentes.

**Tabela IV 16.** Influência da diabetes mérito sobre os níveis plasmáticos da homocisteína, vitamina B12, ácido fólico, uréia, creatinina, ácido úrico e a idade em pacientes com doença de Parkinson

|                                | Diabete Mérito | N  | Média | EPM  | <i>t</i> | Sig.     |
|--------------------------------|----------------|----|-------|------|----------|----------|
| Homocisteína<br>( $\mu$ mol/L) | Sim            | 2  | 12,4  | 3,00 | 0,001    | P > 0,05 |
|                                | Não            | 23 | 12,4  | 0,87 |          |          |
| Vitamina B12<br>(pmol/L)       | Sim            | 5  | 575   | 119  | 1,681    | P > 0,05 |
|                                | Não            | 38 | 420   | 30,0 |          |          |
| Ácido Fólico<br>(ng/mL)        | Sim            | 5  | 15,1  | 1,94 | 1,820    | P > 0,05 |
|                                | Não            | 38 | 12,0  | 0,57 |          |          |
| Uréia<br>(mg/dL)               | Sim            | 5  | 50,2  | 8,10 | 1,777    | P > 0,05 |
|                                | Não            | 38 | 40,3  | 1,76 |          |          |
| Creatinina<br>(mg/dL)          | Sim            | 5  | 1,00  | 0,10 | 1,674    | P > 0,05 |
|                                | Não            | 38 | 0,85  | 0,02 |          |          |
| Ácido Úrico<br>(mg/dL)         | Sim            | 5  | 6,80  | 12,3 | 2,993    | P < 0,01 |
|                                | Não            | 38 | 4,40  | 0,19 |          |          |
| Idade<br>(anos)                | Sim            | 5  | 64,0  | 3,52 | 0,985    | P > 0,05 |
|                                | Não            | 43 | 60,2  | 1,22 |          |          |

A comparação entre as médias dos controles e pacientes foi feita pelo teste *t* de Student para amostras independentes.

**Tabela IV 17.** Influência da Diabetes Mérito sobre os níveis plasmáticos da Homocisteína, Vitamina B12, Ácido Fólico, Uréia, Creatinina, Ácido Úrico e a idade em controles normais

|                                | Diabete Mérito | N  | Média | EPM  | <i>t</i> | Sig.     |
|--------------------------------|----------------|----|-------|------|----------|----------|
| Homocisteína<br>( $\mu$ mol/L) | Sim            | 2  | 16,1  | 12,4 | 1,862    | P > 0,05 |
|                                | Não            | 23 | 10,3  | 3,38 |          |          |
| Vitamina B12<br>(pmol/L)       | Sim            | 4  | 440   | 210  | 0,488    | P > 0,05 |
|                                | Não            | 31 | 511   | 281  |          |          |
| Ácido Fólico<br>(ng/mL)        | Sim            | 4  | 16,4  | 3,11 | 1,976    | P > 0,05 |
|                                | Não            | 30 | 12,0  | 4,26 |          |          |
| Uréia<br>(mg/dL)               | Sim            | 4  | 48,5  | 18,8 | 1,951    | P > 0,05 |
|                                | Não            | 31 | 36,9  | 10,1 |          |          |
| Creatinina<br>(mg/dL)          | Sim            | 4  | 1,10  | 0,52 | 1,561    | P > 0,05 |
|                                | Não            | 31 | 0,89  | 0,21 |          |          |
| Ácido Úrico<br>(mg/dL)         | Sim            | 4  | 4,97  | 1,37 | 0,837    | P > 0,05 |
|                                | Não            | 31 | 4,33  | 1,45 |          |          |
| Idade<br>(anos)                | Sim            | 4  | 66,2  | 9,32 | 1,450    | P > 0,05 |
|                                | Não            | 32 | 56,9  | 12,4 |          |          |

A comparação entre as médias dos controles e pacientes foi feita pelo teste *t* de Student para amostras independentes.

**Tabela IV 18.** Influência do fumo sobre os níveis plasmáticos da homocisteína, vitamina B12, ácido fólico, uréia, creatinina, ácido úrico e a idade em controles normais

|                                | Fumo | N  | Média | EPM  | <i>t</i> | Sig.        |
|--------------------------------|------|----|-------|------|----------|-------------|
| Homocisteína<br>( $\mu$ mol/L) | Sim  | 4  | 12,2  | 2,90 | 1,278    | P ><br>0,05 |
|                                | Não  | 14 | 9,78  | 0,63 |          |             |
| Vitamina B12<br>(pmol/L)       | Sim  | 5  | 364   | 59,2 | 2,396    | P ><br>0,05 |
|                                | Não  | 20 | 580   | 68,0 |          |             |
| Ácido Fólico<br>(ng/mL)        | Sim  | 5  | 9,64  | 0,93 | 2,241    | P <<br>0,01 |
|                                | Não  | 19 | 13,7  | 0,90 |          |             |
| Uréia<br>(mg/dL)               | Sim  | 5  | 35,6  | 6,62 | 0,448    | P ><br>0,05 |
|                                | Não  | 20 | 37,8  | 1,95 |          |             |
| Creatinina<br>(mg/dL)          | Sim  | 5  | 1,02  | 0,38 | 1,101    | P ><br>0,05 |
|                                | Não  | 20 | 0,83  | 0,17 |          |             |
| Ácido Úrico<br>(mg/dL)         | Sim  | 5  | 3,94  | 0,60 | 0,576    | P ><br>0,05 |
|                                | Não  | 20 | 4,34  | 0,31 |          |             |
| Idade<br>(anos)                | Sim  | 6  | 54,2  | 2,56 | 0,924    | P ><br>0,05 |
|                                | Não  | 20 | 59,7  | 3,15 |          |             |

A comparação entre as médias dos controles e pacientes foi feita pelo teste *t* de Student para amostras independentes.

**Tabela IV 19.** Influência do fumo sobre os níveis plasmáticos da homocisteína, vitamina B12, ácido fólico, uréia, creatinina, ácido úrico e a idade em pacientes com doença de Parkinson

|                                | Fumo | N  | Média | EPM  | <i>t</i> | Sig.     |
|--------------------------------|------|----|-------|------|----------|----------|
| Homocisteína<br>( $\mu$ mol/L) | Sim  | 6  | 15,4  | 3,04 | 1,072    | P > 0,05 |
|                                | Não  | 19 | 12,8  | 0,98 |          |          |
| Vitamina B12<br>(pmol/L)       | Sim  | 6  | 464   | 125  | 0,817    | P > 0,05 |
|                                | Não  | 37 | 416   | 43,5 |          |          |
| Ácido Fólico<br>(ng/mL)        | Sim  | 6  | 353   | 77,5 | 2,504    | P < 0,01 |
|                                | Não  | 37 | 442   | 41,8 |          |          |
| Uréia<br>(mg/dL)               | Sim  | 6  | 41,7  | 5,08 | 0,342    | P > 0,05 |
|                                | Não  | 37 | 43,9  | 2,54 |          |          |
| Creatinina<br>(mg/dL)          | Sim  | 6  | 0,95  | 0,09 | 0,353    | P > 0,05 |
|                                | Não  | 37 | 0,91  | 0,05 |          |          |
| Ácido Úrico<br>(mg/dL)         | Sim  | 6  | 4,68  | 0,74 | 0,314    | P > 0,05 |
|                                | Não  | 37 | 6,01  | 1,68 |          |          |
| Idade<br>(anos)                | Sim  | 7  | 66,7  | 5,92 | 0,348    | P > 0,05 |
|                                | Não  | 38 | 68,3  | 1,63 |          |          |

A comparação entre as médias dos controles e pacientes foi feita pelo teste *t* de Student para amostras independentes.



#### **4.5. Influência dos níveis séricos de ácido fólico sobre os níveis plasmáticos de homocisteína em pacientes com doença de Parkinson e em indivíduos normais**

Decidimos investigar com maior profundidade a relação entre os níveis de ácido fólico, Hcy, vitamina B12 e outros parâmetros bioquímicos nos pacientes com DP e nos controles saudáveis.

Inicialmente dividimos os pacientes e controles em dois grupos, com níveis séricos de ácido fólico até 13 ng/mL e maiores de 13 ng/mL. A seguir, comparamos os níveis de Hcy entre os pacientes com DP e os controles. Verificamos que, os pacientes com DP apresentaram níveis de Hcy significativamente superiores ao dos controles quando os níveis de ácido fólico eram inferiores ou igual a 13 ng/mL ( $t(40) = 2,713$ ;  $P < 0,0001$ ) No entanto, quando os níveis de ácido fólico foram superiores a 13 ng/ml, não houve diferença significativa entre os valores séricos de Hcy entre os controles e os com DP, embora houvesse uma tendência desses níveis serem superiores nos pacientes com DP ( $t(29) = 0,647$ ,  $p=0,523$ ) (Tabela IV.20). Tais resultados sugerem que o déficit de ácido fólico possa estar envolvido nas diferenças encontradas entre os níveis maiores Hcy observados nos pacientes com DP relativamente aos controles.

**Tabela IV 20.** Comparação entre os níveis plasmáticos de homocisteína em pacientes com doença de Parkinson e controles normais com concentrações séricas de ácido fólico inferiores ou superiores a 13 ng/mL

|                                | Grupo    | N  | Média | EPM  | T     | Sig.     |
|--------------------------------|----------|----|-------|------|-------|----------|
| Ácido Fólico < 13 ng/mL        |          |    |       |      |       |          |
| Homocisteína<br>( $\mu$ mol/L) | Controle | 19 | 10,1  | 0,90 | 2,713 | P < 0,01 |
|                                | Paciente | 23 | 14,4  | 1,22 |       |          |
| Ácido Fólico > 13 ng/mL        |          |    |       |      |       |          |
| Homocisteína<br>( $\mu$ mol/L) | Controle | 14 | 10,8  | 1,42 | 0,647 | P > 0,05 |
|                                | Paciente | 17 | 12,0  | 1,19 |       |          |

A comparação entre as médias dos controles e pacientes foi feita pelo teste *t* de Student para amostras independentes.

#### **4.6 influência dos níveis séricos de homocisteína sobre os níveis de ácido fólico, vitamina B12, uréia, creatinina e ácido úrico, bem como sobre a idade em pacientes com doença de Parkinson**

Dividimos os pacientes com DP e dois grupos, sendo um com níveis plasmáticos de Hcy superiores a 15  $\mu$ mol/L e o outro com níveis séricos de até 15  $\mu$ mol/L (normais). Estudamos então a influência de Hcy sobre os níveis séricos de ácido fólico, vitamina B12, uréia, creatinina e ácido úrico, bem como sobre a idade dos pacientes com DP. Não observamos nenhuma diferença significativa entre os vários parâmetros bioquímicos analisados em função de quantidades altas (> 15  $\mu$ mol/L) ou menores (< 15  $\mu$ mol/L) de Hcy (Tabela IV. 21). No entanto, observamos que os pacientes com DP com níveis de Hcy superiores a 15 apresentaram uma idade significativamente mais avançada ( $t(41) = 3,014$ ;  $P <$

0,01). Tais resultados sugerem que a idade influencia os níveis de Hcy nos pacientes com DP.

#### 4.7 Influência do uso de L-DOPA sobre os níveis plasmáticos de homocisteína, ácido fólico e vitamina B12 em pacientes com doença de Parkinson

Estudamos também o efeito do uso de L-DOPA em pacientes com DP sobre os níveis plasmáticos de Hcy, ácido fólico e vitamina B12, uma vez que há resultados conflitantes sobre a influência do uso de L-DOPA sobre os níveis de Hcy em pacientes com DP. Verificamos que esses níveis não foram significativamente diferentes em nossos pacientes em uso ou não de L-DOPA: ácido fólico: ( $t(41) = 0,040$ ;  $p > 0,05$ ); vitamina B12: ( $t(41) = 0,043$ ;  $p > 0,05$ ); Hcy: ( $t(41) = 0,290$ ;  $p > 0,05$ ) (Tabela IV. 22).

**Tabela IV 21.** Efeitos dos níveis plasmáticos de homocisteína sobre as concentrações séricas de ácido fólico, vitamina B12, uréia, creatinina, ácido úrico e a idade dos pacientes com doença de Parkinson

|                          | Homocisteína<br>( $\mu$ mol/L) | N  | Média | EPM  | <i>t</i> | Sig.     |
|--------------------------|--------------------------------|----|-------|------|----------|----------|
| Ácido Fólico<br>(ng/mL)  | Até 15                         | 26 | 12,4  | 0,73 | 0,276    | P > 0,05 |
|                          | Mais de 15                     | 14 | 12,7  | 0,85 |          |          |
| Vitamina B12<br>(pmol/L) | Até 15                         | 26 | 553   | 73,9 | 1,189    | P > 0,05 |
|                          | Mais de 15                     | 14 | 421   | 62,6 |          |          |
| Uréia<br>(mg/dL)         | Até 15                         | 26 | 37,3  | 2,28 | 1,858    | P > 0,05 |
|                          | Mais de 15                     | 14 | 45,6  | 4,32 |          |          |
| Creatinina<br>(mg/dL)    | Até 15                         | 26 | 0,89  | 0,03 | 0,867    | P > 0,05 |
|                          | Mais de 15                     | 14 | 0,94  | 0,07 |          |          |
| Ácido Úrico<br>(mg/dL)   | Até 15                         | 26 | 4,28  | 0,32 | 1,262    | P > 0,05 |
|                          | Mais de 15                     | 14 | 4,90  | 0,31 |          |          |
| Idade<br>(anos)          | Até 15                         | 28 | 59,4  | 1,69 | 3,014    | P < 0,01 |
|                          | Mais de 15                     | 15 | 67,5  | 1,83 |          |          |

A comparação entre as médias dos controles e pacientes foi feita pelo teste *t* de Student para amostras independentes.

**Tabela IV 22.** Influência do uso de L-DOPA sobre os níveis plasmáticos de homocisteína, vitamina B12 e ácido fólico em pacientes com doença de Parkinson

|                                | L-DOPA | N  | Média | EPM  | <i>t</i> | Sig.     |
|--------------------------------|--------|----|-------|------|----------|----------|
| Homocisteína<br>( $\mu$ mol/L) | Sim    | 20 | 12,6  | 1,00 | 0,290    | P > 0,05 |
|                                | Não    | 5  | 13,0  | 1,09 |          |          |
| Vitamina B12<br>(pmol/L)       | Sim    | 34 | 439   | 32,5 | 0,043    | P > 0,05 |
|                                | Não    | 9  | 435   | 81,2 |          |          |
| Ácido Fólico<br>(ng/mL)        | Sim    | 34 | 12,4  | 0,64 | 0,040    | P > 0,05 |
|                                | Não    | 9  | 12,4  | 1,31 |          |          |

A comparação entre as médias dos controles e pacientes foi feita pelo teste *t* de Student para amostras independentes.

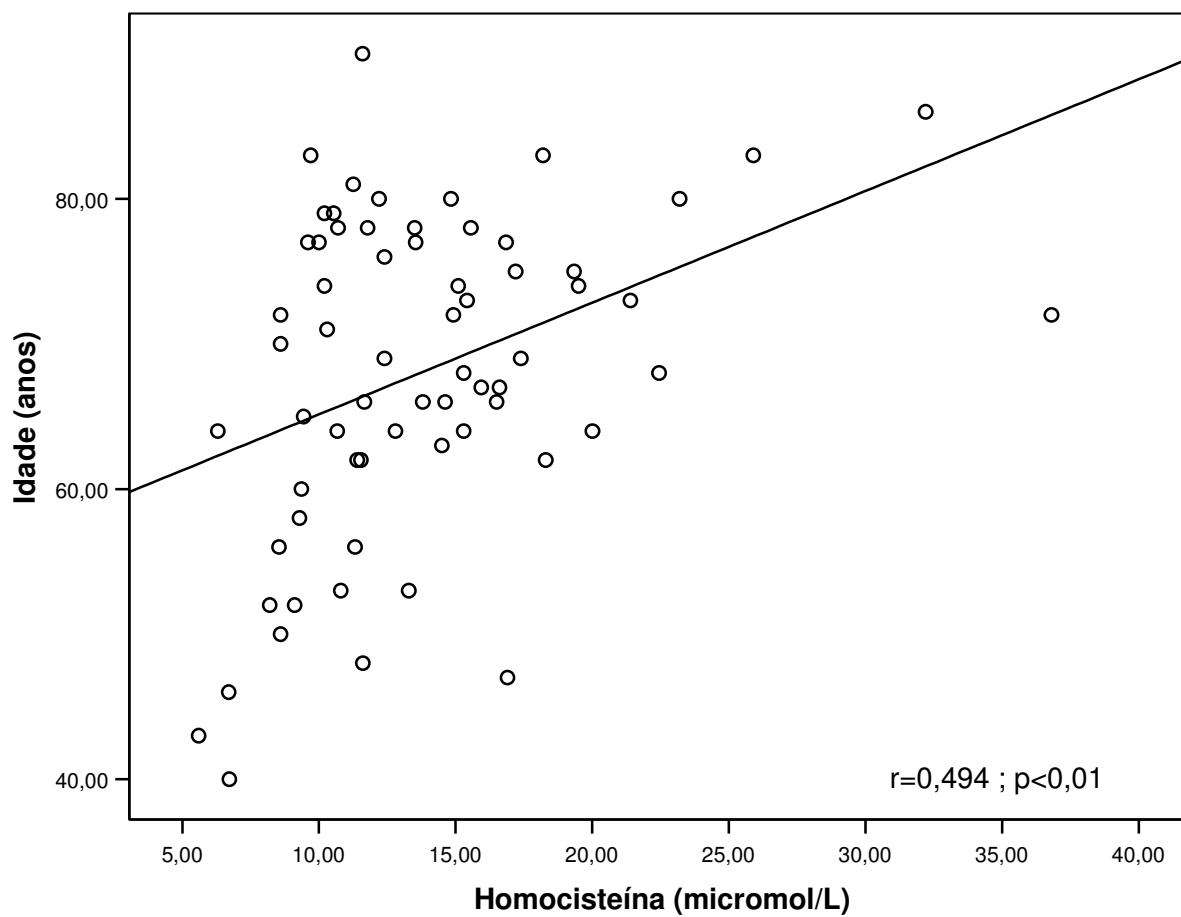
#### **4.8 Influência do tempo de duração da doença sobre as concentrações plasmáticas de homocisteína, vitamina B12, ácido fólico, uréia, creatinina e ácido úrico em pacientes com doença de Parkinson**

Resolvemos então estudar se o tempo de duração da doença tinha ação sobre os níveis séricos de Hcy, ácido fólico, vitamina B12, uréia, creatinina e ácido úrico em pacientes com DP. Apesar de haver uma tendência de aumento gradativo das concentrações séricas de Hcy no decorrer do tempo de doença, não houve diferença significativa entre esses níveis, bem como nos outros parâmetros bioquímicos ao longo da doença (Tabela IV.23).

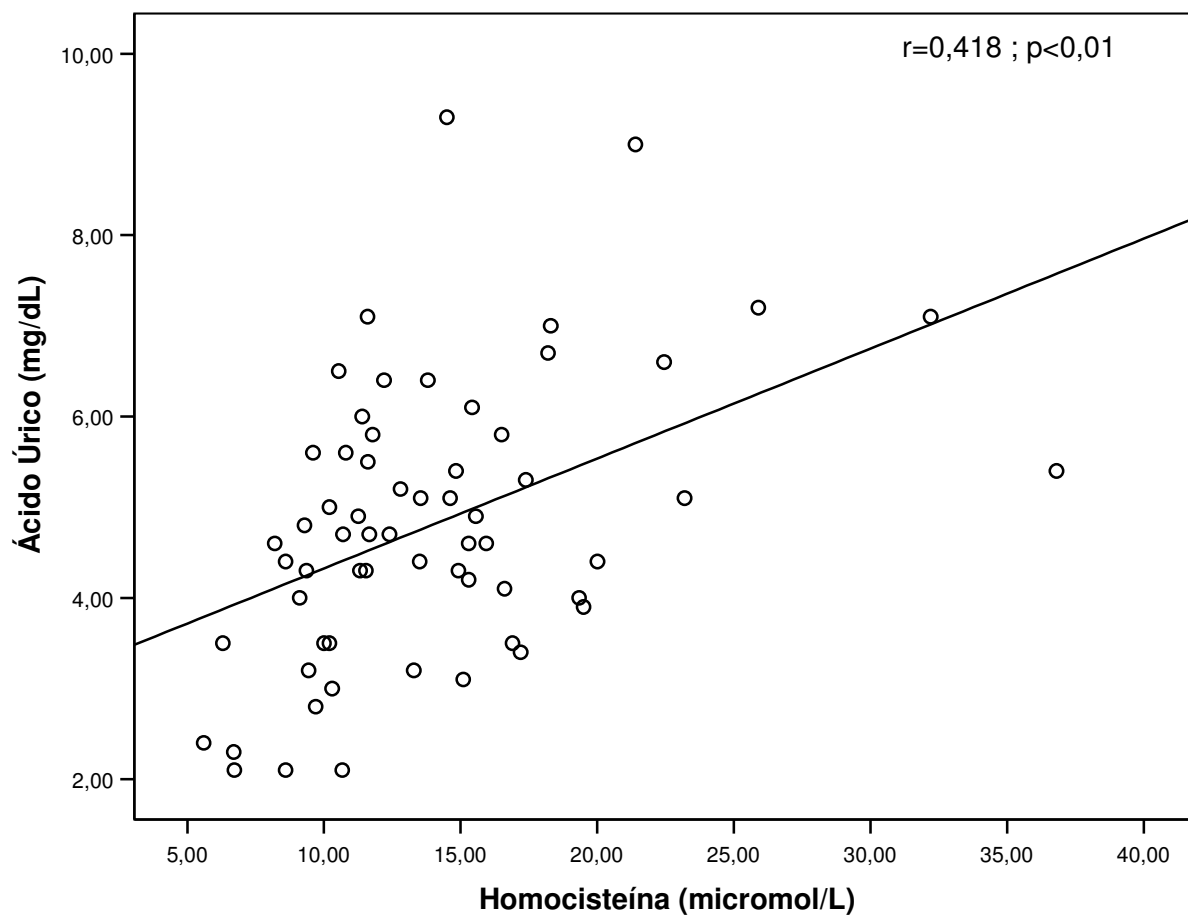
#### **4.9 Correlação entre as concentrações séricas de homocisteína com as de vitamina B12, ácido fólico, uréia, creatinina, ácido úrico, bem como com a idade, o peso, a altura, o índice de massa corporal em pacientes com a doença de parkinson e em controles normais**

O próximo passo de nossa investigação foi o de identificar associações entre as diversas variáveis quantitativas para melhor avaliar a influência de fatores determinantes dos níveis de Hcy em nossa amostra.

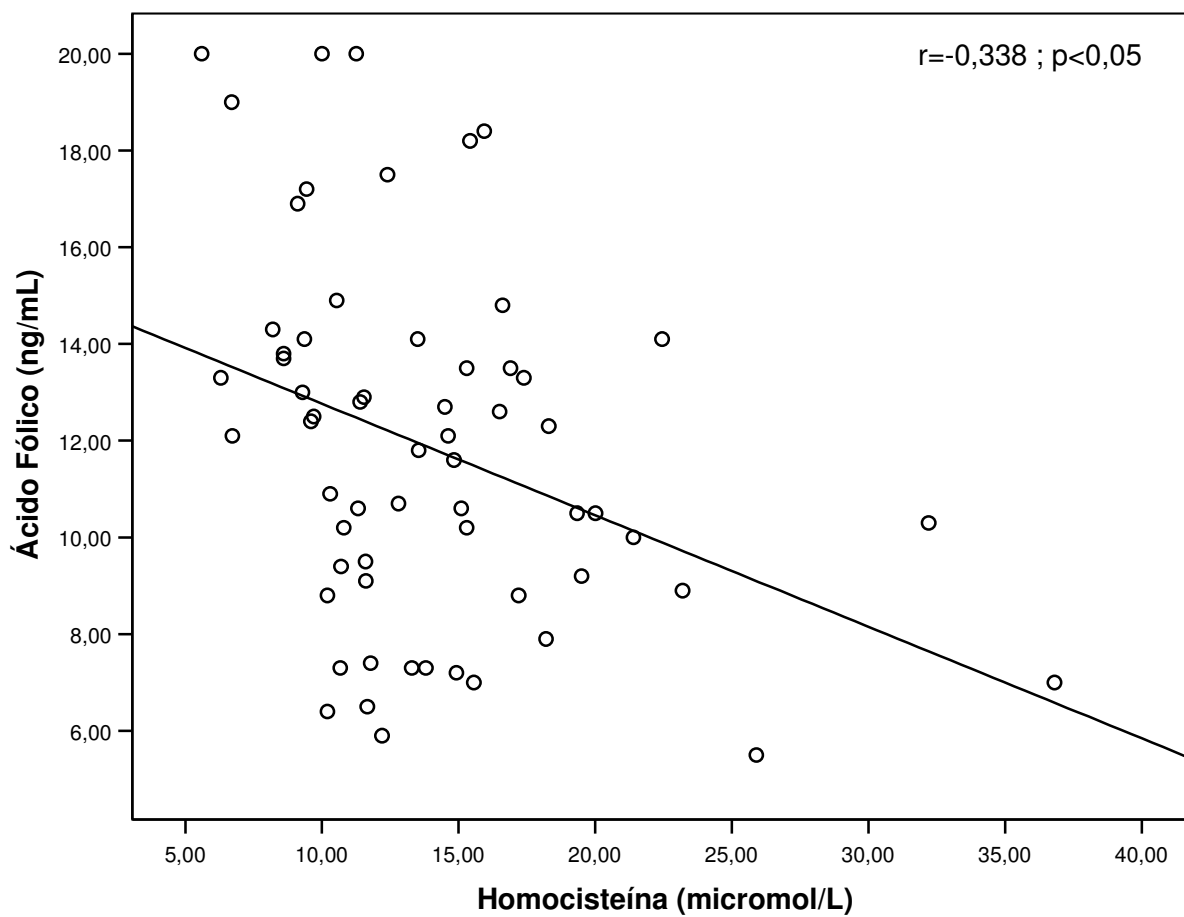
Verificamos que a Hcy se correlaciona positivamente com a idade ( $r = 0,494$ ;  $P < 0,001$ ) (Figura IV.2) e o ácido úrico ( $r = 0,418$ ;  $P < 0,01$ ) (Figura IV.3) e negativamente com o ácido fólico ( $r = -0,338$ ;  $P < 0,05$ ) (Figura IV.4) nos pacientes com DP (Tabela IV. 24). Já nos controles, a Hcy se correlacionou negativamente apenas com a vitamina B12 ( $r = -0,374$ ;  $P < 0,05$ ) (Figura IV.5), sem nenhuma outra correlação significativa verificada para os outros parâmetros (Tabela IV.25). Tais resultados sugerem que nos pacientes com DP a idade está associada positivamente aos níveis de Hcy, o mesmo ocorrendo para os níveis séricos de ácido úrico. O achado mais importante, no entanto, é que a deficiência de ácido fólico provavelmente leva ao aumento da Hcy nestes pacientes. Já nos indivíduos normais, as concentrações plasmáticas de Hcy estão associadas negativamente com os níveis de vitamina B12. Portanto, é possível concluir que nos indivíduos controle a deficiência de vitamina B12 é provavelmente um importante determinante dos níveis plasmáticos de Hcy.



**Figura IV.2.** Relação entre as concentrações plasmáticas de homocisteína e a idade dos pacientes com doença de Parkinson

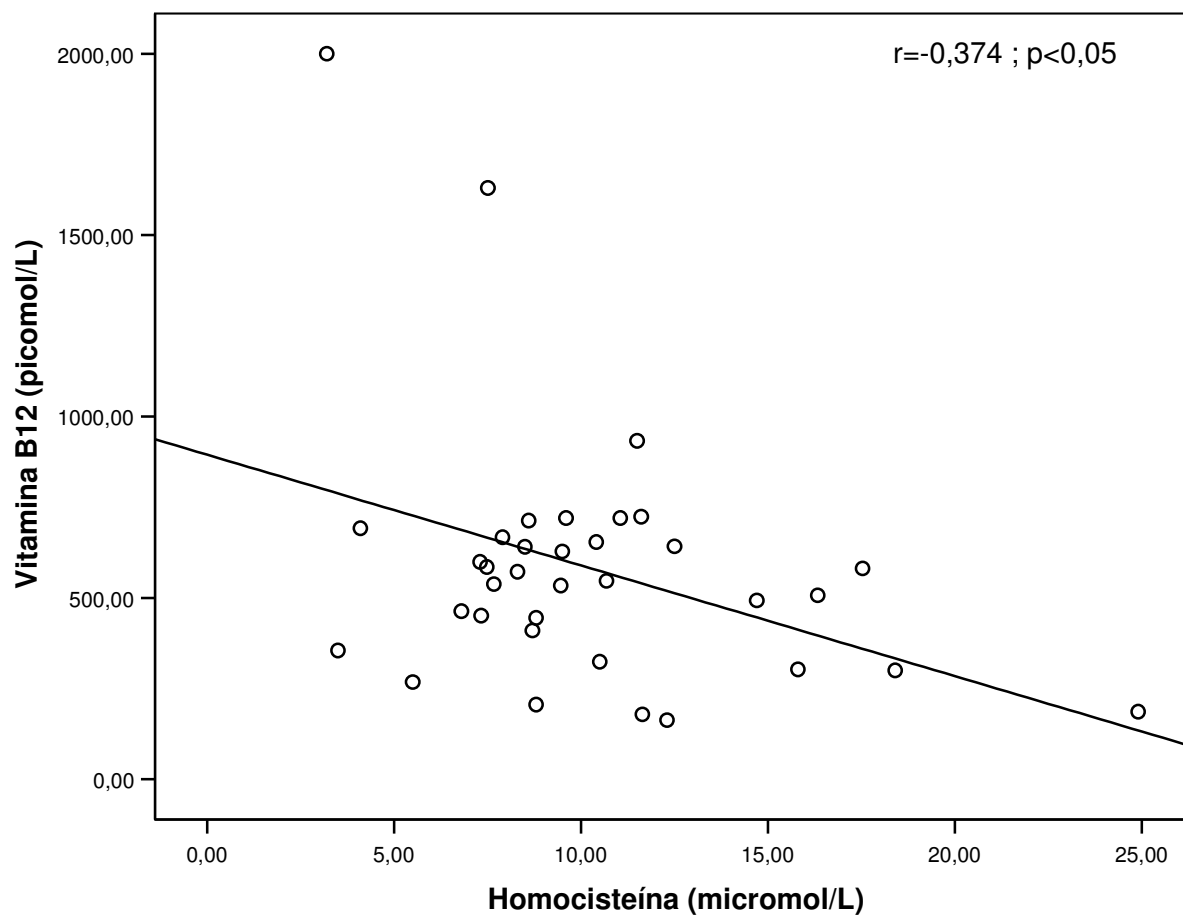


**Figura IV.3.** Relação entre as concentrações plasmáticas de homocisteína e os níveis séricos de ácido úrico em pacientes com doença de Parkinson



**Figura IV.4.** Relação entre as concentrações plasmáticas de homocisteína e os níveis séricos de ácido fólico em pacientes com doença de Parkinson





**Figura IV.5.** Relação entre as concentrações plasmáticas de homocisteína e os níveis séricos de vitamina B12 em controles normais

**Tabela IV 23.** Influência do tempo de duração da doença sobre as concentrações plasmáticas de homocisteína, vitamina B12, ácido fólico, uréia, creatinina e ácido úrico em pacientes com doença de Parkinson

|                                | Duração da doença | N  | Média | EPM  | F     | Sig.        |
|--------------------------------|-------------------|----|-------|------|-------|-------------|
| Homocisteína<br>( $\mu$ mol/L) | Até 5 anos        | 13 | 11,9  | 1,31 | 1,222 | P ><br>0,05 |
|                                | 5 a 10 anos       | 15 | 13,9  | 1,23 |       |             |
|                                | 10 a 20 anos      | 12 | 15,2  | 1,95 |       |             |
| Vitamina B12<br>(pmol/L)       | Até 5 anos        | 15 | 499   | 49,7 | 0,241 | P ><br>0,05 |
|                                | 5 a 10 anos       | 18 | 445   | 43,9 |       |             |
|                                | 10 a 20 anos      | 10 | 468   | 98,2 |       |             |
| Ácido Fólico<br>(ng/mL)        | Até 5 anos        | 15 | 11,7  | 0,98 | 0,512 | P ><br>0,05 |
|                                | 5 a 10 anos       | 18 | 11,8  | 1,05 |       |             |
|                                | 10 a 20 anos      | 10 | 13,2  | 1,10 |       |             |
| Uréia<br>(mg/dL)               | Até 5 anos        | 15 | 39,3  | 3,38 | 1,500 | P ><br>0,05 |
|                                | 5 a 10 anos       | 18 | 44,6  | 2,25 |       |             |
|                                | 10 a 20 anos      | 10 | 47,3  | 4,48 |       |             |
| Creatinina<br>(mg/dL)          | Até 5 anos        | 15 | 0,94  | 0,24 | 0,349 | P ><br>0,05 |
|                                | 5 a 10 anos       | 18 | 0,98  | 0,19 |       |             |
|                                | 10 a 20 anos      | 10 | 0,91  | 0,19 |       |             |
| Ácido Úrico<br>(mg/dL)         | Até 5 anos        | 15 | 4,43  | 1,38 | 1,305 | P ><br>0,05 |
|                                | 5 a 10 anos       | 18 | 5,09  | 1,03 |       |             |
|                                | 10 a 20 anos      | 10 | 4,93  | 1,21 |       |             |

A comparação entre as médias foi feita por análise de variância (ANOVA) de uma via. Nenhuma diferença significativa foi encontrada.

**Tabela IV 24.** Correlação entre as concentrações sanguíneas de homocisteína ( $\mu$  mol/l) com as de vitamina B12, ácido fólico, uréia, creatinina, ácido úrico, bem como a idade em pacientes com doença de Parkinson

|                          | N  | r      | Significância |
|--------------------------|----|--------|---------------|
| Vitamina B12<br>(pmol/L) | 62 | -0,204 | P > 0,05      |
| Ácido fólico<br>(ng/mL)  | 62 | -0,353 | P < 0,01      |
| Uréia<br>(mg/dL)         | 62 | 0,175  | P > 0,05      |
| Creatinina<br>(mg/dL)    | 61 | 0,201  | P > 0,05      |
| Ácido Úrico<br>(mg/dL)   | 62 | 0,452  | P < 0,01      |
| Idade<br>(anos)          | 66 | 0,389  | P < 0,01      |

r = Coeficiente de correlação de Pearson.

A associação entre os valores de Hcy e dos outros parâmetros bioquímicos foi calculada pelo coeficiente de correlação de Pearson.

**Tabela IV 25.** Correlação entre as concentrações plasmáticas de homocisteína ( $\mu\text{mol/l}$ ) com as de vitamina B12, ácido fólico, uréia, creatinina e ácido úrico, bem como a idade em controles normais

|                                     | N  | r       | Significância |
|-------------------------------------|----|---------|---------------|
| Vitamina B12<br>( $\text{pmol/L}$ ) | 35 | - 0,374 | $P < 0,01$    |
| Ácido Fólico<br>( $\text{ng/mL}$ )  | 33 | 0,072   | $P > 0,05$    |
| Uréia<br>( $\text{mg/dL}$ )         | 35 | 0,131   | $P > 0,05$    |
| Creatinina<br>( $\text{mg/dL}$ )    | 35 | 0,289   | $P > 0,05$    |
| Ácido Úrico<br>( $\text{mg/dL}$ )   | 35 | 0,037   | $P > 0,05$    |
| Idade<br>(anos)                     | 34 | 0,217   | $P > 0,05$    |

r = Coeficiente de correlação de Pearson.

A associação entre os valores de Hcy e dos outros parâmetros bioquímicos foi feita pelo coeficiente de correlação de Pearson.

Para melhor identificarmos a influência relativa dos níveis de ácido fólico, vitamina B12 e da idade sobre os níveis séricos de Hcy, analisamos nossos dados através de regressão múltipla com a variável Hcy como dependente e as demais como independentes. Verificamos que nos controles os níveis de Hcy são determinados pelos de vitamina B12 ( $\beta = -0,428$ ;  $P > 0,05$ ), mas não pelos de ácido fólico ( $\beta = 0,103$ ;  $P > 0,05$ ) ou da idade ( $\beta = 0,195$ ;  $P > 0,05$ ) (Tabela IV.26). Por sua vez, nos indivíduos com DP, os níveis de Hcy estavam associados negativamente com os de ácido fólico ( $\beta = -0,250$ ;  $P < 0,05$ ) e positivamente com a idade ( $\beta = -0,279$ ;  $P < 0,05$ ), mas não com os níveis de vitamina B12 ( $\beta = -0,113$ ;  $P > 0,05$ ) (Tabela IV. 27).

**Tabela IV 26.** Regressão múltipla entre os níveis plasmáticos de homocisteína (variável dependente) com a idade e as concentrações séricas de vitamina B12 e ácido fólico (variáveis independentes) em controles normais

| Variável              | N  | Beta    | Significância |
|-----------------------|----|---------|---------------|
| Vitamina B12 (pmol/L) | 35 | - 0,428 | P < 0,01      |
| Ácido Fólico (ng/mL)  | 33 | 0,103   | P > 0,05      |
| Idade (anos)          | 34 | 0,195   | P > 0,05      |

**Tabela IV 27.** Regressão múltipla entre os níveis plasmáticos de homocisteína (variável dependente) com a idade e as concentrações séricas de vitamina B12 e ácido fólico (variáveis independentes) em pacientes com doença de Parkinson

| Variável              | N  | Beta    | Significância |
|-----------------------|----|---------|---------------|
| Vitamina B12 (pmol/L) | 62 | - 0,941 | P > 0,05      |
| Ácido Fólico (ng/mL)  | 62 | -2,027  | P < 0,05      |
| Idade (anos)          | 66 | 2,293   | P < 0,05      |

## 5. DISCUSSÃO

A homocisteína (Hcy) é um aminoácido que contém enxofre em sua molécula, não sendo utilizado para síntese protéica. Alimentos possuem pequenas quantidades de Hcy. Assim, a Hcy é formada intracelularmente a partir de metionina e sua concentração dentro da célula é controlada, de forma que qualquer excesso é transportado para o plasma. No plasma, 70 % da Hcy, está ligada a proteínas. Distúrbios no metabolismo intracelular de Hcy levam, na maioria dos casos, à hiperhomocisteinemia e podem ser devidos a doenças genéticas: a deficiência da cistationina- $\beta$ -sintase (CBS), também conhecida como homocistinúria (MUDD et al., 1989). No entanto, a prevalência dessa doença é muito rara na população em geral (1.335.000) e outros fatores comuns são muito mais importantes para causar hiperhomocisteinemia. Entre estes, destacam-se a idade avançada e o sexo masculino (LUSIER CACAN et al., 1996; BREE et al., 2001). Acredita-se que a diferença entre os sexos (Hcy maior nos homens) pode ser devida a maior massa muscular dos homens, uma vez que a formação de Hcy nos músculo esquelético está associada com a formação de creatina/creatinina (NORLUND et al., 1998). Não se pode também afastar a influência de hormônios sexuais (ANDERSON et al., 1992). Neste particular, é interessante observar-se que nas mulheres o aumento dos níveis sanguíneos de Hcy ocorre após a menopausa (WONTERS et al., 1995). Outro aspecto bem estabelecido é a dependência das concentrações sanguíneas de Hcy com as vitaminas do complexo B e mais especificamente com a vitamina B6, vitamina B12 e ácido fólico. Neste particular, está bem determinado que a suplementação dessas vitaminas diminuem os níveis de Hcy em indivíduos com níveis normais (BROUWER et al., 1999) e aumentados (WALD et al., 2001) deste aminoácido. Neste particular, a suplementação com ácido fólico e vitamina B12 parece ser mais eficaz em baixar esses níveis do que com a vitamina B6 (CLARKE E ARMITAGE, 2000). Finalmente, a comparação entre os efeitos do ácido fólico e da vitamina B12 sobre os níveis de sanguíneos de Hcy mostrou que o ácido fólico é mais efetivo em reduzir esses níveis, provavelmente porque ele participa ativamente no metabolismo da Hcy como substrato, doando o grupo metila para a

conversão de Hcy a metionina, enquanto as vitaminas B6 e B12 funcionam apenas como cofatores das enzimas envolvidas no metabolismo desse aminoácido.

Outros fatores também determinam as concentrações plasmáticas de Hcy, tais como, por exemplo, o consumo de café, que está positivamente associado com concentrações altas desse aminoácido em homens e mulheres (CHRISTENSEN et al., 2001), possivelmente porque o café inibe a conversão de homocisteína em cisteína, por ser um antagonista da vitamina B6 (GRUBBEN et al., 2000). Além disso, o fumo está positivamente correlacionado com as concentrações de Hcy. Os mecanismos exatos desse efeito não são conhecidos, embora o fumo possa inibir enzimas, tais como a sintase da metionina (BLOM, 1998). O álcool, por sua vez, quando consumido moderadamente, diminui os níveis de Hcy, mas quando consumido exageradamente aumenta esses níveis (KOEHLER et al., 2001). Por outro lado, junto com a deficiência de CBS, foram descritos alguns variantes genéticos freqüentes (polimorfismos) que provocam um pequeno efeito sobre as enzimas que metabolizam Hcy, levando ao seu acúmulo no organismo (BRATTSTROM et al., 1998). Finalmente, há alguns medicamentos que determinam a concentração plasmática de Hcy na população geral (BREE et al., 2002). Neste particular, os hormônios sexuais parecem atuar neste sentido e explicar a diferença dos níveis de Hcy entre os sexos, como previamente mencionado (ANDERSON et al., 1992; WOUTERS et al., 1995). As drogas antifolato tais como o metotrexate, utilizado no tratamento do câncer, elevam os níveis de Hcy por interferir com o ácido fólico. Drogas utilizadas no tratamento da doença de Parkinson, como a L-DOPA, ao necessitarem metilação para serem ativadas, podem aumentar os níveis de Hcy no plasma.

No entanto, entre todos esses fatores, os mais importantes determinantes da hiperhomocisteinemia parecem ser as deficiências nutricionais de ácido fólico e vitamina B12, além da insuficiência renal. Os níveis séricos de folato são inversamente proporcionais aos níveis de Hcy e tidos como os principais determinantes dos níveis de Hcy (GILES et al., 1995; SELHUB et al., 1993, 1999). Os níveis séricos de vitamina B12 e de vitamina B6 também se correlacionam inversamente com os de Hcy, mas tem menor importância. Por sua vez, é bem

conhecido que deficiência de folato (GREENBLATT et al., 1994) e de vitamina B12 tem efeitos adversos sobre o desenvolvimento do sistema nervoso central (SNC).

Pacientes com defeitos genéticos que resultam em hiperhomocisteinemia possuem disfunção neurológica que inclui retardo mental, atrofia cerebral e convulsões (WALKINS e ROSENBLATT, 1989; VAN DEN BERG et al., 1995). A exposição de neurônios corticais e hipocampus cultivados com a Hcy aumentam sua vulnerabilidade a excitotoxicidade (KRUMAN et al., 2000). Esses efeitos podem estar relacionados com as propriedades pró-oxidantes deste aminoácido, uma vez que estresse oxidativo é determinante de apoptose (BUTTKE E SANDSTROM, 1994). Por outro lado, tem sido proposto que a Hcy pode alterar mecanismos intrínsecos de neurodegeneração, mas não agir diretamente como uma toxina. Na realidade, evidência experimental revelou que níveis séricos e cerebrais aumentados de Hcy possam não ser suficiente para causar dano neuronal, mas aumentam a suscetibilidade neuronal a vários insultos neurotóxicos. Estas observações indicam que a hiperhomocisteinemia possa representar um fator de risco para o sistema nervoso central.

A doença de Parkinson (DP) caracteriza-se por disfunção e degeneração de neurônios dopaminérgicos na substância nigra, resultando em acinesia progressiva, tremor e rigidez (MARSDEN, 1994). A nível celular, o processo patogênico na DP provavelmente está relacionado a níveis aumentados de estresse oxidativo, disfunção mitocondrial e uma cascata bioquímica de morte celular chamada de apoptose (TATTON, 2000). Vários dados na literatura sugerem um papel importante para fatores genéticos e ambientais na patogênese da DP (LANGSTON, 1998; SILVA et al., 2000). Embora defeitos de genes específicos tenham sido relacionados a um número limitado de pacientes com DP familiar, os fatores mais ligados à fisiopatologia dos casos esporádicos desta doença parecem ser exposição a toxinas (BETARBET et al, 2000), trauma cranioencefálico (TAYLOR et al., 1999), alta ingestão de carboidratos (DUAN E MATTSON, 1999) e baixa ingestão de antioxidantes (DE RIJK et al., 1997). Neste particular, há vários trabalhos mostrando que os níveis de Hcy estão aumentados na DP (KUHN et al., 1998; YASUI et al., 2000), mas não é ainda conhecido se



essa manifestação laboratorial precede ou segue o quadro clínico da doença. Também não se sabe nos casos esporádicos de DP quais fatores (vitamina B12, ácido fólico, etc.) estão mais relacionados ao aumento dos níveis de Hcy e qual a contribuição de cada um na patogênese do dano cerebral nesta doença. Neste particular, o uso de L-DOPA tem sido relacionado ao aumento de Hcy nestes pacientes (MILLER et al., 1997; 2001), embora haja trabalhos que não chegaram a esta conclusão. Desta forma, permanecem pouco conhecidos os fatores determinantes, bem como sua importância, sobre os níveis aumentados de Hcy em pacientes com DP e quais deles apresentam um papel importante na etiologia da disfunção cerebral nesta doença. Assim, é importante investigar associações entre variáveis (fumo, álcool, HAS, etc.) presentes em enfermos com DP para melhor identificar os fatores de risco para esta doença e, portanto, a vulnerabilidade destes a estas alterações para que se possa prevenir o aparecimento da mesma.

A presente investigação demonstrou que os níveis plasmáticos de Hcy estão elevados em cerca de 30 % nos pacientes com DP, quando comparados com os de controles normais da mesma faixa etária. Embora não se saiba com exatidão os mecanismos responsáveis pela instalação da DP e se o aumento da Hcy contribui para a instalação e desenvolvimento desta doença, foi demonstrado que a Hcy pode ser rapidamente incorporada em neurônios por um transportador específico da membrana dessas células (GRIEVE et al., 1992) e níveis cerebrais elevados de Hcy podem causar quebras nas fitas de DNA por prejudicar o ciclo de metilação do DNA (BLOUNT et al., 1997). Assim, é razoável supor-se que a nossa amostra de pacientes apresentou níveis cerebrais elevados de Hcy. Neste particular, o cérebro parece ser particularmente vulnerável a altos níveis de Hcy sérica, porque faltam duas rotas metabólicas para a sua eliminação, a remetilação por betaína e a transsulfuração (FINKELSTEIN, 1998). Alguns mecanismos de possíveis efeitos deletérios da Hcy no cérebro foram descritos. A Hcy provoca o estresse oxidativo que parece estar relacionado com a oxidação de seu grupo sulfidríla resultando na produção de superóxido e peróxido de hidrogênio (WALL et al., 1980), bem como diminui a atividade da enzima glutatona peroxidase (UPCHURCH et al., 1997). A Hcy também funciona como um aminoácido

excitatório, ativando os receptores glutamatérgicos metabotrópicos do tipo I (LAWAREWICZ et al., 2003) e NMDA (LIPTON et al., 1997). Os derivados da Hcy, ácidos homocisteico e cisteico, também são agonistas dos receptores glutamatérgicos ionotrópicos e metabotrópicos (PARSON et al., 1998; SHI et al., 2003). Por outro lado, a Hcy promove apoptose, provavelmente através de quebras na fita de DNA devido a transmetilação comprometida (KRUMAN et al., 2000) e, possivelmente, por espécies reativas de oxigênio (CHERN et al., 2001). Tem sido também verificado que a Hcy é um fator de risco para atrofia cerebral em idosos (SACHDEV et al., 2002) e para a doença de Alzheimer, por aumentar o acúmulo do peptídeo  $\beta$ -amilóide e promover a fosforilação anormal da proteína tau (KRUMAN et al., 2002; HO et al., 2002). Outros mecanismos de neurotoxicidade da Hcy são o comprometimento do metabolismo energético cerebral e a inibição da atividade da enzima  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATPase (STRECK et al., 2002, 2003).

Verificamos por análise utilizando regressão múltipla que a deficiência de folato em nossa amostra de pacientes foi provavelmente o fator mais determinante dos níveis séricos elevados de Hcy. Neste particular, foi demonstrado em um modelo experimental animal de DP que a deficiência de folato, aliada a níveis elevados de Hcy, é determinante de degeneração em neurônios dopaminérgicos (DUAN et al., 2002). Verificamos também nos controles uma correlação inversa dos níveis séricos de vitamina B12 com os de Hcy, sugerindo que nos indivíduos normais a vitamina B12 foi determinante dos níveis de Hcy. No entanto, convém enfatizar que os níveis séricos elevados de Hcy não explicam necessariamente a neuropatogênese dos pacientes afetados por DP.

Os níveis séricos de Hcy aumentam com a idade (ANDERSON et al., 1992) possivelmente devido ao comprometimento da função renal, que é dependente da idade, ou então devido à diminuição da atividade da enzima cistationina- $\beta$ -sintase (MELEADY e GRAHAM, 1990). O aumento dos níveis séricos de Hcy nos pacientes com DP não foram devidos à diferença de idade com os controles, mas identificamos que dentro de cada grupo (controles e DP) a idade foi proporcional aos níveis desse aminoácido, confirmando resultados anteriores. No entanto,

verificamos em nosso trabalho que a variação dos níveis de Hcy, ao longo da idade, não se deveu à filtração glomerular diminuída, medida pelos níveis de creatinina nos pacientes e nos controles.

Tem sido descrito que o fumo está associado com níveis séricos elevados de Hcy (JACQUES et al., 2001; BAZZANO et al., 2003) e com o risco de desenvolver DP (QUIK, 2004). Em nosso estudo verificamos que os níveis séricos de Hcy tiveram um aumento não significativo nos pacientes com DP em uso de tabaco, em relação aos controles e que os níveis séricos de ácido fólico estavam significativamente diminuídos nestes pacientes. Neste contexto, foi recentemente demonstrado que a deficiência de folato leva a um aumento dos níveis de Hcy e à sensibilização de neurônios dopaminérgicos à degeneração induzida por MPTP em camundongos (modelo animal de doença de Parkinson), indicando que a deficiência desse nutriente (ácido fólico), associada ou não ao aumento da Hcy, pode modificar a cascata patogênica que ocorre na DP (DUAN et al., 2002). Outros estudos mostraram que o aumento nas concentrações de Hcy e a redução do ácido fólico estão associados com um comprometimento cognitivo em idosos (MOOIJART et al., 2005). Além disso, a associação do tabagismo, com níveis elevados de Hcy foi verificada em pacientes com DP portadores do polimorfismo C677T, sendo proposto que a associação deste polimorfismo com o fumo poderia aumentar o risco de DP para fumantes (DE LAU et al., 2005). Entretanto, resultados opostos surgiram de estudos epidemiológicos mostrando que o fumo está associado com uma baixa incidência de DP, sugerindo que a nicotina possa exercer um papel protetor ao estimular o sistema cerebral dopaminérgico aliviando os sintomas dos doentes (QUIK, 2004). Desta forma, a influência do fumo sobre a DP necessita ser melhor esclarecida.

Os níveis de Hcy estão aumentados no alcoolismo crônico (CRAVO et al., 1996; VAN DER GAAG et al., 2000), contudo esses níveis se regularizaram na abstinência do álcool por duas semanas (HULTBERG et al. 1993). Em nosso estudo, nenhum paciente era alcoólatra, mas pudemos constatar um aumento significativo dos níveis de Hcy, nos pacientes que usavam álcool socialmente. Esses níveis aumentados não foram devidos a alterações na função hepática, pois esta foi normal em todos os indivíduos com DP. Foi previamente sugerido

que o aumento de Hcy nos indivíduos que usam bebidas alcoólicas pode dever-se a uma deficiência de folato, bem como da redução da atividade da enzima metionina sintase causada pelo acetaldeído, um derivado do etanol (BLEICH et al., 2000; BARAK et al., 2001). O uso crônico do álcool leva a atrofia cortical e subcortical e foi recentemente sugerido que esta atrofia poderia ser, ao menos parcialmente, devida a hiperhomocisteinemia induzida pelo álcool (BLEICH et al., 2004).

Por outro lado, foi demonstrado que o uso de L-DOPA e a duração da doença nos pacientes está associado a níveis elevados de Hcy, sendo proposto que a hiperhomocisteinemia é causada por tratamento por L-DOPA (KUHN et al., 1998; YASUI et al., 2000; MULLER et al., 1999; ROGER et al., 2003; RELIGA et al., 2006; HASSIN-BAER et al., 2006). Foi também proposto que quanto mais longa a duração da doença, mais L-DOPA os pacientes ingerirão (RELIGA et al., 2006). Em nosso estudo, não detectamos associação entre o uso de L-DOPA, bem como da duração da doença com os níveis de Hcy, o que talvez possa ter ocorrido pelo tamanho relativamente pequeno de nossa amostra de pacientes. No entanto, outros estudos também não demonstraram associação entre o uso de L-DOPA e níveis plasmáticos de Hcy (BLANDINI et al., 2001; TODOROVIC et al., 2006). Podemos então concluir que não há uma clara correlação entre o uso de L-DOPA ou duração da doença com os níveis séricos de Hcy.

Por outro lado, foi verificado que a hiperhomocisteinemia está associada ao comprometimento da cognição e demência na DP (O`SUILLEABHAIN et al., 2004), embora outro estudo recente não comprovasse esta associação (HASSIN-BAER et al., 2006). Este aspecto não foi examinado em nosso trabalho.

Concluindo, a literatura tem demonstrado que a hiperhomocisteinemia é o resultado da combinação de muitos fatores ambientais, principalmente metabólicos, mas também genéticos e farmacológicos. Não está ainda completamente estabelecido que níveis elevados de Hcy promovam processos neurodegenerativos, mas presume-se que níveis elevados deste aminoácido possam tornar o cérebro mais vulnerável a doenças relacionadas com a idade, entre elas a DP. No entanto, mais estudos principalmente prospectivos são necessários para desvendar se os níveis de Hcy elevados, associados ou não a

outras alterações bioquímicas e/ou genéticas (polimorfismos ou outras mutações) na DP, são causa (fator de risco) ou conseqüência do desenvolvimento desta doença. Neste contexto, não se pode excluir a possibilidade de que níveis baixos de ácido fólico contribuam para a neurodegeneração na DP, já que foi demonstrado que a deficiência dessa vitamina é um fator determinante da atrofia cortical na doença de Alzheimer, cujos níveis plasmáticos de Hcy também se encontram elevados (SNOWDOWN et al., 2000; HEIJER et al., 2003). A deficiência de ácido fólico também está associada à degeneração do sistema nervoso central em outras doenças neurodegenerativas (BOTTIGLIERI, 1996). No que se refere à vitamina B12, foi também observado que a deficiência desta vitamina pode causar confusão, mudanças de personalidade, ataxia, demência e dano neurológico (ROWLAND, 1995; LINDENBAUN et al., 1988). Tendo em vista que indivíduos com déficit cognitivo severo, portadores ou não da doença de Alzheimer, apresentam níveis elevados de Hcy (CLARKE et al., 1998; LEHMANN et al., 1999), é possível que a Hcy seja um fator de risco para a demência que atinge uma percentagem considerável de pacientes com DP. Além disso, a deficiência de ácido fólico também pode causar neurodegeneração (BOTTIGLIERI, 1996). Portanto, não se pode excluir a possibilidade de que níveis plasmáticos elevados de Hcy associados à deficiência de ácido fólico possam agir sinergicamente provocando dano no sistema nervoso central. Finalmente, uma vez que níveis elevados de Hcy podem ser normalizados por suplementação dietética de ácido fólico, estas observações levam à possibilidade de que uma terapia de baixo custo e bem tolerada possa ser efetiva em diminuir a incidência da DP ou de suas complicações, como o déficit cognitivo.

## 6. CONCLUSÕES

1. As concentrações plasmáticas de homocisteína (Hcy) foram significativamente maiores nos afetados pela doença de Parkinson (DP) do que nos controles normais, enquanto os níveis séricos de vitamina B12, ácido fólico, uréia, creatinina e ácido úrico e a idade não diferiram entre os dois grupos.

2. Os níveis plasmáticos de Hcy estavam correlacionados positivamente com a idade nos pacientes com DP.

3. Não detectamos nenhuma influência do sexo sobre os níveis de Hcy, vitamina B12, ácido fólico ou ácido úrico nos indivíduos com DP, embora as concentrações séricas de uréia e creatinina foram significativamente superiores nos homens com DP.

4. Nos parkinsonianos, o uso de bebidas alcoólicas estava relacionado com o aumento dos níveis plasmáticos de Hcy, sem que os níveis séricos de vitamina B12, ácido fólico, uréia, creatinina e ácido úrico variassem com o uso do álcool. Por outro lado, os níveis séricos de ácido úrico, foram significativamente superiores nos indivíduos normais em uso de álcool, sem qualquer outra alteração dos níveis de Hcy e dos outros parâmetros bioquímicos estudados.

5. A hipertensão arterial sistêmica (HAS) não se correlacionou com alteração dos níveis séricos de Hcy, ácido fólico, vitamina B12 e ácido úrico. No entanto a idade e os níveis de uréia foram significativamente maiores nos hipertensos com DP e nos indivíduos controle com HAS.

6. A diabetes mérito não interferiu em nenhum dos parâmetros bioquímicos analisados nos pacientes com DP e nos indivíduos controle. No entanto os níveis de Hcy foram 50 % maiores nos controles com diabetes, não atingindo significância pelo número pequeno de amostras e pela alta variabilidade dos dados;

7. Uma diminuição significativa dos níveis séricos de ácido fólico, bem como um decréscimo não significativo da vitamina B12 e aumento não significativo da Hcy, ocorreu com os pacientes com DP que fumavam ativamente. Os indivíduos controle que fumavam ativamente apresentaram uma tendência

não significativa de aumento da Hcy e uma diminuição significativa do ácido fólico e da vitamina B12.

8. Os pacientes com DP apresentaram níveis séricos de Hcy significativamente superiores ao dos controles, quando os níveis de ácido fólico eram inferiores a 13 ng/mL, o mesmo não ocorrendo quando os níveis de ácido fólico foram superiores a 13 ng/mL. Tais resultados sugerem que o déficit de ácido fólico possa estar envolvido nas diferenças encontradas entre os níveis maiores Hcy observados nos pacientes com DP relativamente aos controles.

9. Os níveis plasmáticos de Hcy, bem como nos outros parâmetros bioquímicos analisados não foram significativamente diferentes em nossos pacientes com DP em uso ou não de L-DOPA, o mesmo ocorrendo com a duração da doença.

10. Os níveis plasmáticos de Hcy se correlacionam positivamente com a idade e com os níveis séricos de ácido úrico e negativamente com os níveis séricos de ácido fólico nos pacientes com DP. Já nos controles, a Hcy se correlacionou significativamente apenas com a vitamina B12 de forma inversa.

11. A regressão múltipla mostrou que nos indivíduos com DP os níveis plasmáticos de Hcy estão associados negativamente com os de ácido fólico e positivamente com a idade, mas não com os níveis de vitamina B12. Já nos controles os níveis plasmáticos de Hcy são determinados pelos de vitamina B12, mas não pelos de ácido fólico ou pela idade.

## REFERÊNCIAS

ANDERSON A., BRATTSTROM L., ISRAELSSON B., ISAKSSON A., HAMFELT A. And HULTBERG B. Plasma homocysteine before and after methionine loading with regard to age, gender, and menopausal status. *Eur. J. Clin. Invest.* 22:79-87, 1992.

ANDERSON A, LINDGREN A, HULTBERG B. Effect of thiol oxidation and thiol export from erythrocytes on determination of redox status of homocysteine and other thiols in plasma from healthy subjects and patients with cerebral infarction. *Clin. Chem.* 41:361-366, 1995.

BARAK AJ, BECKENHAUER HC, KHARBANDA KK, TUMA DJ. Chronic ethanol consumption increases homocysteine accumulation in hepatocytes. *Alcohol.* 2:77-81, 2001.

BAZZANO L.A., HE J., MUNTER P., VUPPUTURI S., WHELTON P.K. Relationship between cigarette smoking and novel risk factors for cardiovascular disease in United States. *Ann. Intern. Med.* 138: 891-897, 2003.

VAN DEN BERG M., VAN DEN KNAAP M. S., BOERS G. H., STEHOUWER C. D., RAUWERDA J. A. and VALK J. N. Hyperhomocysteinaemia; with reference to its neuroradiological aspects. *Neuroradiology* 37:403-411, 1995.

BETARBET R., SHERER T. B., MACKENZIE G., GARCIA-OSUNA M., PANOV A. V. and GREENAMYRE J. T. Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease. *Nat. Neurosci.* 3:1301-1306, 2000.

BLANDINI F., FANCELLU R., MARTIGNONI E., ET AL. Plasma homocysteine and 1-dopa metabolism in patients with Parkinson disease. *Clin. Chem.* 47:1102-1104, 2001.

BLEICH S., DEGNER D., BANDELOW B., VON AHSEN N., RUTHER E., KORNHUBER J., Plasma homocysteine is a predictor of alcohol withdrawal seizures. *Neuroreport.* 11:2749-2752,2000.

BLOM H. J. Determinants of plasma homocysteine. *Am. J. Clin. Nutr.* 67:188-189, 1998.

BLOUNT B.C., MACK M. M., WEHR C. M., MACGREGOR J. T., HIATT R. A., WANG G., WICKRAMASINGHE S. N. EVERSON R. B. AND AMES B. N. Folate deficiency causes uracil misincorporation into human DNA and chromosome breakage: implication for cancer and neuronal damage. *Proc. Natl. Acad. Sci. Usa* 94:3290-3295, 1997.



BOSTOM AG, CULLETON BF. Hyperhomocysteinaemia in chronic renal disease renal disease. *J. Am. Soc. Nephrol.* 10:891-900, 1999.

BOTTIGLIERI T. Folate, vitamin B12 and neuropsychiatric disorders. *Nutr. Rev.* 54:382-390, 1996.

BRATTSTROM L., WILCKEN D.E., OHRVIK J. AND BRUDIN L. Common methylenetetrahydrofolate reductase gene mutation leads to hyperhomocysteinemia but not to vascular disease: the result of a meta-analysis. *Circulation* 98:2520-2526, 1998.

BREE A., VERSCHUREN W. M., BLOM H. J. , KROMHOUT D. Association between B vitamin intake and plasma homocysteine concentration in the general Dutch population aged 20-65 y. *Am. J. Clin. Nutr.* 73:1027-33, 2001.

BREE A., MONIQUE V. W. M., DAAN K., LEO A. J. KLUIJTMANS, AND HENK J. BLOM. Homocysteine e determinantes and the evidence to what extent homocysteine determines the risk of coronary hert disease. *Pharmacol. Rev.* 54:599-618, 2002.

BROUWER I.A., VAN DUSSSELDORP M., THOMAS C.M.G., DURAN M., HAUTVAST J.G.A.J. , ESKES T.K.A.B., AND STEEGERS THEUNISSEN R.P.M. Low-dose folic acid supplementation decreases plasma homocysteine concentrations: a randomized trial. *Am. J. Clin. Nutr.* 69:99-104, 1999.

BUTTKE T.M., SANDSTROM P.A. Oxidative stress as a mediator as a mediator of apoptosis. *Immunol Today* 15:7-10, 1994.

CHER C. L., HUANG R.F., CHEN Y.H., CHENG J.T., LIU T.Z. Folate deficiency-induced oxidative stress and apoptosis are cognitive mediated via homocysteine-dependent overproduction of hydrogen peroxide and enhanced activation of NF-kappa B in human Hep G2 cells. *Biomed Pharmacother.* 55:434-442, 2001.

CHRISTENSEN B., MOSDOL A., RETTERSTOL L., LANDAAS S., and THELLE D. S. Abstention from filtered coffee reduced the concentrations of plasma homocysteine and serum cholesterol-a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 74:303-307, 2001.

CLARKE R . and ARMITAGE J. Vitamin supplements and cardiovascular risk: review of the randomized trials of homocysteine-lowering vitamin supplements. *Semin Thromb. Hemost.* 26:341-348, 2000.

CLARKE R., SMITH A.D., JOBST K.A., REFSUM H., SUTTON L., UELAND P.M., Folate, vitamin B12, and serum total homocysteine levels in confirmed Alzheimer disease. *Arch. Neurol.* 55:1449-1455, 1998.

CONRADT. B. Cell biology: Mitochondria shape up. *Nature*, 443:646-7, 2006.

CRAVO M.L., GLÓRIA L.M., SELHUB J., NADEAU M.R., CAMILO M.E., RESENDE M.P., NEVES CARDOSO J., NOBRE LEITAO C., COSTA MIRA F. Hyperhomocysteinemia in chronic alcoholism: correlation with folate, vitamin B-12, and vitamin B-6 status. *Am. J. Clin. Nutr.* 63:220-224, 1996.

DAVIS & GECK. The ventricles of the brain. *Atlas de anatomia.* 15, 1974

DUAN W. and MATTSON M.P. Dietary restriction and 2-deoxy-glucose administration improve behavioral outcome and reduce degeneration of dopaminergic neurons in models of Parkinson's disease. *J. Neurosci. Res.* 57:195-206, 1999.

DUAN W., LADENHEIN B., CUTLER R.G., KRUMAN I. I., CADET J. L., MATTSON M.P., Dietary folate deficiency and elevated homocysteine levels endanger dopaminergic neurons in models of Parkinson's disease. *J. Neurochem.* 80:101-110, 2002.

FINKELSTEIN J.D. E J.J. MARTIN. Methionine metabolism in mammals. Adaptation to methionine excess. *J.Biol. Chem.* 261:1582-1587, 1986.

FOWLER B., R.B. SCHUTGENS, D.S. ROSEMBLATT et al. Folate-responsive homocystinuria and megaloblastic anaemia in a female patient with functional methionine synthase deficiency (cblE disease). *J Inherit Metab Dis*, 20:731-741, 1987.

FRISO S, CHOI SW, GIRELLI D, MASON JB, DOLNIKOWSKI GG, BAGLEY PJ, OLIVIERI O, JACQUES PF, ROSENBERG IH, CORROCHER R, SELHUB J. A common mutation in the 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase gene affects genomic DNAmethylation through an interaction with folate status. The Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A, 99:5606-5611, 2002.

VAN DER GAAG M., UBBINK J.B., SILLANAUKKEE P., NIKKARI S., HENDRIKS H.F.J. Effect of consumption of red wine, spirits, and beer on serum homocystein. *Lancet* 355:15-22, 2000.

GILES W.H., KITTNER S.J., ANDA R.F., CROFT J.B. and CASPER M.L. Serum folate and risk for ischemic stroke. First National Health and Nutrition Examination Survey epidemiologic follow-up study. *Stroke* 26:1166-1170, 1995.

GILLET M.J., BURNETT J.R. Alcohol-associated severe hyperhomocysteinemia. *Ann. Clin. Biochem.* 42:304-307, 2005.

GILTRAY E.J, HOOGEVEEN E.K. ELBERS J.M, et al. Effects of sex steroids on plasma total homocysteine levels: a study in transsexual males and females. *J Clin Endocrinol*, 83:550-555, 1998.

GILLHAM, B., PAPACHIRSTODOULOU, D.K., THOMAS, J.H. Will's: biochemical basis of medicine. 3. ed. Oxford: Reed Educational and Professional Publishing Ltd. 22:196-202, 1997.

GOODWIN, J.S., GOODWIN, J.M. and GARRY, P.J. Association between nutritional status and cognitive functioning in a healthy elderly population. *JAMA* 249:2917-2921, 1983.

GRAHAM IM, O'CALLAGHAM P. Vitamins, homocysteine and cardiovascular risk. *Cardiovasc. Drugs. Ther.* 16:383-389, 2002.

GREENBLATT J. M., HUFFMAN L. C. and REISS A. L. Folic acid in neurodevelopment and child psychiatry. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 18:647-660, 1994.

GREGORY P, HAYEK R, MANN-HAYEK A. Correlating motion palpation with functional x-ray findings in patients with low back pain. *Australas Chiropr Osteopathy.* 7:15-9, 1998.

GRIEVE , A., BUTCHER , S.P., GRIFFITHS, R. Symptosomal plasma membrane transport of excitatory sulphur amino acid transmitter candidates: kinetic characterisation and analysis of carrier specificity. *J Neurosci Res*, 32:60-68, 1992.

GRUBBEN M. J., BOERS G.H., BLOM H. J., BROEKHUIZEN R., DE JONG R., VAN RIJT J., DE REUIJTER E., SWINKELS D. W., NAGENGAST F. M., AND KATAN M. B. Unfiltered coffee increases plasma homocysteine concentrations in healthy volunteers; a randomized trial. *Am. J. Clin. Nutr.* 71: 480-484, 2000.

HANG. H. P., DALE M., RITTER J.M., MOORE P.K. Tradutores: Patrícia Lydie Voeux, Antonio José Magalhães da Silva Moreira. *Farmacologia. – Rio de Janeiro: Elsevier*, 2004.

HASSIN-BAUER S., COBEN O., VAKIL E., SELA B., NITAN Z., SCHWARTZ R., CHAPMAN J. AND TANNE D. Plasma homocysteine levels and Parkinson's disease: disease progression, carotid intima-media thickness and neuropsychiatric complications. *Clin. Neuropharmacol.* 29:305-311, 2006.

HAYNES WG. Hyperhomocysteinemia, vascular function and atherosclerosis: effects of vitamins. *Cardiovasc. Drugs. Ther.* 16:391-399, 2002.

HEIJER T.D, VERMEER SE, CLARKE R, OUDKERK M, KOUDSTAAL PJ, HOFMAN A, BRETELER MM. Homocysteine and brain atrophy on MRI of non-demented elderly. *Brain* 126:170-175, 2003.

HERRMANN, W. et al. Role of homocysteine, cystathionine and methylmalonic acid measurement for diagnosis of vitamin deficiency in high-aged subjects. *Eur. J. Clin. Invest.* 30 :1083-9,2000.

HIRAYAMA, M.S. Atividade física e doença de Parkinson: mudança de comportamento, auto-eficácia e barreiras percebidas. 2006. 121 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Motricidade) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro. 2006.

HO, P.I., ORTIZ, D., ROGERS, E., SHEA, T.B. Multiple aspects of homocysteine neurotoxicity: glutamate excitotoxicity, kinase hyperactivation and DNA damage. *J. Neurosci. Res.* 70:694-702, 2002.

HOMOCYSTEINE LOWERING TRIALISTS' COLLABORATION. Lowering blood homocysteine with folic acid based supplements: metaanalysis of randomised trials. *BMJ.* 316:894-898, 1998.

HULTBERG B., BERDLUNG M., ANDERSSON A., FRANK A. Elevated plasma homocysteine in alcoholics. *Alcohol.Clin.Exp. Res.* 17:687-689, 1993.

ICHINOHE, A., KANAUMI, T., TAKASHIMA, S., ENOKIDO, Y., NAGAI, Y., KIMURA, H. Cystathionine beta-synthase is enriched in the brains of Down's patients. *Biochem Biophys Res Commun.* 338:1547-1550, 2005.

ISOBE C, MURATA T, SATO C, TERAYAMA Y. Increase of total homocysteine concentration in cerebrospinal fluid in patients with Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *Life Sci.* 15:1836-1843, 2005.

KIRKE, P.N. et al. Maternal plasma folate and vitamin B12 are independent risk factors for neural tube defects. *QJ Méd.* 86:703-708, 1993.

KLEE, G.G. Cobalamin and folate evaluation: measurement of methylmalonic acid and homocysteine vs vitamin B(12) and folate. *Clin Chem.* 46:1277-1283, 2000.

KLODOWSKA-DUDA G, JASIŃSKA-MYGA B, SAFRANOW K, BOCZARSKA-JEDYNAK M, OPALA G. The role of environmental factors in Parkinson's disease may depend on disease onset age. *Neurol Neurochir Pol.* 39:445-450, 2005.

KOEHLER K.M., BAUMGARTNER R. N., GARRY P. J., ALLEN R. H., STABLER S.P. and RIMM E. B. Association of folate intake and serum homocysteine in elderly persons according to vitamin supplementation and alcohol use. *Am. J. Clin. Nutr.* 73:628-637, 2001.

KRUMAN I. I., CULMSSE C., CHAN S. L., KRUMAN Y., GUO Z., PENIX L. And MATTSON M. P. Homocysteine elicits a DNA damage response in neurons that promotes apoptosis and hypersensitivity to excitotoxicity. *J. Neurosci.* 20:6920-6926, 2000.

KUHN W., ROEBROEK R., BLOM H., VAN OPPENRAAIJ D., PRZUNTEK H., KRETSCHMER A., BUTTNER T., WOITALLA D. and MULLER T. Elevated plasma levels of homocysteine in Parkinson's disease. *Eur. Neurol.* 40:225-227, 1998.

LAMBERTI P, ZOCCOLELLA S, ARMENISE E, LAMBERTI SV, FRADDOSIO A, DE MARI M, ILICETO G, LIVREA P. Hyperhomocysteinemia in L-dopa treated Parkinson's disease patients: effect of cobalamin and folate administration. *Eur. J. Neurol.* 12:365-368, 2005.

LANGSTON J. W. Epidemiology versus genetics in Parkinson's disease: progress in resolving an age-old debate. *Ann. Neurol.* 44:S45-S52, 1998.

LAU L.M., KOUDSTAAL P.J., VAN MEURS J.B.J., UITTERLINDER A.G., HOFMAN A., BRETELER M.M.B., Methylenetetrahydrofolate reductase C677T genotype and PD. *Ann Neurol.* 57:927-30, 2005.

LAZAREWICZ JW, ZIEMBOWICZ A, MATYJA E, STAFIEJ A, ZIEMINSKA E. Homocysteine-evoked <sup>45</sup>Ca release in the rabbit hippocampus is mediated by both NMDA and group I metabotropic glutamate receptors: in vivo microdialysis study. *Neurochem Res.* 2:259-269, 2003.

LEHMANN M., GOTTFRIES C.G., REGLAND B. Identification of cognitive impairment in the elderly: homocysteine is an early marker. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* 10:12-20, 1999.

LIEVERS KJ KLUIJTMANS LA, HEIL SG, et al. Cystathionine betasynthase polymorphisms and hyperhomocysteinemia: no association study. *Eur. J. Hum. Genet.* 11:23-29, 2003.

LINDENBAUM J., HEALTON E.B., SAVAGE D.G., Neuropsychiatric disorders caused by cobalamin deficiency the absence of anemia or macrocytosis. *N. Engl. J. Med.* 318:1720-1728, 1988.

LIPTON, S. A., KIM, W.K., CHOI, Y.B., KUMAR, S., D'EMILIA, D.M., RAYUDU, P.V., ARNELLE, D.R., STAMLER, J.S. Neurotoxicity associated with dual actions of homocysteine at the N-methyl-D-aspartate receptor. *The Proceedings of the National Academy of Science U.S.A*, 94:5923-5928, 1997.

LIESUY, Susana Francisca. Introducción y Espécies Activas de Oxígeno. MARRONI, Norma Possa (org.). Estresse Oxidativo e antioxidante. Canoas: Ed. ULBRA, 2002.

LUSSIER CACAN S., XHIGNESSE M., PIOLOT A., SELHUB J., DAVIGNON J., and GENEST J. JR. Plasma total homocysteine in healthy subjects: sex-specific relation with biological traits. *Am. J. Clin. Nutr.* 64:587-593, 1996.

LY, C. V. VERSTREKEN, P. Mitochondria at the synapse. *Neuroscientist*, 12:291-299, 2006.

MARJAM-LYONS, Jill. SHOMON, Mary J. What your doctor may not tell you about Parkinson's disease: A Holistic Program for Optimal Wellness. Warner Books, Inc., 1271 Avenue of the Americas, New York, NY 10020, 2003.

MARSDEN C. D. Parkinson's disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 57:672-681, 1994.

MILLER J. W., SHUKITT-HALE B., VILLALOBOS-MOLINA R., NADEAU M. R., SELHUB J. and JOSEPH J. A. Effect of 1-dopa and the catechol-O-methyltransferase inhibitor Ro 41-0960 on sulfur amino acid metabolites in rats. *Clin. Neuropharmacol.* 20:55-66, 1997.

MOLLACE V, IANNONE M, MUSCOLI C, PALMA E, GRANATO T, RISPOLI V, NISTICÒ R, ROTIROTI D, SALVEMINI D. The role of oxidative stress in paraquat-induced neurotoxicity in rats: protection by non peptidyl superoxide dismutase mimetic. *Neurosci Lett.* 335:163-166, 2003

MORETTI R, TORRE P, ANTONELLO RM, CATTARUZZA T, CAZZATO G, BAVA A. Vitamin B12 and folate depletion in cognition: a review. *Neurol India.* 52:310-318, 2004.

MOOIJART S.P., GUSSEKLOO J., FROLICH M., JOLLES J., STOTT D. J., WESTENDORP R.G., ET AL. Homocysteine, vitamin B12, and folic acid and the risk of cognitive decline in old age: the Leiden 85-Plus study. *Am. J. Clin. Nutr.* 82:866-71, 2005.

MUDD S.H. , LEVY H.L. and SKOVBY F. Disorders of transsulfuration, in *The Metabolic Basis of Inherited Disease* (Scriver CR, Baudet AL, Sly WS and Valle Deds) 693-734, McGraw-Hill, New Work, 1989.

MULLER T., WERNE B., FOWLER B., KUHN W., Nigral endothelial dysfunction, homocysteine, and Parkinson's disease. *Lancet.* 354:126-127. 1999

MULLER T., WOITALLA D., HAUPTMANN B., FOWLWE B. and KUHN W. Decrease of methionine and S-adenosylmethionine and increase of homocysteine in treated patients with Parkinson's disease. *Neurosci. Lett.* 308:54-56, 2001.

NORLUND L., GRUBB A., FEX G., LEKSELL H., NILSSON J. E., SCHENCK H., and HULTBERG B. The increase of plasma homocysteine concentrations with age is partly due to the deterioration of renal function as determined by plasma cystatin C. *Clin. Chem. Lab. Med.* 36:175-178, 1998.

NURK, E., REFSUM H., TELL, G.S., ENGEDAL, K., VOLLSET, S.E., UELAND P.M., NYGAARD, H.A. and SMITH, A.D. Plasma total homocysteine and memory in the elderly: The Hordaland homocysteine study. *Ann. Neurol.* 58:847-857, 2005.

O' SUILLEABHAIN P.E., SUNG V., HERNANDEZ C., LACRITZ L., DEWEY JR. R.B., BOTTIGLIERI T., DIAZ-ARRASTIA R. Elevated plasma homocysteine level in patients with Parkinson disease: motor, affective, and cognitive associations. *Arch. Neurol.* 61:865-868, 2004.

PANIZ C., GROTTA D., SCHMITT G.C. VALENTINI J., SCHOTT K.L., POMBLUM V.J., GARCIA S.C. Fisiopatologia da deficiência da vitamina B12 e seu diagnóstico laboratorial. *J. Bras. Patol. Med. Lab.*41:323-34, 2005.

PARSONS R.B, WARING R.H, RAMSDEN D.B, WILLIAMS A.C. In vitro effect of the cysteine metabolites homocysteic acid, homocysteine and cysteic acid upon human neuronal cell lines. *Neurotoxicology.* 19:599-603, 1998

POLYMEROPOULOS MH, LAVEDAN C, LEROY E, IDE SE, DEHEJIA A, DUTRA A, PIKE B, ROOT H, RUBENSTEIN J, BOYER R, STENROOS ES, CHANDRASEKHARAPPA S, ATHANASSIADOU A, PAPAPETROPOULOS T, JOHNSON WG, LAZZARINI AM, DUVOISIN RC, DI IORIO G, GOLBE LI, NUSSBAUM RL. Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science.* 276:2045-2047, 1997.

QUIK M. Smoking, nicotine and Parkinson's disease. *Trends Neurosci.* 27:561-568, 2004.

RAY J.G. Meta-analysis of hyperhomocysteinemia as a risk factor for venous thromboembolic disease. *Arch. Intern. Med.* 158:2101-2106, 1998.

REFSUM H. and UELAND P.M. Recent data are not in conflict with homocysteine as a cardiovascular risk factor. *Curr. Opin Lipidol.* 9:533-539, 1998.

RELIGA D., CZYEWSKI K., STYCZNSKA M., PEPLONSKA B. LOKK J., CHODAKOWSKA-ZEBROWSKA M., STEPIEN K., WINBLAD B., BARCIKOWSKA M. Hyperhomocysteinemia and methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism in patients with Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 404: 56-60, 2006.

RIJK M.C., BRETELIER M.M., DEN BREEIJEN J.H., LAUNER L.J., GROBBEE D.E., VAN DER MECHE F.G. AND HOFMAN A. Dietary antioxidants and Parkinson disease. The Rotterdam Study. *Arch. Neurol.* 54:762-765, 1997.

ROGERS J.D., SANCHEZ-SAFFON A., FROL A.B., DIAZ-ARRASTIA, Elevated plasma homocysteine levels in patients treated with levodopa: association with vascular disease. *Arch. Neurol.* 60:59-64, 2003.

ROWLAND L.P., Nutritional disorders: vitamin B12 deficiency, malabsorption, and malnutrition. In: Rowland L.P., ed. *Merritt's Textbook of Neurol.* 9<sup>th</sup> ed. Baltimore, Md: Williams & Wilkins; 945-954, 1990.

SACHDEV P.S, VALENZUELA M, WANG X.L, LOOI J.C, BRODATY H. Relationship between plasma homocysteine levels and brain atrophy in healthy elderly individuals. *Neurology*.58:1539-1541, 2002

SACHDEV, P.S. Homocysteine and brain atrophy. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*. 29, 1152 – 1161, 2005.

SCOTT JM, WEIR DG, MOLLOY A, MCPARTLIN J, DALY L, KIRKE P. Folic acid metabolism and mechanisms of neural tube defects. *Ciba Found Symptons*. 181:180-191, 1994.

SELHUB J., JACQUES P.F., WILSON P.W.F., RUSH D., ROSENBERG I.H. Vitamin status and intake as primary determinantes of homocysteinemia in the elderly. *JAMA*; 270:2693-8, 1993.

SELHUB J, JACQUES PF, ROSENBERG IH, ROGERS G, BOWMAN BA, GUNTER EW, WRIGHT JD, JOHNSON CL. Serum total homocysteine concentrations in the Third National Health and Nutrition Examination Survey (1991-1994): population reference ranges and contribution of vitamin status to high serum concentrations. *Ann. Intern. Med.* 131:331-339, 1999.

SELHUB, J., BAGLEY, L. C., MILLER, J., ROSENBERG, I.H. B vitamins, homocysteine, and neurocognitive funcion in the elderly. *Am. J. Clin. Nutr.* 71:614S-620S, 2000.

SELLEY M.L. Increased concentrations of homocysteine and asymmetric dimethylarginine and decreased concentrations of nitric oxide in the plasma of patients with Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*.24:903-907, 2003.

SESHADRI, S., BEISER, A.,SELHUB , J., JACQUES, P.F., ROSENBERG, I.H., D'AGOSTINO, R.B.,WILSON, P.W., WOLF, P.A. Plasma homocysteine as s risk factor for dementia and Alzheimer's disease. *N Engl J Med*. 346:476-483, 2002.

SHI, Q., SAVAGE, J.E., HUFSEIN, S.J., RAUSER, L., GRAJKOWWSKA, E., ERNSBERGER, P., WROBLEWSKI, J.T., NADEAU. J.H., ROTH, B.L. L-homocysteine sulfinic acid and other acidic homocysteine derivatives are potent and selective metabotropic glutamate receptor agonists. *J Pharmacol Exp Ther*. 5:131-142, 2003.

SIBANI S, CHRISTENSEN B, O' FERRALL E, et al. Characterization of six novel mutations in the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene in patients with homocystinuria. *Hum. Mutat*. 15:280-287, 2000.

SILVA, MARCUS TULIUS TEIXEIRA DA; CAVALCANTI, JOSÉ LUIS DE SÁ; MOREIRA, DENISE MADEIRA. Alterações neurorradiológicas cerebrais na degeneração combinada de medula: relato de caso. *Arq. Neuro-Psiquiatr*



SILVA H. R., KHAN N. L. and WOOD N. W. The genetics of Parkinson's disease. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 10:292-298, 2000.

SNOWDON D.A., TULLY C.L., SMITH C.D, RILEY K.P., MARKESBERY W.R. Serum folate and the severity of atrophy of the neocortex in Alzheimer disease: findings from the Num study. *Am. J. Clin Nutr.* 71:993-998, 2000.

STARKEBAUM G. E J.M. HARLAM. Endothelial cell injury due to copper-catalyzed hydrogen peroxide generation from homocysteine. *J. Clin. Invest.* 77:1370-1376, 1986.

STRECK, E.L., ZUGNO, A.I., TAGLIARI, B., WANNMACHER, C., WAJNER, M. and WYSE, A.T. Inhibition of Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> - ATPase activity by the metabolites accumulating in homocystinuria. *Metab. Brain Dis.* 17, 83 – 91, 2002.

STRECK E.L., DELWING D., TAGLIARI B., MATTE C., WANNMACHER C.M., WAJNER M., AND WYSE A.T. Brain energy metabolism is compromised by the metabolites accumulating in homocystinuria. *Neurochem. Int.* 43:597-602, 2003.

TATTON N. A. Increased caspase 3 and bax immunoreactivity accompany nuclear GAPDH translocation and neuronal apoptosis in Parkinson's disease. *Exp. Neurol.* 166:29-43, 2000.

TAVARES, Almir. AZEREDO, Camilo. Demência com corpos de Lewy: uma revisão para o psiquiatra.

TAYLOR C. A., SAINT-HILAIRE M.H., CUPPLES L.A., THOMAS C. A., BURCHARD A. E., FELDMAN R. G. and MYERS R. H. Environmental, medical, and family history risk factors for Parkinson's disease: a New England-based base control study. *Am. J. Med. Genet.* 88:742-749, 1999.

TODOROVIC Z., DZOLJIC E., NOVAKOVIC I., MIRKOVIC D., STOJANOVIC R., NESIC Z., KRAJINOVIC M., PROSTRAN M., KOSTIC V. Homocysteine serum levels and MTHFH C677T genotype in patients with Parkinson's disease, with and without levopoda therapy. *J. Neurol. Sci.* 248:56-61, 2006.

UPCHURCH G.R., WELCH G.N., FABIAN A.J., FREEDMAN J.E., JOHNSON J.E., KEANY J.F., LOSCALZO J. Homocysteine decreases bioavailable nitric oxide by a mechanism involving glutathione peroxidase. *J. Biol. Chem.* 272:17012-17017, 1997.

VASCOCELLOS, Luiz Felipe Rocha. Et al. Mielopatia por deficiência de vitamina B12 apresentando-se como mielite transversa. *Arq. Neuropsiquiatr* 2002; 60:150-154.

VERMEULEN E.G., STEHOUWER C.D., TWISK J. W., VAN DEN BERG M., JONG S.C., MACKAAY A.J., ET AL. Effect of homocysteine-lowering treatment

with folic acid plus vitamin B6 on progression of subclinical atherosclerosis: a randomised, placebo-controlled trial. *Lancet* 355:517-522, 2000.

WALD D.S., BISHOP L., WALD N.J., LAW M., HENNESSY E., WEIR D., MCPARTLIN J., and SCOTT J. Randomized trial of folic acid supplementation and serum homocysteine levels. *Arch. Intern. Med.* 161:695-700, 2001.

WALL R.T., HARLAM J.M., HARKER L.A., STRIKER G.E. Homocysteine induced endothelial cell injury in vitro: a model for the study of vascular injury. *Thromb. Res.* 18:113-121, 1980.

WATKINS D. and ROSENBLATT D. S. Functional methionine synthase deficiency (cblE and cblG): clinical and biochemical heterogeneity. *Am. J. Med. Genet.* 34:427-434, 1989.

WOLLESEN F, BRATTSTRÖM L, REFSUM H, UELAND PM, BERGLUND L, BERNE C. Plasma total homocysteine and cysteine in relation to glomerular filtration rate in diabetes mellitus. *Kidney Int.* 55:1028-1035, 1999.

WOUTERS M.G., MOORREES M.T., VAN DER MOOREN M.J., BLOM H.J., BOERS G.H., SCHELLEKENS L.A., THOMAS C.M., and ESKES T.K. Plasma homocysteine and menopausal status. *Eur. J. Clin. Invest.* 25:801-805, 1995.

YASUI K., KOWA H., NAKASO K., TAKESHIMA T. and NAKASHIMA K. Plasma homocysteine and MTHFR C6677T genotype in levopoda treated patients with PD. *Neurology* 55:437-440, 2000.

ZIEMINSKA, E., STAFIEJ, A., LAZAREWICZ, J.W. Role of group I metabotropic glutamate receptors and NMDA receptors in homocysteine-evoked acute neurodegeneration of cultured cerebellar granule neurones. *Neurochem. Int.* 43:481-492, 2003.



3. Está usando medicamento? [1] sim [2] não Em caso afirmativo, quais?

Nome comercial Nome farmacológico código dose intervalo de dose

- 1.
- 2.
- 3.

4. Já fez uso de medicamentos para esta doença no passado?[1] sim [2] não.Em caso afirmativo, quais?

Nome comercial Nome farmacológico código dose intervalo de dose

- 1.
- 2.
- 3.

**Motivos para interrupção:** [1] falha [2] efeito adverso (descrever) [3] médico mandou parar [4] achou que estava curado [5] custo [6] outro (descrever) [7] não lembra

5. Houve recomendação de tratamento não-farmacológico? [1] sim [2] não. Em caso afirmativo, quais?

- [1] parar de fumar [4] outro  
 [2] diminuir consumo de álcool [5]  
 [3] fazer exercícios

6. Apresenta outras doenças diagnosticadas? [1] sim [2] não. Em caso afirmativo, quais?

- [1] diabetes melito [5] cardiopatia isquêmica [9] depressão  
 [2] hipotireoidismo [6] insuficiência cardíaca [10] miopatia  
 [3] hipertireoidismo [7] arritmia [11] hepatopatia  
 [4] HAS [8] valvulopatia [12] insuficiência renal  
 [13] AVC [14] Outros : \_\_\_\_\_

7. Doenças na família biológica: (caso afirmativo, registrar a idade de início da doença)

| Doença                | Pai                      | Mãe                      | Irmãos                   | Filhos                   |
|-----------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Dislipidemia          | [1]sim (idade__) [2] não | [1]sim (idade__) [2] não | [1]sim (idade__) [2] não | [1]sim (idade__) [2] não |
| HAS                   | [1]sim (idade__) [2] não | [1]sim (idade__) [2] não | [1]sim (idade__) [2] não | [1]sim (idade__) [2] não |
| Cardiopatia isquêmica | [1]sim (idade__) [2] não | [1]sim (idade__) [2] não | [1]sim (idade__) [2] não | [1]sim (idade__) [2] não |
| AVC                   | [1]sim (idade__) [2] não | [1]sim (idade__) [2] não | [1]sim (idade__) [2] não | [1]sim (idade__) [2] não |
| Diabete melito        | [1]sim (idade__) [2] não | [1]sim (idade__) [2] não | [1]sim (idade__) [2] não | [1]sim (idade__) [2] não |
| Outra doença crônica  | [1]sim (idade__) [2] não | [1]sim (idade__) [2] não | [1]sim (idade__) [2] não | [1]sim (idade__) [2] não |

8. Fuma? [1] sim [2] não fuma, mas fumou \_\_\_\_ cigarros por dia por \_\_\_\_ anos e parou há \_\_\_\_ anos [3] nunca fumou (pule para pergunta 11)

9. O que fuma ?

|                        |              |
|------------------------|--------------|
| [1] cigarro com filtro | [4] charuto  |
| [2] cigarro sem filtro | [5] cachimbo |
| [3] palheiro           | [6]outro     |

10. Bebeu alguma bebida alcoólica na última semana ? [1] sim [2] não

11. Faz uso de outros tratamentos alternativos como dieta, homeopatia, chás ou espiritismo? [1] sim [2] não

Em caso afirmativo, citar:

|     |     |
|-----|-----|
| [1] | [3] |
| [2] | [4] |

12. Tomou algum medicamento na última semana?

| Nome comercial | Nome farmacológico | código | dose | intervalo de dose | indicação |
|----------------|--------------------|--------|------|-------------------|-----------|
|----------------|--------------------|--------|------|-------------------|-----------|

- 1.
- 2.
- 3.
- 4.

Se o paciente for do sexo masculino pular para questão 21.

14. Já esteve grávida? [1]sim [2]não

15. Gestações: \_\_\_\_ Partos normais: \_\_\_\_ Partos cesáreos: \_\_\_\_ Abortos espontâneos: \_\_\_\_ Abortos provocados: \_\_\_\_

16. Teve hipertensão na gravidez? [1] sim [2] não [3] não sabe [4] não se aplica

17. Faz uso de métodos anticoncepcionais? [1] sim [2] não ( 3 ) Não se aplica

18. Qual(is) método(s) está usando?

[1] preservativo masculino

[4] DIU

[7] método hormonal

[2] preservativo feminino

[5] diafragma

[8] não se aplica

[3] ligadura tubária

[6] vasectomia

19. Se usa ou usou pílula, preencha o quadro:

|    | Nome comercial | Nome farmacológico | código | data de início | data de término |
|----|----------------|--------------------|--------|----------------|-----------------|
| 1. |                |                    |        |                |                 |
| 2. |                |                    |        |                |                 |
| 3. |                |                    |        |                |                 |
| 4. |                |                    |        |                |                 |

### Exame físico

20. Pressão arterial

21. Peso: \_\_\_\_\_ kg

22. Altura: \_\_\_\_\_ m

23. IMC :

24. Escalas de Avaliação para doença de Alzheimer

CDR -

25. Escalas de Avaliação para doença de Parkinson

Hoehn e Yahr -

UPDRS -

## 26. Escalas de Avaliação para Síndromes Parkinsonianas

UPDRS -

**Exames Complementares**

27. Creatinina: \_\_\_\_\_ Uréia

28. Outros exames realizados:

[1] hemograma

[3] homocisteína

[2] ácido fólico

[4] vitamina B12

29. Tratamento farmacológico mantido:

|    | Nome comercial | Nome farmacológico | código | dose | intervalo de dose | SES?            |
|----|----------------|--------------------|--------|------|-------------------|-----------------|
| 1. |                |                    |        |      |                   | [1] sim [2] não |
| 2. |                |                    |        |      |                   | [1] sim [2] não |
| 3. |                |                    |        |      |                   | [1] sim [2] não |
| 4. |                |                    |        |      |                   | [1] sim [2] não |
| 5. |                |                    |        |      |                   | [1] sim [2] não |

## ANEXO II

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

|                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>1. IDENTIFICAÇÃO DO PROJETO DE PESQUISA</b>                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                    |
| Título do Projeto: Influência da homocisteína, vitamina B12 e ácido fólico sobre a disfunção neurológica de pacientes com algumas doenças neurodegenerativas                                                                                                         |                                                                                                    |
| Área do Conhecimento: Saúde                                                                                                                                                                                                                                          | Instituição onde será realizado: Hospital de Clínicas de Porto Alegre Hospital São Lucas da PUC-RS |
| Nome dos pesquisadores e colaboradores: Moacir Wajner, Eliseu Felipe dos Santos, Carmen R. Vargas, Jaderson Costa da Costa, André Dalbem, Márcia L. F. Chaves, Alessandro Finkelsztejn, Analuiza Camozzato de Pádua, Renata Kochhann, Carlos Roberto de Mello Rieder |                                                                                                    |

Você está sendo convidado(a) para participar do projeto de pesquisa acima identificado. O documento abaixo contém todas as informações necessárias sobre a pesquisa que estamos fazendo. Sua colaboração neste estudo será de muita importância para nós, mas se desistir a qualquer momento, isso não causará nenhum prejuízo para você.

#### 2. IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA

Nome:

#### 3. IDENTIFICAÇÃO DO PESQUISADOR RESPONSÁVEL

Nome: Moacir Wajner

Telefone: 33165571

Profissão: Médico Registro do Conselho N°: 5844

E-mail: mwajner@hcpa.ufrgs.br

Endereço: Rua Ramiro Barcelos, 2600, Departamento de Bioquímica, laboratório 38

#### 3. IDENTIFICAÇÃO DO PESQUISADOR ASSOCIADO

Nome: Márcia Lorena Fagundes Chaves

Telefone: 21018520

#### 1. Da justificativa e dos objetivos para realização desta pesquisa

O objetivo desta pesquisa é o de observar se as concentrações do aminoácido homocisteína, da vitamina B12 ou do ácido fólico estão alteradas no sangue e no líquido de pacientes com problemas neurológicos (doenças neurodegenerativas). Caso alguma destas substâncias possui concentrações alteradas nestes pacientes, é possível que estas alterações estejam relacionadas com seu problema neurológico. Assim, a suplementação das vitaminas ou a normalização da homocisteína poderiam trazer benefícios para o seu tratamento.

#### 2. Do objetivo de minha participação

Será fundamental a participação do(s) sujeito(s) da pesquisa, pois o material e os dados obtidos serão utilizados para a verificação das hipóteses de trabalho.



### **3. Do procedimento para coleta de dados e de amostras**

A coleta de dados será feita através de um questionário contendo informações pessoais relacionadas a história clínica, estado físico e hábitos cotidianos dos pacientes a ser preenchido durante uma entrevista. A coleta da(s) amostra(s) de sangue e/ou de líquido céfalo-raquidiano (LCR) para a análise dos parâmetros bioquímicos (Hcy, vitamina B12 e ácido fólico) será feita por profissionais competentes acostumados com estes procedimentos logo após a entrevista ou em algum outro momento. O sangue será coletado por punção de veia periférica, enquanto o LCR será coletado por punção lombar.

### **4. Da utilização, armazenamento e descarte das amostras**

As amostras e os dados coletados serão utilizados para comparação dos vários parâmetros bioquímicos com o estado patológico dos pacientes durante o desenvolvimento da pesquisa. Os dados pessoais dos sujeitos da pesquisa não serão divulgados. As amostras de líquidos biológicos serão armazenadas anonimamente através de codificação.

### **5. Dos desconfortos e dos riscos**

O preenchimento do questionário não acarretará desconfortos, enquanto a coleta de sangue poderá ser desconfortável, mas em caráter leve e por curtíssima duração.

### **6. Dos benefícios**

Conhecendo melhor estas doenças, poderemos reconhecer os fatores de risco e possíveis soluções para estes problemas, ainda tão pouco estudados na área médica.

### **7. Da isenção e ressarcimento de despesas**

A minha participação é isenta de despesas e não receberei ressarcimento porque não terei despesas.

### **8. Da forma de acompanhamento e assistência**

O sujeito da pesquisa tem o direito e a liberdade de acompanhar os resultados da pesquisa através de contato telefônico com os responsáveis pela pesquisa, disposto no item 3 deste.

### **9. Da liberdade de recusar, desistir ou retirar meu consentimento**

Tenho a liberdade de recusar, desistir ou de interromper a colaboração nesta pesquisa no momento em que desejar, sem necessidade de qualquer explicação. A minha desistência não causará nenhum prejuízo à minha saúde ou bem estar físico.

### **10. Da garantia de sigilo e de privacidade**

Os resultados obtidos durante este estudo serão mantidos em sigilo, mas concordo que sejam divulgados em publicações científicas, desde que meus dados pessoais não sejam mencionados.

### **11. Da garantia de esclarecimento e informações a qualquer tempo**

Tenho a garantia de tomar conhecimento e obter informações, a qualquer tempo, dos procedimentos e métodos utilizados neste estudo, bem como dos resultados, parciais e finais, desta pesquisa. Para tanto, poderei consultar os **pesquisadores** (acima identificados) ou o **Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre**, com endereço na Rua Ramiro Barcelos, 2350, 2º andar, telefone (51) 2101.8304.

Eu, \_\_\_\_\_, concordo em participar do presente projeto de pesquisa e autorizo a realização de:

- coleta de sangue
- coleta de líquido céfalo-raquidiano (líquor)
- armazenamento das amostras coletadas

Declaro que obtive todas as informações necessárias e esclarecimento quanto às dúvidas por mim apresentadas e, por estar de acordo, assino o presente documento em duas vias de igual conteúdo e forma, ficando uma em minha posse.

\_\_\_\_\_ ( ), \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_.

---

Pesquisador Responsável pelo Projeto

---

Sujeito da Pesquisa e/ou Responsável

Testemunhas:

---

Nome: Moacir Wajner  
RG: 4002397307  
CPF/MF: 073241540/34  
Telefone: 21108011

---

Nome:  
RG:  
CPF/MF:  
Telefone:

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)