



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

**“AVALIAÇÃO DA CORRELAÇÃO ENTRE ESTRESSE OXIDATIVO E DÉFICIT MOTOR
FUNCIONAL DE PACIENTES COM A DOENÇA DE PARKINSON”**

**BELÉM/PA
2010**

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

KÁTIA MAKI OMURA

**“AVALIAÇÃO DA CORRELAÇÃO ENTRE ESTRESSE OXIDATIVO E DÉFICIT
MOTOR FUNCIONAL DE PACIENTES COM DOENÇA DE PARKINSON”**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Neurociências e Biologia Celular do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Neurociências.

Orientadora: Dra. Elizabeth Sumi Yamada
Co-orientador: Dr. Jofre Jacob da Silva Freitas

**BELÉM/PA
2010**

KÁTIA MAKI OMURA

**“AVALIAÇÃO DA CORRELAÇÃO ENTRE ESTRESSE OXIDATIVO E DÉFICIT MOTOR
FUNCIONAL DE PACIENTES COM DOENÇA DE PARKINSON”**

**Orientadora: Prof^a Dr^a Elizabeth Sumi Yamada
Co-Orientador: Prof. Dr. Jofre Jacob Da Silva Freitas**

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Elizabeth Sumi Yamada

Prof^a. Dr^a. Kátia Simone Kietzer

Prof. Dr. Robson José de Souza Domingues

**BELÉM
2010**

Á todos os parkinsonianos e seus familiares que enfrentam a batalha contra a doença
de Parkinson diariamente.

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora professora Elizabeth Yamada por ter aceitado a orientação e por sempre ter me ajudado quando precisei.

Ao meu co-orientador professor Jofre Freitas que desde o momento em que eu decidi me inscrever no mestrado me ajudou me preparando para a prova e me acolheu em seu grupo de pesquisa.

A professora Kátia Kietzer que vem me acompanhando desde o meu primeiro ano de graduação e que foi a primeira pessoa a me estender a mão quando decidi fazer o mestrado e que comemorou comigo todas as conquistas que obtive neste período de tempo.

Aos meus pais por serem os meus maiores apoios de todos os momentos e que foram fonte de inspiração para que eu buscasse me tornar sempre uma pessoa melhor.

A minha irmã Karine por sempre estar ao meu lado e por ser esta grande amiga em que posso contar.

Ao meu companheiro Rogério por ter sido o meu maior incentivador para ingressar na vida acadêmica e um dos que mais me apoiou durante o meu mestrado, me levantando nos momentos difíceis e comemorando os sucessos e conquistas que obtive.

Ao professor Sandro Percário e seus orientandos Danilo e Bruno por terem me acolhido no laboratório e terem contribuído imensamente para que este trabalho fosse realizado.

Aos meus colegas do mestrado por terem compartilhado comigo conhecimentos e momentos memoráveis principalmente nas aulas de língua estrangeira.

Aos alunos do Laboratório de Morfofisiologia da UEPA por terem me ensinado tanto e terem sido tão solícitos.

Aos funcionários do Laboratório de Morfofisiologia Márcio, Cleiton e Andrisson por sempre estarem dispostos a me ajudar.

A todos os profissionais do Laboratório de Análises Clínicas da UEPA, em especial ao Edmilson por ter sido um grande parceiro na coleta das amostras e ter feito o possível e o impossível para que todos os pacientes recebessem os seus exames.

A todos os profissionais da UEAFTO por terem colaborado nesta pesquisa e por terem nos acolhido tão bem.

A todos os professores e funcionários do Programa de Pós-graduação em Neurociências e Biologia Celular que sempre estiveram dispostos a me ajudar.

A todos os pacientes que participaram da pesquisa, principalmente àqueles que nos receberam em suas casas. Sem vocês esta pesquisa não teria sido possível.

A todos os associados da APP e da ABRAZ pelas sextas feiras de grande aprendizado que tive durante esses anos nas associações.

A FAPESPA pelo auxílio financeiro.

Aos alunos do Laboratório de Estatística da UFPA por sempre estarem dispostos a tirar minhas dúvidas e terem me ensinado bastante sobre estatística.

A Satomi e a Mariângela por terem me ajudado imensamente na coleta e na análise do material e por terem sido companhias tão agradáveis durante este percurso.

A professora Rita Gaspar e as bolsistas Margarida e Marina por terem contribuído com a coleta.

E todas as pessoas que não mencionei pelo nome, mas que contribuíram direta ou indiretamente para que este trabalho fosse possível.

SUMÁRIO

Resumo.....	i
Abstract.....	ii
Lista de Figuras.....	iii
Lista de Tabelas.....	iv
Lista de Abreviaturas.....	iiv
1. INTRODUÇÃO.....	18
1.1 Doença de Parkinson.....	21
1.1.1 Histórico.....	21
1.1.2 Alterações motoras e funcionais na doença de Parkinson.....	22
1.1.3 Mecanismos bioquímicos e celulares envolvidos na patogênese da doença de Parkinson.....	29
1.2 Estresse Oxidativo.....	32
1.2.1 Radicais Livres.....	32
1.2.2 Peroxidação Lipídica.....	35
1.2.3 Antioxidantes.....	38
1.2.4 Estresse Oxidativo e a Doença de Parkinson.....	41
2. OBJETIVOS.....	44

2.1 Objetivo Geral.....	44
2.2 Objetivos Específicos.....	44
3. MÉTODOS.....	45
3.1 Pacientes.....	45
3.2 Avaliação Funcional.....	46
3.3 Obtenção e preparação das amostras sanguíneas.....	47
3.4 Determinação da capacidade antioxidante total equivalente ao Trolox (TEAC).....	48
3.5 Determinação da concentração de substâncias que reagem com o ácido tiobarbitúrico (TBARS).....	49
3.6 Análise estatística.....	50
4. RESULTADOS.....	51
4.1 Perfil clínico dos pacientes.....	51
4.2 Avaliação motora e funcional.....	51
4.3 Avaliação da capacidade antioxidante total equivalente ao trolox (TEAC)	57
4.4 Correlação entre idade, sexo, uso da L-dopa e capacidade antioxidante total equivalente ao trolox.....	58
4.5 Correlação entre o desempenho motor-funcional e a capacidade antioxidante total equivalente ao Trolox.....	58
4.6 Avaliação da concentração das substâncias que a reagem ao ácido tiobarbitúrico - TBARS.....	59
4.7 Correlação entre a concentração de TBARS, sexo e a idade dos pacientes com a doença de Parkinson.....	60

4.8 Correlação entre a concentração de TBARS e a avaliação motora e funcional dos pacientes com a doença de Parkinson.....	61
5. DISCUSSÃO.....	62
5.1 Avaliação motora e funcional.....	62
5.2 Pacientes com a doença de Parkinson apresentaram níveis da capacidade antioxidante total inferiores em relação aos pacientes controle independente do seu estágio.....	64
5.3 Não houve relação entre idade e o nível da capacidade antioxidante nos pacientes com a doença de Parkinson.....	66
5.4 Não houve relação entre o déficit motor e funcional e a capacidade antioxidante total dos pacientes com a doença de Parkinson.....	66
5.5 Não houve diferença significativa entre a concentração de TBARS dos pacientes com a doença de Parkinson e pacientes controle.....	67
5.6 Não foi observada relação entre idade e concentração de TBARS nos pacientes com a doença.....	68
5.7 Alterações nas concentrações de TBARS nos pacientes com a doença de Parkinson em relação ao déficit motor.....	68
6. CONCLUSÃO.....	70
7. REFERÊNCIAS.....	71
ANEXOS.....	82
APÊNDICES.....	90

RESUMO

A atual longevidade do ser humano advém de vários avanços tanto nas condições de vida da população quanto no avanço de técnicas para a promoção de saúde. Assim, com o envelhecimento da população surgem várias doenças crônicas e incapacitantes, como é o caso da Doença de Parkinson (DP). A DP é uma doença neurodegenerativa caracterizada por tremor de repouso, bradicinesia, acinesia e instabilidade postural. O seu quadro clínico advém da perda de neurônios dopaminérgicos na substância negra do encéfalo. A causa desta degeneração ainda não foi evidenciada, porém várias teorias foram propostas para explicar a morte dos neurônios como a disfunção mitocondrial, dano oxidativo, excitotoxicidade e inflamação. Dentre elas, o estresse oxidativo é bastante aceito entre a comunidade científica mundial. A presente pesquisa propõe avaliar a correlação entre o estresse oxidativo no sangue dos pacientes com a doença de Parkinson e o seu déficit motor funcional. A pesquisa foi realizada com 26 pacientes com a doença de Parkinson e 33 pacientes controle atendidos na Unidade de Ensino e Assistência de Fisioterapia e Terapia Ocupacional da Universidade do Estado do Pará (UEAFTO-UEPA). Foram feitas a avaliação do nível da capacidade antioxidante total equivalente ao Trolox (TEAC) e a avaliação da concentração das substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico - TBARS através do método por espectrofotometria, além da avaliação da capacidade motora e funcional destes pacientes. Observou-se que os pacientes com a doença de Parkinson em estágio avançado apresentaram déficits motores e funcionais significativos em comparação com os pacientes controle. A capacidade antioxidante encontrou-se reduzida significativamente comparada com a população controle independentemente do estágio em que os pacientes se encontravam. Também se observou que a concentração de TBARS apresentou-se mais elevada que os pacientes controle, porém esta diferença não foi significativa e o aumento da concentração de TBARS acompanhou a piora no quadro funcional dos pacientes.

Palavras-chave: Estresse oxidativo. TEAC. Peroxidação lipídica. Doença de Parkinson. Déficit motor-funcional.

ABSTRACT

The current human longevity comes from several advances in both the living conditions of the population and the advance of techniques to promote health. Thus, with aging many chronic diseases and disabling occur, such as Parkinson's Disease (PD). PD is a neurodegenerative disease characterized by resting tremor, bradykinesia, akinesia and postural instability. Its clinical aspects results from the loss of dopaminergic neurons in the substantia nigra of the brain. The cause of this degeneration is not yet evident, but several theories have been proposed to explain the death of neurons, such as mitochondrial dysfunction, oxidative damage, excitotoxicity and inflammation. Among them, the oxidative stress is well accepted among the scientific community. This study aims to evaluate the correlation between the oxidative stress in blood of patients with Parkinson's disease and its functional and motor deficit. The survey was conducted with 26 patients with Parkinson's disease and 33 control patients treated at the Education and Assistance Unit of Physiotherapy and Occupational Therapy of the Para's State University (UEAFTO). Evaluation was performed through the measurement of Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) by means of spectrophotometry and by the assessment of motor and functional ability of these patients. It was observed that patients with Parkinson's disease in advanced stages showed significant motor and function deficit comparing to control patients. The antioxidant capacity was found significantly reduced comparing to controls independently of disease stage. It was also observed the TBARS's concentration was higher in patients with Parkinson's disease than in control patients. However this difference it wasn't significant and the increasing concentration of TBARS followed the worsening of functional framework of patients.

Keywords: Oxidative stress. TEAC. Lipid Peroxidation. Parkinson's disease. Motor-functional deficit.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1A	Via direta e indireta dos núcleos da base para o controle motor, juntamente com suas conexões com o córtex.....	24
Figura 1B	Conexões dos núcleos da base alteradas na doença de Parkinson.....	24
Figura 2	Postura Parkinsonina.....	27
Figura 3	Mecanismos bioquímicos e celulares envolvidos na patogenia da doença de Parkinson.....	31
Figura 4	Mecanismo pelo qual são produzidas as espécies reativas de oxigênio dentro do metabolismo celular.....	33
Figura 5	Reação de Fenton.....	34
Figura 6	Reação de Haber-Weiss.....	34
Figura 7	Processo de peroxidação lipídica com as fases de iniciação, propagação e terminação.....	37
Figura 8	Redução do ânion superóxido catalisado pela superóxido dismutase.....	39
Figura 9	Reação da catalase com o peróxido de hidrogênio.....	39
Figura 10	Transformação do peróxido de hidrogênio em água através da glutathione peroxidase.....	39
Figura 11	Representação esquemática das várias fontes de espécies reativas ao oxigênio que causam o desequilíbrio das reações redox na doença de Parkinson e a atuação dos antioxidantes e	

	algumas medicações que podem combater o estresse oxidativo.....	43
Figura 12	Pontuação média na escala de Katz de acordo com os estágios da doença.....	53
Figura 13	Pontuação média na escala de Lawton de acordo com o estágio da doença.....	54
Figura 14	Pontuação média na escala de Tinetti de acordo com o estágio da doença.....	56
Figura 15	Concentração média de TEAC entre os pacientes controle e os pacientes com a doença de Parkinson.....	57
Figura 16	Valores médios dos níveis da capacidade antioxidante total equivalente ao Trolox em relação aos estágios da doença.....	58
Figura 17	Concentração média de TBARS entre os pacientes controle e os pacientes com a doença de Parkinson.....	59
Figura 18	Concentração média de TBARS de acordo com a classificação na escala de Lawton para AIVD.....	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Perfil clínico e social dos pacientes com a doença de Parkinson e do grupo controle.....	51
Tabela 2	Distribuição dos pacientes com doença de Parkinson por estágio de acordo com a sua classificação na escala de Katz.....	52
Tabela 3	Distribuição dos pacientes com doença de Parkinson de acordo com o estágio da doença com sua respectiva classificação na escala de Lawton.....	54
Tabela 4	Distribuição dos pacientes com a doença de Parkinson de acordo com o grupo de estágio e sua respectiva classificação na escala de Tinetti.....	55
Tabela 5	Nível médio de TEAC dos pacientes com Parkinson de acordo com a idade.....	60

LISTA DE ABREVIATURAS

-syn	Alfa sinucleína
ABTS ^{•+}	2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-ácido-6-sulfônico-diamônio
AIVD	Atividades Instrumentais da Vida Diária
APP	Associação de Parkinsonianos do Pará
AVD	Atividade de Vida Diária
CAT	Catalase
CI	Complexo Mitocondrial I
CL	Corpúsculos de Lewy
CO ₃ ^{•-}	Radical carbonato
COX	Ciclooxygenase
DA	Doença de Alzheimer
DAQ	Dopamina Quinona
Dep	Deprenyl
e ⁻	Elétrons
DP	Doença de Parkinson
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
GPe	Globo Pálido externo
GPi	Globo Pálido interno
GSH	Glutaciona Reduzida
GSH-Px	Glutaciona Peroxidase
GSSG	Glutaciona Oxidada
GSSr	Glutaciona Redutase

H_2O_2	Peróxido de Hidrogênio
$HO_2\cdot$	Hidroperoxila
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
iNOS	Óxido Nítrico Sintase
KH_2PO_4	Fosfato Monobásico de Potássio
$K_2S_2O_8$	Persulfato de Potássio
$L\cdot$	Radical Lipídico
$LO\cdot$	Radical Alcoxila
$LOO\cdot$	Radical Peroxila
LOOH	Hidroperóxido Lipídico
MAO-B	Monoamino Oxidase B
MDA	Malondialdeído
MPTP	1-Metil-4-Fenil-1,2,3,6-Tetrahidropiridina
NADPH	Nicotinamida-adenina-dinucleotídeo-fosfato Reduzida
NMDAR	Receptor N-metil-D-aspartato
NO	Óxido Nítrico
NO_2	
	Dióxido de Nitrogênio
NST	

	Núcleo Subtalâmico
NVL	Núcleo Ventrolateral
O ₂	
	Oxigênio
O ₂ ^{-·}	
	Radical superóxido
OH [·]	Radical Hidroxila
OMS	Organização Mundial de Saúde
ONOO ⁻	Peroxinitrito
PG	Prostaglandina
Prx	Peroxirredoxina
SNc	Substância Negra parte compacta
SNr	Substância Negra parte reticulada
SOD	Superóxido Dismutase
TBA	Ácido Tiobarbitúrico
TBARS	Substâncias que Reagem com Ácido Tiobarbitúrico
TEAC	Capacidade Antioxidante Total Equivalente ao Trolox
UEAFTO	Unidade de Ensino e Assistência de Fisioterapia e Terapia Ocupacional
UEPA	Universidade do Estado do Pará

1. INTRODUÇÃO

De acordo com os dados da Organização Mundial de Saúde – OMS (MATHERS et al., 2010), a população com faixa etária acima de 60 anos é a que mais cresce nos últimos anos no mundo todo. No Brasil entre 1997 e 2007 o número de habitantes com 60 anos ou mais teve um aumento de 47,8% comparado com o crescimento da população restante que foi de 21,6%. O crescimento da população com idade igual ou superior a 80 anos foi ainda maior, cerca de 86,1% (IBGE, 2008). No estado do Pará, de acordo com o censo 2008 do IBGE, o número de pessoas acima de 60 anos é estimado em mais de 260.000 em relação a população total em torno de 7 milhões de habitantes.

A atual longevidade do ser humano ocorre em decorrência de vários avanços, como por exemplo, nas condições sanitárias do ambiente em que se vive, e principalmente nos recursos utilizados pela medicina. A medicina apresentou avanços significativos na área de diagnóstico e tratamento, e com o surgimento de novos recursos medicamentosos. Assim, doenças cardiovasculares, por exemplo, muitas vezes fatais para indivíduos adultos jovens acometidos, passaram a ser controladas e tratadas, aumentando a longevidade destes indivíduos.

No entanto, com o avançar da idade, as doenças crônicas passam a acometer vários sistemas orgânicos, como o aparelho locomotor, que muitas vezes sofre degenerações articulares, etc. Outro sistema orgânico bastante acometido em pessoas de idade avançada é o sistema nervoso central. À medida que o indivíduo envelhece maior é a probabilidade de ele sofrer com doenças como a doença de Alzheimer (DA) e a doença de Parkinson (DP).

A DP atinge cerca de 1% da população com mais de 60 anos e 4% daquelas com mais de 80 anos (FRANK et al., 2006; DAVIE, 2008; HAUSDORFF, 2009). A doença de Parkinson é uma doença neurodegenerativa progressiva relacionada à perda dos neurônios dopaminérgicos da substância negra (MARSDEN, 1994), tendo como características os sintomas cardinais motores como bradicinesia, rigidez, tremor de repouso e instabilidade postural (KCLOCKGETHER, 2004; BENATRU et al., 2008;

HAUSDORFF, 2009). Estes sintomas prejudicam fortemente a capacidade funcional do paciente, impedindo-o de realizar várias tarefas do cotidiano de forma independente.

O mecanismo exato que provoca a morte dos neurônios dopaminérgicos da substância negra ainda não está completamente esclarecido. Várias hipóteses têm sido levantadas para explicar a morte dos neurônios. Uma das mais difundidas está relacionada à disfunção mitocondrial que pode causar o início da cascata de eventos que culminam na morte celular, devido ao déficit na cadeia de transporte de elétrons e na produção de energia para a célula (PARKER et al., 2008). O fenômeno da excitotoxicidade também pode estar envolvido na DP através da ativação dos receptores N-metil-D-aspartato (NMDAR) que ao serem super-estimulados permitem um aumento no influxo de cálcio extracelular, culminando em uma série de respostas patológicas que levam a morte celular (TSANG, CHUNG, 2009). Outro evento a ser considerado é a resposta inflamatória que ocorre durante a DP, havendo ativação microglial com consequente liberação de interleucinas que também podem levar a morte celular (DE PABLOS et al., 2009; HOFMANN et al., 2009; LEE et al., 2010).

A participação do estresse oxidativo é outra hipótese bastante defendida entre a comunidade científica mundial (CHINTA et al., 2006; VALKO et al., 2007; CHINTA, ANDERSEN, 2008; BISAGLIA et al., 2010; LEE et al., 2010). O estresse oxidativo ocorre quando há um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO's) e a defesa antioxidante (CHEN et al., 2009). As ERO's podem promover danos celulares através da oxidação dos constituintes celulares como lipídios e ácidos nucléicos, promovendo destruição da arquitetura estrutural celular e consequente morte da célula por apoptose ou por necrose (ABRAHAM et al., 2005).

No entanto, para se defender do ataque das ERO's, o organismo desenvolveu um sistema de defesa antioxidante composto por antioxidantes enzimáticos como a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e a glutatona peroxidase (GSH-Px), além dos antioxidantes não enzimáticos como a vitamina C, a vitamina E, a glutatona (GSH), os carotenóides e os flavonóides entre outros (KERKSICK, WILLOUGHBY, 2005; VALKO et al., 2007).

Na DP, as células nigrais se encontram sob estresse oxidativo elevado (LOTHARIUS, BRUNDIN, 2002), como indicado pela elevação de subprodutos da

oxidação de lipídios (SUDHA et al., 2003; SHARMA et al., 2007) e pelo aumento compensatório do sistema antioxidante, especialmente a SOD (SHARMA et al., 2007; SERRA et al., 2009).

No entanto, existem poucas pesquisas relacionando alterações no metabolismo oxidativo ao déficit motor funcional de pacientes portadores de DP. Os poucos existentes utilizam protocolos de avaliação que não são sensíveis para detectar alterações principalmente na funcionalidade dos pacientes com a doença.

Além disso, observa-se uma grande variabilidade nos resultados dos parâmetros oxidativos decorrente dos diversos tipos de métodos utilizados para se avaliar o estresse oxidativo em seres humanos. Neste sentido, não se sabe exatamente até que ponto o estado oxidante e a resposta antioxidante podem estar relacionados à capacidade funcional e motora do doente e se existe uma relação com o estágio da DP em que este se encontra.

Desta forma, o presente trabalho busca avaliar o estado oxidativo e a resposta antioxidante no soro de pacientes com DP e verificar se existe relação entre o estresse oxidativo com os sintomas motores e funcionais da doença.

É fato que existe a dificuldade de se estabelecer o diagnóstico, tanto da presença da doença quanto do estágio em que se encontra. A importância de estudar fatores sanguíneos que indiquem precisa e precocemente a presença da DP, ou o estágio em que ela se encontra, reside na tomada de decisão correta em relação aos tratamentos a serem feitos. Por sua vez a escolha adequada do tratamento é de importância fundamental para a manutenção da independência funcional e da qualidade de vida dos parkinsonianos por maior tempo.

1.1 Doença de Parkinson

1.1.1 Histórico

Desde os tempos bíblicos havia relatos de casos de pessoas com a doença de Parkinson, porém foi somente em 1817, através da descrição realizada por James Parkinson em sua monografia, que a doença foi melhor definida, sendo nomeada por ele como “Paralisia Agitante”. A descrição da patologia baseou-se em estudos de casos clínicos de seis pacientes (LEES, 2004; RUIZ, 2004).

Por conta dos poucos conhecimentos anatômicos da doença, Parkinson relacionou a possível causa da enfermidade a lesões na medula espinhal (PEARCE, 1989). Em 1868, Trousseau verificou outras características da doença que passaram despercebidos aos olhos de Parkinson que foram rigidez e bradicinesia, além do declínio cognitivo e dos problemas respiratórios que muitos pacientes apresentavam. Após alguns anos, em 1895, através de um caso de um paciente com parkinsonismo hemiplégico, Brissaud observou que o quadro clínico era resultado de um tuberculoma na área contralateral do pedúnculo inferior, havendo destruição da substância negra (SN), indicando uma possível localização da lesão causadora da doença (PEARCE, 1989).

No entanto, foi somente no final do século XIX e no início do século XX, graças aos estudos de Charcot, que os conhecimentos clínicos sobre a doença obtiveram maior avanço. Ao perceber que nem todos os pacientes apresentavam o tremor ou a rigidez, Charcot observou que a nomenclatura da doença era imprópria, renomeando-a com o nome daquele que primeiro a estudou e caracterizou, chamando-a de Doença de Parkinson, o que foi unanimemente aceito pela comunidade científica (LIMONGI, 2001).

Nesta época, pouco se conhecia sobre a patofisiologia da doença, onde esta era considerada, até então, como uma patologia do córtex motor. A partir dos estudos anatômicos de Tretiakoff em 1919, observou-se que havia várias lesões no encéfalo dos pacientes com a doença de Parkinson, chamando atenção para a despigmentação das células da substância negra que foi relacionada com os distúrbios no tônus

muscular destes pacientes. Além disso, Tretiakoff observou a presença de inclusões concêntricas nas células da substância negra que haviam sido descritas anteriormente por Lewy (PEARCE, 1989; TEIVE, 1998).

A partir da Primeira e Segunda Guerras Mundiais, vários avanços no estudo da dopamina e nos seus circuitos envolvidos foram apresentados. Foi neste período que Kathleen Montagu mostrou pela primeira vez a presença de dopamina no encéfalo, ajudando no impulso de novas descobertas na área. Na década de 1960, Hornykiewicz mediu o nível de dopamina em encéfalos de pacientes com a doença de Parkinson e em pacientes controle a partir de estudos *post mortem* e encontrou baixos níveis deste neurotransmissor no caudado e no putâmen (FAHN, 2008).

Assim, foi possível correlacionar o déficit de dopamina na substância negra à doença de Parkinson, principalmente aos seus sintomas motores. No entanto, somente no final da década de 1960, a partir dos estudos de Cotzias e colaboradores (1967) que foi possível estabelecer uma terapia eficaz com o uso da levodopa, dando um grande salto no tratamento da doença e prolongando a vida destes pacientes, além de contribuir para o conhecimento da fisiologia do movimento no sistema nervoso central (KARDOWER, GOETZ, 1999).

1.1.2 Alterações motoras e funcionais na doença de Parkinson

A partir da descoberta da dopamina, foi iniciada uma série de estudos relacionados aos núcleos da base, bem como das desordens do movimento associadas à doença de Parkinson, além da própria neurofisiologia destes núcleos.

Os núcleos da base fazem parte de um grupo de núcleos subcorticais que controlam o movimento voluntário. Eles são constituídos pelo estriado (putâmen e caudado), globo pálido externo e interno, núcleo subtalâmico e substância negra (parte compacta e parte reticulada). Os núcleos da base não possuem conexões diretas com os tratos descendentes da medula espinhal. Ao invés disso, eles formam alças neurais que se estendem do córtex motor ao tálamo, de onde a informação retorna ao córtex. Estas alças são representadas pelas vias direta (excitatória) e indireta (inibitória; BURCH, SHEERIN, 2005).

A via direta é constituída pela via córtico-estriatal, globo pálido interno e núcleo ventrolateral do tálamo (CONTRERAS-VIDAL, STELMACH, 1996). Durante o repouso, os neurônios do globo pálido interno estão ativos, inibindo tonicamente o núcleo ventrolateral do tálamo. A ativação cortical faz com que os neurônios do putâmen sejam excitados e, por conseguinte, inibam o globo pálido interno, fazendo com que este deixe de inibir o núcleo ventrolateral do tálamo, que possuem neurônios tonicamente ativos, mas que durante o repouso estão inibidos também de forma tônica pelos neurônios do globo pálido interno. Durante a iniciação do movimento através da ativação da circuitaria direta dos núcleos da base, o tálamo fica livre da inibição tônica do globo pálido interno, tornando-se ativo e estimulando a atividade na área motora somática responsável pela iniciação do movimento voluntário (BEAR ET al., 2008). Esta alça motora está resumida na figura 1.

Na via indireta, há participação dos neurônios do globo pálido externo e do núcleo subtalâmico, ocorrendo excitação do globo pálido interno e SN reticulada, o que ocasiona a inibição das interações tálamo-corticais (GALVAN, WICHMANN, 2008).

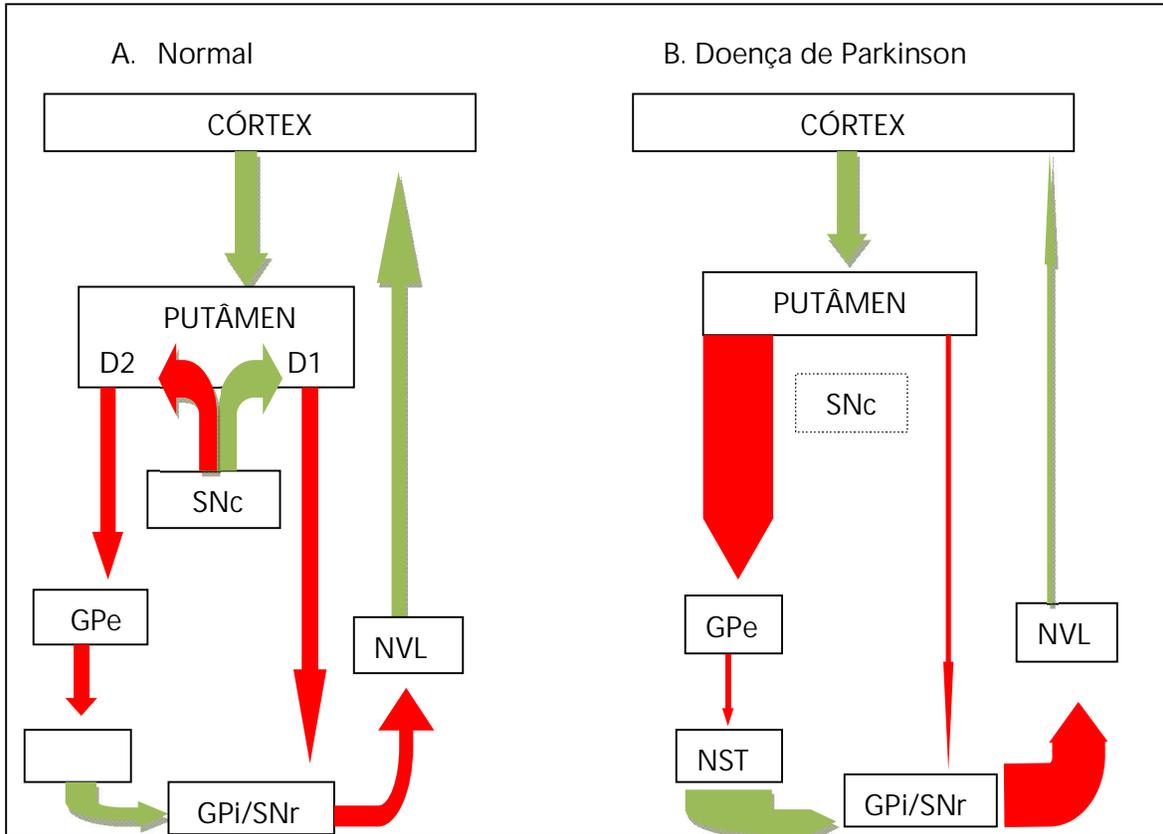


Figura 1 – A. Via direta e indireta dos núcleos da base para o controle motor, juntamente com suas conexões com o córtex. B. Conexões dos núcleos da base alteradas na doença de Parkinson. Setas vermelhas indicam as conexões inibitórias e as setas verdes as conexões excitatórias. Fonte: Galvan & Wichmann, 2008.

Em condições fisiológicas, os neurônios estriatais que se projetam para o globo pálido parecem ser modulados pela ação dos receptores dopaminérgicos do tipo D1 (excitatórios) e D2 (inibitórios). Para que os neurônios do putâmen envolvidos na via direta sejam eficazmente ativados é necessária a ativação simultânea do córtex e da substância negra sobre estes neurônios. Os neurônios corticais liberam glutamato enquanto que os neurônios da substância negra contribuem com a liberação de dopamina. Assim, na doença de Parkinson, com a degeneração da substância negra e a depleção de dopamina neste circuito, ocorre uma diminuição da ativação da via direta e exacerbação da via indireta, ocasionando um aumento da atividade no globo pálido com conseqüente inibição da via tálamo-cortical, o que resulta na diminuição da atividade cortical (figura 1B), gerando o sintoma hipocinético da DP (BERGMAN, DEUSCHL, 2002).

Além da degeneração na substância negra, também é observada uma perda significativa de neurônios piramidais localizados na área pré-suplementar motora do córtex, uma região importante para o início dos movimentos (HALLIDAY, 2007). Também são observadas alterações nos impulsos nervosos dos núcleos da base, produzindo uma oscilação anormal tipicamente encontrada nos pacientes com a doença de Parkinson que não se encontram sob o efeito da medicação (RODRIGUEZ-OROZ et al., 2009).

No entanto, o processo neuropatológico da DP inicia-se antes mesmo da degeneração dos núcleos da base, envolvendo estruturas extra-nigrais como o núcleo motor dorsal, o sistema autônomo e o bulbo olfatório, justificando o surgimento de sintomas não motores antes da manifestação dos sintomas típicos da doença de Parkinson (WOLTERS, 2007).

Com o avanço da doença, a degeneração dopaminérgica torna-se mais generalizada, atingindo outras regiões dos núcleos da base como o caudado e o globo pálido, além de regiões fora destes núcleos como o córtex, hipotálamo e tálamo. Além disso, há degeneração de neurônios não-dopaminérgicos como os núcleos da rafe e o cerúleo, podendo causar sintomas não-motores como déficit cognitivo, alterações no sono e distúrbios no comportamento (WICHMANN, DELONG, 2003).

Estas alterações em diversas regiões do encéfalo durante a progressão da doença, ocasiona uma grande variabilidade clínica, podendo ser caracterizada através de 3 estágios: inicial, intermediário e avançado. No estágio inicial podem-se observar tremores (amiúde, unilaterais) e uma sensação de fadiga. O estágio intermediário inclui, em geral, tremores, graus variados de rigidez e bradicinesia (lentidão nos movimentos), alterações posturais e instabilidade, e o paciente começa a necessitar de auxílio de outras pessoas para a realização das atividades do cotidiano, como vestir-se, tomar banho, alimentar-se, entre outras. O estágio avançado da doença de Parkinson é caracterizado por distúrbios motores significativos, a ponto do paciente com DP tornar-se extremamente dependente para a realização de suas atividades de vida diária (AVD) e para mover-se. Em alguns casos, há alterações cognitivas como depressão e demência (BHYDAYASIRI, TRUONG, 2008).

O tremor é um dos sinais clínicos característicos da DP, atingindo cerca de 70% dos casos (MARSDEN, 1994). Normalmente se manifesta no repouso. No entanto, existem casos em que o paciente manifesta o tremor de ação e/ou o tremor postural. A sua presença é característica em membros superiores, mas pode ocorrer nos membros inferiores e, em casos raros, na cabeça (KLOCKGETHER, 2004).

Outro sintoma característico é a rigidez e pode ser considerado como o mais incapacitante de todos os outros sintomas. É caracterizada pelo aumento do tônus muscular durante a palpação em repouso, distensão reduzida ao movimento passivo e aumento da resistência durante o alongamento (RODRIGUEZ-OROZ et al., 2009).

A bradicinesia é referida como uma lentidão para iniciar os movimentos e torna o paciente incapacitado funcionalmente. O início da atividade motora é inadequada e fragmentada dentro de uma série de passos para que o movimento seja efetivado (RAO et al., 2003). Este sintoma interfere nos movimentos automáticos e habituais, afetando o balanceio do braço, o piscar dos olhos e o controle da salivação (KLOCKGETHER, 2004).

Muitos pacientes também sofrem com a instabilidade postural que está relacionada ao déficit no equilíbrio e nos reflexos posturais, tornando-os vítimas de quedas freqüentes (SAMII et al., 2004). Um dos fatores que também contribuem para este sintoma é a diminuição no controle dos movimentos voluntários, além de alterações na marcha, fraqueza muscular e redução da sensibilidade nos membros inferiores (BLASZCZYK, 1998).

Relacionada às alterações no equilíbrio, encontra-se uma postura muito comum nos pacientes com DP, sendo chamada de postura parkinsoniana (Figura 2), caracterizada pela inclinação do pescoço e da cabeça para frente com o tronco flexionado anteriormente, levando a uma postura cifótica. Os membros superiores, especificamente os braços, encontram-se aduzidos, com os cotovelos flexionados e as mãos à frente do corpo com os dedos parcialmente flexionados. O quadril e o joelho apresentam-se fletidos juntamente (BLASZCZYK, 1998).



Figura 2 – Postura Parkinsonina.

Fonte: [L P://www.efisioterapia.net/articulos/leer.php?id_texto=54](http://www.efisioterapia.net/articulos/leer.php?id_texto=54).

A postura ilustrada acima é conseqüência de uma compensação do paciente com intuito de facilitar a sua marcha. No entanto, ao adotar esta postura, o paciente perde o equilíbrio facilmente, tornando-o vulnerável às quedas (SAMII et al., 2004; BENATRU et al., 2008).

Além disso, o uso prolongado da levodopa leva a outros fatores que contribuem para a deterioração motora destes pacientes. Um deles é a flutuação motora e a distonia que é uma contração muscular acentuada acompanhada de movimentos e/ ou posturas anormais (TOLOSA, COMPTA, 2006).

Após alguns anos e após as alterações nas doses da medicação, estas flutuações tornam-se intensas culminando no efeito “ligado-desligado”, o qual é definido como uma mudança brusca na disfunção motora sem estar relacionada com o tempo da dose da medicação, sendo imprevisível o seu surgimento (MARSDEN, 1994).

Outros sinais não motores se manifestam durante o curso da doença, porém não se sabe se isto é uma conseqüência do uso prolongado da terapia com a levodopa ou se é somente a evolução da própria doença. Estes sintomas incluem desde distúrbios psiquiátricos como depressão, ansiedade, agitação, alucinações e paranóia, até distúrbios comportamentais (JANKOVIC, 2005).

Associados a estes sintomas, encontram-se os distúrbios na fala, com diminuição do volume da voz, hesitação e congelamento durante a fala, sialorréia devido a dificuldade na deglutição. São complicações que ocorrem em estágios avançados da doença e que podem acarretar problemas respiratórios (MARSDEN, 1994).

Todos estes sintomas levam a prejuízo na capacidade funcional do paciente que, com o avanço da doença, adicionado ao próprio processo de envelhecimento, agravam a sua condição física e funcional, necessitando de cuidados específicos e a atuação de vários profissionais.

No entanto, o processo degenerativo neuronal pode ocorrer durante anos sem que ocorra nenhuma manifestação dos sintomas mencionados anteriormente. Embora só seja possível realizar o diagnóstico a partir da manifestação dos sintomas, quando estes são evidenciados, cerca de 80% dos neurônios da substância negra já foram perdidos. Por outro lado, alguns sintomas não específicos podem surgir antes dos sinais motores como depressão, ansiedade, fibromialgia ou dores nos ombros que podem se revelar alguns meses ou anos antes dos sinais característicos da doença (ALBANESE, 2003).

Como critérios para o diagnóstico são levados em consideração quatro sintomas: o tremor, a rigidez, a hipocinesia e a instabilidade postural. Estes sintomas devem estar presentes para que seja definido o diagnóstico. Alguns destes sinais podem ser avaliados através de protocolos específicos, outros apenas através da observação durante as consultas ou através dos relatos dos familiares e do próprio paciente (FRANK et al., 2006).

O diagnóstico definitivo pode ser feito através do estudo *post mortem* de tecido cerebral, onde se observa a presença de inclusões citoplasmáticas como os corpúsculos de Lewy (CL) e a despigmentação da substância negra (DAVIE, 2008; ALBANESE, 2003). Contudo, o diagnóstico *post mortem*, obviamente, não traz benefícios para o paciente em relação ao seu tratamento.

A presença destas inclusões, juntamente com a perda dos neurônios dopaminérgicos localizados na zona compacta da substância negra, tem sido as principais características fisiopatológicas da DP, porém o mecanismo exato que provoca estes fenômenos não está esclarecido.

1.1.3 Mecanismos bioquímicos e celulares envolvidos na patogênese da doença de Parkinson

Existem diversas hipóteses que tentam explicar o mecanismo da DP. Uma delas é a hipótese inflamatória, que é acompanhada de ativação da microglia na substância negra, principalmente nos neurônios pigmentados (SCHAPIRA, 2009). No entanto, a neuroinflamação se mostra mais relacionada com a progressão da DP. Observa-se que os primeiros neurônios que sucumbem durante o processo da doença, promovem uma mudança no microambiente que os circunda, causando a ativação das células gliais. Todo este processo desencadeia uma cascata de eventos que culminam no aumento da degeneração neuronal (ZHOU et al., 2008).

Outro fator que pode estar relacionado à DP são as alterações genéticas. A α -sinucleína foi um dos primeiros genes relacionados à DP. Tem sido demonstrado que este gene é responsável por algumas formas familiares da doença, sendo encontradas em formas de inclusões citoplasmáticas (SCHAPIRA, 2009). A α -sinucleína é uma proteína citosólica pequena e desovelada e faz parte de uma família de proteínas similares que incluem a β -sinucleína e a γ -sinucleína. O mecanismo de formação destas inclusões, assim como o papel dos agregados de α -sinucleína na perda específica de neurônios na doença de Parkinson ainda é desconhecido (WANG et al., 2010).

Os agregados de α -sinucleína são comumente conhecidos como corpúsculos de Lewy (CL), sendo estes considerados como o principal marcador patológico da DP (DAVIE, 2008). O progresso da doença é caracterizado pelo desenvolvimento contínuo destas inclusões em todos os neurônios afetados, o que inicialmente altera a funcionalidade neuronal e finalmente leva o neurônio a morte. Mesmo aqueles que possuem as inclusões e permanecem vivos, ao longo do tempo, perdem a sua funcionalidade antes de morrerem (BRAAK et al., 2004).

Alterações na função mitocondrial têm sido encontradas em encéfalos de pacientes com a doença, assim como em plaquetas e no músculo esquelético (DAVIE, 2008). A disfunção mitocondrial pode levar a morte celular através do déficit na cadeia de transporte de elétrons que também irá alterar a produção de energia necessária

para o metabolismo celular (TSANG, CHUNG, 2009). Por isso muitas pesquisas têm sido direcionadas na busca de mutações no genoma mitocondrial como possíveis causas da DP, mas nenhum estudo conseguiu relacionar os déficits na fosforilação oxidativa encontrados na DP a alterações genéticas mitocondriais (DAVIE, 2008). Entretanto, algumas formas autossômicas recessivas de DP, associadas às mutações parkina, DJ-1 e PINK1 no genoma nuclear, parecem afetar a função mitocondrial (DAWSON et al., 2010)

Com a descoberta do 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetraidropiridina (MPTP), que ocasiona a disfunção no complexo I da mitocôndria, foi possível aprofundar os estudos envolvendo mecanismos mitocondriais na patogenia da doença (FUKAE et al., 2007). O MPTP foi produzido acidentalmente por um grupo de adictos de heroína no início da década de 1980 com o intuito de produzir a droga para consumo. Alguns dos adictos estudados apresentaram sintomas alguns dias após o primeiro contato com a droga, sendo que alguns sintomas eram semelhantes aos da doença de Parkinson (LANGSTON et al., 1983).

Em pesquisas que utilizaram o MPTP como modelo experimental em camundongos, observou-se que esta substância ao ser metabolizada a MPP+ provocava inibição do complexo I mitocondrial, gerando uma produção excessiva de EROs com degeneração neuronal e desenvolvimento de mecanismos excitotóxicos (TSANG, CHUNG, 2009).

Os próprios mecanismos excitotóxicos podem estar envolvidos com a patogenia da DP, havendo uma ativação excessiva dos receptores de NMDA que provocam o influxo de cálcio. Para manter as concentrações de cálcio baixas, os neurônios precisam expandir consideravelmente o metabolismo energético através das bombas presentes no retículo endoplasmático e na membrana plasmática exigindo mais produção de energia. Como conseqüência, a mitocôndria entra em colapso, não conseguindo suprir a demanda energética e provocando lesões irreversíveis à célula (EMERIT et al., 2004).

Dentre os mecanismos fisiopatológicos que estão envolvidos na doença de Parkinson destaca-se estresse oxidativo que pode ocorrer através de um desequilíbrio nas reações redox presentes no organismo (ZHOU et al., 2008). Uma das possíveis

fontes de EROs é o próprio metabolismo da dopamina, pois durante a sua produção há a geração de EROs. A dopamina também pode sofrer processos de auto-oxidação espontânea ou mediada através de enzimas, tendo como consequência a geração de ânions superóxidos e peróxido de hidrogênio, que podem levar a danos nos componentes celulares através da peroxidação lipídica, protéica ou danos no DNA (BISAGLIA et al, 2010). Desta forma, a própria auto-oxidação da dopamina pode ser um fator que contribui na cascata de eventos oxidativos e que pode colaborar para a morte desses neurônios, tendo como consequência alterações motoras e funcionais característicos da DP (Figura 3).

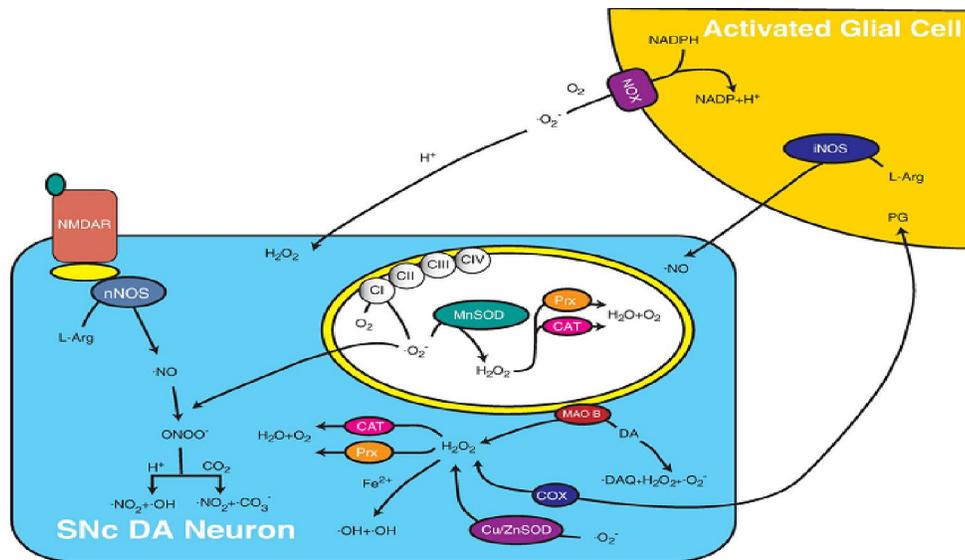


Figura 3 – Mecanismos bioquímicos e celulares envolvidos na patogênese da doença de Parkinson. Ativação de células gliais promove liberação de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio que podem se difundir nas células dopaminérgicas. Ativação de receptores de NMDA com promoção de eventos excitotóxicos dentro da célula. Disfunção mitocondrial com aumento na produção de radicais livres e consequente estresse oxidativo. Atuação dos antioxidantes para eliminação de espécies reativas de oxigênio e formação de outras espécies reativas na presença de metais de transição e da oxidação de dopamina. Fonte: Tsang & Chung, 2009.

1.2 Estresse Oxidativo

O estresse oxidativo tem sido comumente relacionado com o envelhecimento e no processo fisiopatológico de algumas doenças, como na doença de Alzheimer, na esquizofrenia e na doença de Parkinson (KERKSICK, WILLOUGHBY, 2005; TSANG, CHUNG, 2009).

Os principais responsáveis por este processo são os radicais livres que, quando produzidos em excesso, podem causar danos na estrutura celular e sua conseqüente morte (MIGLIORE, COPPÈDE, 2009).

1.2.1 Radicais Livres

Nos últimos anos surgiram vários estudos com o intuito de esclarecer o papel dos radicais livres no organismo humano, sendo relacionados ao processo de envelhecimento, a doenças como câncer e também a doenças neurodegenerativas como a doença de Parkinson.

O termo radical livre refere-se a moléculas ou átomos que apresentam um ou mais elétrons não pareados em sua última camada eletrônica, tornando-os altamente reativos para tornarem-se estáveis novamente (FERREIRA, MATSUBARA, 1997). Dentre eles, os radicais livres comumente encontrados nas células são o radical hidroxila, o radical superóxido e o óxido nítrico. Dentre os principais tipos de radicais livres encontram-se as Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) que possuem habilidade em provocar mudanças oxidativas dentro das células (MIGLIORE; COPPÈDE, 2009).

As EROs são produzidas normalmente durante o metabolismo celular (FACCHINETTI et al., 1998). Dentro da mitocôndria, durante o transporte de elétrons através dos complexos protéicos da cadeia respiratória, ocorre uma série de reações redox que resultam na síntese de ATP. Com o aumento da demanda nesta reação, há um aumento na produção de EROs pelo seu escape de elétrons para o meio interno mitocondrial, havendo seu acúmulo intracelular (KERKSICK, WILLOUGHBY, 2005; ANTUNES et al., 2008). Em condições fisiológicas dentro do metabolismo celular, o oxigênio sofre redução tetravalente, aceitando quatro elétrons, tendo como resultado a

produção de água. No entanto, durante esse processo, são produzidas espécies reativas como o radical superóxido ($O_2^{\cdot -}$), hidroperoxila (HO_2^{\cdot}), hidroxila (OH^{\cdot}) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2 ; FERREIRA, MATSUBARA, 1997), observados na figura 4.

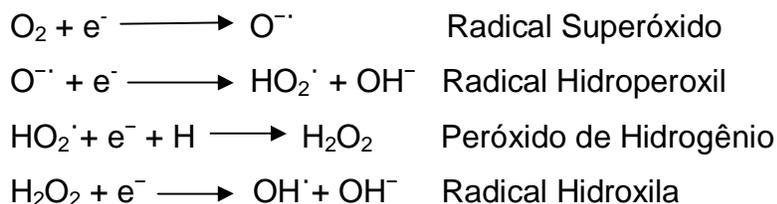


Figura 4 – Mecanismo pelo qual são produzidas as espécies reativas de oxigênio dentro do metabolismo celular.

Durante o metabolismo celular, a primeira EROs produzida é o $O_2^{\cdot -}$ que é formado após a primeira redução do O_2 , sendo gerado comumente durante diversos processos celulares, como por exemplo, durante a cadeia de transporte de elétrons na mitocôndria, no microsomo e através de enzimas como a xantina oxidase e o NADPH (nicotinamida-adenina-dinucleotídeo-fosfato reduzida). Ele também pode ser produzido através da redução monoelétrica de O_2 (VASCONCELOS et al., 2007).

O $O_2^{\cdot -}$ é considerado como a EROs primária que pode interagir com outras moléculas, gerando espécies reativas secundárias através de processos enzimáticos catalizados por metais (CHINTA, ANDERSEN, 2008).

Na reação de dismutação do $O_2^{\cdot -}$ catalisada pela enzima superóxido dismutase (SOD) e pela ação de diversas enzimas oxidases *in vivo* é formada um intermediário, o peróxido de hidrogênio. É considerado um fraco agente oxidante e um fraco agente redutor, reagindo lentamente com tióis, sais de ferro e cobre reduzido, além de reagir com proteínas hemeperoxidases para iniciar reações radicalares e peroxidações lipídicas (VASCONCELOS et al., 2007). No entanto, é considerado extremamente deletério, pois participa da reação que produz o radical hidroxila, através da presença de metal de transição na reação de Fenton (Figura 5), onde este último apresenta uma vida longa podendo atravessar camadas lipídicas (FERREIRA, MATSUBARA, 1997).

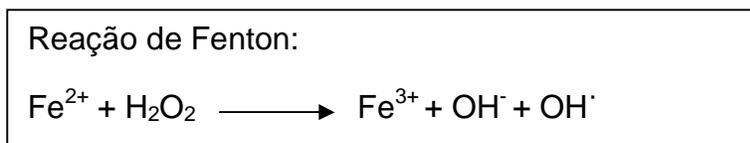


Figura 5 – Reação de Fenton.

Outra forma de se gerar o radical hidroxila é através da reação de Haber-Weiss (Figura 6) que é catalisado por metais de transição como o ferro, por exemplo. Esta reação auxilia na amplificação do estresse oxidativo (BERG et al., 2004; CHINTA, ANDERSEN, 2008).

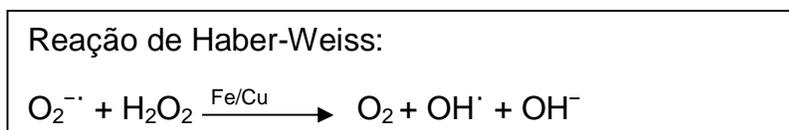


Figura 6 – Reação de Haber-Weiss.

O radical OH^\cdot é considerado como a espécie mais reativa dentre as moléculas, sendo extremamente deletério, pois pode provocar alterações no DNA, danos protéicos, inativação enzimática e peroxidação lipídica (VASCONCELOS et al., 2007). Além disso, o radical OH^\cdot não possui um antioxidante específico para eliminá-lo (VALKO et al., 2007).

Em concentrações moderadas, as EROs possuem um importante papel biológico como defesa contra agentes infecciosos, participando do processo de fagocitose, pois as EROs são produzidas para eliminar o agente agressor, além de atuar em inúmeros mecanismos de sinalização celular e na indução de resposta mitogênica (VASCONCELOS et al., 2007; VALKO et al., 2007).

Por outro lado, as EROs também apresentam funções deletérias ao organismo principalmente quando são encontradas em excesso, provocando o chamado estresse oxidativo que refere-se ao desequilíbrio entre a geração de EROs e os mecanismos de defesa antioxidante (CHEN et al., 2009).

O estresse oxidativo pode levar a destruição celular através da oxidação de lipídios, proteínas e DNA, inibindo a função normal da célula (VALKO et al., 2007).

As proteínas são alvos críticos ao ataque das EROs devido a existência de muitas modificações catalíticas que podem ampliar o efeito. Observa-se que muitas EROs podem reagir diretamente em vários sítios protéicos. Quando os radicais protéicos são formados em sítios específicos, podem rapidamente transferir os grupos amina para outros sítios dentro da infra-estrutura da proteína. A consequência disso é a agregação e a ligação cruzada ou a agregação protéica e a sua fragmentação, podendo alterar a atividade enzimática, a função da membrana e conseqüente morte celular (RICE-EVANS et al., 1991).

Além das proteínas, outro alvo muito comum das EROs são as membranas celulares que sofrem a chamada peroxidação lipídica, levando a sérios danos celulares e são comumente investigados para se detectar lesão na célula.

1.2.2. Peroxidação lipídica

Todos os componentes celulares sofrem com o ataque das EROs, em especial a membrana celular que é rica em ácidos graxos, sendo vulneráveis ao estresse oxidativo, através da chamada peroxidação lipídica (ANTUNES et al., 2008).

A peroxidação lipídica é o resultado de uma série de reações bioquímicas das EROs com os lipídios poliinsaturados presentes nas membranas celulares, gerando principalmente o $LO\cdot$ (radical alcoxila), $L\cdot$ (radical lipídico), $LOO\cdot$ (radical peroxila), levando a destruição da membrana (LIMA, ABDALLA, 2001).

A peroxidação lipídica ocorre em três fases: iniciação, propagação e terminação. A fase da iniciação ocorre quando uma espécie que é suficientemente reativa para extrair um átomo de hidrogênio de um grupo metileno forma um radical de carbono. A formação deste radical é acompanhada pelo rearranjo da ligação que resulta em sua estabilização através da formação de um dieno conjugado (duas duplas ligações intercaladas por uma ligação simples). Em meio aeróbico, o radical alquila formado se combina com o oxigênio, formando o radical peroxila, que por sua vez, pode abstrair um hidrogênio alílico de outro ácido graxo, gerando outro radical de carbono, constituindo a etapa de propagação. A reação do radical peroxila com o átomo de hidrogênio abstraído forma um hidroperóxido lipídico (LOOH). Além disso, peróxidos

cíclicos podem ser formados quando o radical peroxila reage com uma dupla ligação na mesma cadeia de ácido graxo, podendo propagar a peroxidação lipídica (LIMA, ABDALLA, 2001).

Os hidroperóxidos lipídicos são moléculas relativamente estáveis sob condições fisiológicas, no entanto, a sua decomposição é catalisada através de metais de transição e complexos de metais, gerando radicais alcoxilas ($LO\cdot$). O complexo de ferro oxidado reage mais lentamente para produzir radical alcoxila e peroxila. Estes radicais podem iniciar uma nova rodada de peroxidação lipídica e propagar uma série de reações em cadeia radicalares, ampliando o dano inicial (RICE-EVANS et al., 1991).

O processo finaliza na fase de terminação, onde ocorre a transformação dos radicais formados em produtos não radicalares. Os radicais alcoxila e peroxila também podem sofrer dismutação ou clivagem, originando aldeídos; podem formar uma ligação covalente com resíduos de aminoácidos; ou podem sofrer um rearranjo, formando produtos secundários da peroxidação lipídica (LIMA, ABDALLA, 2001). Este processo é apresentado esquematicamente na figura 7.

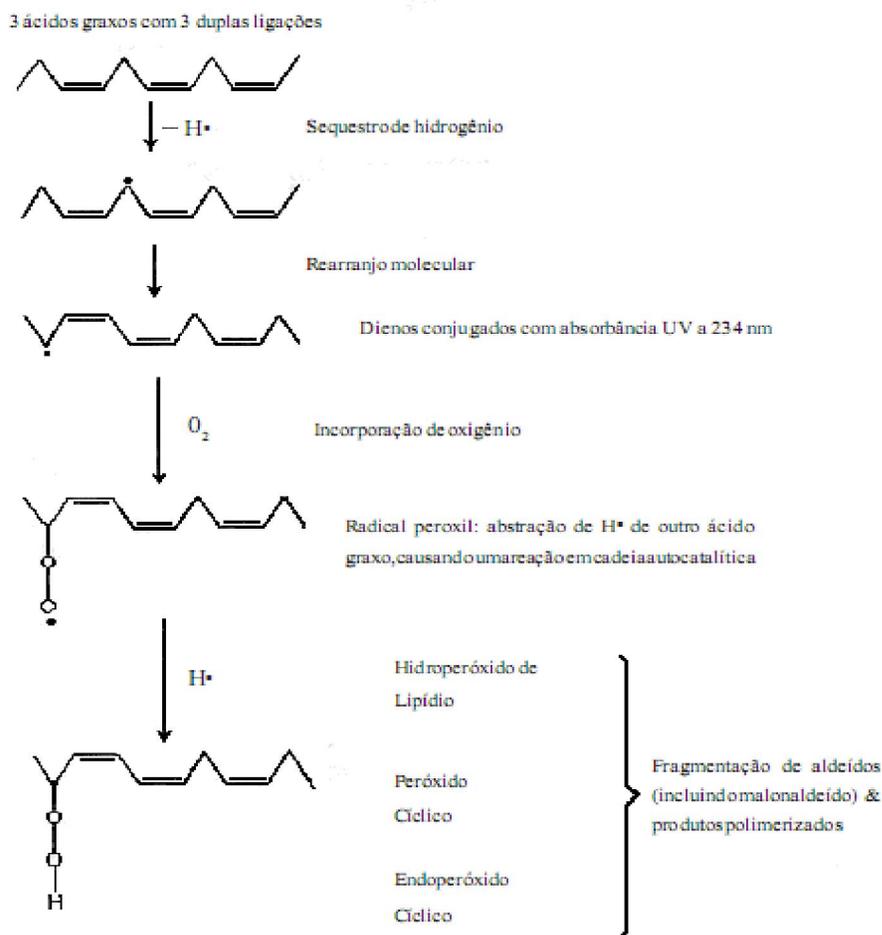


Figura 7 – Processo de peroxidação lipídica com as fases de iniciação, propagação e terminação. Fonte: Mafra et al., 1999.

No entanto, os radicais formados durante a peroxidação lipídica são espécies altamente reativas e que são catalisadas pelo ferro, que por sua vez, podem iniciar uma nova cadeia de reações. A velocidade destas reações irá depender da valência do ferro que estará catalisando a reação (FERREIRA, MATSUBARA, 1997).

A peroxidação lipídica pode trazer sérios danos à função celular como, por exemplo, a diminuição da fluidez da membrana, alterando a sua permeabilidade (KERKSICK, WILLOUGHBY, 2005). Como a fluidez da membrana está alterada, ela também perde a sua capacidade de manter o gradiente iônico, podendo levar a

expansão do líquido intracelular e consequente ruptura da membrana celular e de suas organelas, resultando na sua morte (VASCONCELOS et al., 2007).

Durante o processo de peroxidação da membrana há a formação de uma série de produtos, como por exemplo, o malondialdeído (MDA) que é gerado a partir da quebra do hidroperóxido lipídico (VASCONCELOS et al., 2007). Estes produtos podem ser utilizados como marcadores de dano oxidativo no organismo. O MDA possui ação citotóxica e genotóxica, sendo encontrado em altos níveis em algumas doenças (ANTUNES et al., 2008). Na doença de Parkinson são encontrados altos níveis de MDA, além de outros produtos da peroxidação lipídica (CHINTA, ANDERSEN, 2008).

A origem da peroxidação lipídica parece estar envolvida com a deficiência na proteína da cadeia respiratória mitocondrial do complexo I, provocando a produção excessiva de EROs. Esta alteração foi encontrada na substância negra de pacientes com a DP (SCHAPIRA, 2009).

Como mencionado anteriormente, o estresse oxidativo somente irá se estabelecer quando a produção de EROs superar a capacidade antioxidante do organismo.

1.2.3 Antioxidantes

Em todas as células existe a necessidade de se manter um equilíbrio entre a quantidade de espécies reativas de oxigênio e a sua remoção através de antioxidantes, mantendo os níveis de EROs em níveis não tóxicos (ZHOU et al., 2008).

Assim, para combater os efeitos deletérios das EROs, o organismo desenvolveu um complexo sistema antioxidante composto por antioxidantes enzimáticos e antioxidantes encontrados na dieta alimentar (PRASAD et al., 1999; KERKSICK, WILLOUGHBY, 2005).

Os antioxidantes enzimáticos são compostos principalmente pela superóxido dismutase, catalase (CAT), glutathione redutase (GSSr) e glutathione peroxidase (GSH-Px; PRASSAD et al., 1999). A SOD tem a função de eliminar o radical superóxido em uma das reações mais rápidas de eliminação de espécies reativas, além de ter um

papel fundamental no controle das EROs nas células, pois geralmente é a primeira linha de defesa contra o ataque das EROs (ZHOU et al., 2008; PERRY et al., 2010).

A SOD atua no ânion superóxido como catalisador na dismutação do radical superóxido a peróxido de hidrogênio e oxigênio (VASCONCELOS et al., 2007) como na seguinte reação (Figura 8):

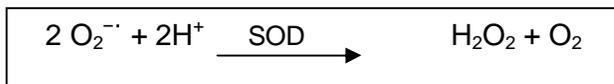


Figura 8 – Redução do ânion superóxido catalisado pela superóxido dismutase.

No entanto, o acúmulo do H_2O_2 pode ser prejudicial principalmente na presença de metais de transição devido a sua conversão a radical hidroxila através da reação de Fenton, como mostrado anteriormente. Assim, a remoção do H_2O_2 se faz necessário para evitar a formação do radical hidroxila, sendo feita através da CAT (KÜLTZ, 2005).

A CAT é uma hemoproteína citoplasmática que catalisa a redução do H_2O_2 a água e oxigênio (FERREIRA, MATSUBARA, 1997) como na reação mostrada abaixo (Figura 9):



Figura 9 – Reação da catalase com o peróxido de hidrogênio.

No entanto, a maior parte dos H_2O_2 é removida pela GSH-Px, que tem um sítio ativo de selênio e está envolvida não somente na remoção de H_2O_2 , mas também no metabolismo de peróxidos lipídicos. O substrato da GSH-Px, a glutathiona reduzida (GSH) também pode exercer papel antioxidante, sendo consumida durante a degradação do H_2O_2 , formando água e a glutathiona oxidada (GSSG; HALLIWELL, 1996) mostrada na reação abaixo (Figura 10):

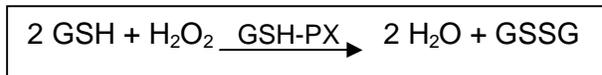


Figura 10 – Transformação do peróxido de hidrogênio em água através da glutathiona peroxidase.

A GSSr atua na recuperação da GSH, sendo essencial para a manutenção de proteção celular. A GSSr é uma flavoproteína dependente de NADPH (FERREIRA, MATSUBARA, 1997).

Além disso, a GSH tem a capacidade de regenerar outros antioxidantes como a vitamina E e a vitamina C na sua forma reduzida, sendo importantes no combate da peroxidação lipídica, quando esta já está desencadeada (VALKO et al., 2007).

Os antioxidantes presentes na dieta alimentar como flavonóides e polifenóis têm sido utilizados como forma de tratamento para algumas doenças como traumatismo cranioencefálico, acidente vascular encefálico e doenças de Parkinson e Alzheimer, com intuito de prevenir doenças que são provocadas pelo estresse oxidativo (ZHAO, 2009).

No entanto, o uso terapêutico de antioxidantes naturais tem se mostrado um desafio, pois se observa uma pobre absorção pelo organismo e uma limitada distribuição para a mitocôndria, além da necessidade de baixas doses para que não haja efeitos tóxicos durante o seu uso (MURPHY, SMITH, 2007).

Além do uso terapêutico, os antioxidantes também podem ser utilizados para avaliar o estresse oxidativo nos organismos principalmente em doenças neurodegenerativas como a doença de Parkinson, por exemplo, sendo observada a atividade da defesa antioxidante através de inúmeros métodos em diferentes tipos de amostras (MIGLIORE, COPPÈDE, 2009).

Na doença de Parkinson é observada uma diminuição na atividade antioxidante, havendo uma redução nos níveis de GSH em encéfalos de pacientes com a doença em estudos *post mortem* e aumento na atividade da SOD, tornando-os suscetíveis ao estresse oxidativo, uma vez que o aumento no nível de antioxidantes é uma forma do organismo se proteger da grande produção de EROs que podem levar a danos na célula. No entanto, este efeito também pode se esgotar ao longo do tempo (BERG et al., 2004; FUKAE et al., 2007; CHINTA, ANDERSEN, 2008;).

Além de alterações na atividade antioxidante no encéfalo de pacientes com a DP, também foram encontradas redução na atividade antioxidante total no plasma destes pacientes acompanhada com o aumento nos níveis de substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico - TBARS (SERRA et al., 2009).

Na análise da capacidade antioxidante total é possível observar a ação acumulativa de todos os antioxidantes presentes neste meio, possibilitando obter um parâmetro integrado do equilíbrio redox *in vivo*. Além disso, esta análise permite a avaliação de fatores nutricionais, fisiológicos e ambientais que podem interferir no balanço redox em seres humanos (VASCONCELOS et al., 2007).

Os métodos utilizados para a avaliação da capacidade antioxidante total são técnicas em que um radical é gerado, reagindo com moléculas-alvo para produzir cor, fluorescência, quimioluminescência ou outra mudança mensurável. A presença de antioxidantes altera esses sinais, permitindo a sua análise quantitativa. Um dos métodos muito utilizados é a capacidade antioxidante total equivalente ao Trolox (TEAC), onde a capacidade antioxidante é comparada com o análogo sintético da vitamina E, o Trolox (VASCONCELOS et al., 2007).

1.2.4 Estresse Oxidativo e a Doença de Parkinson

A relação estabelecida entre o estresse oxidativo e a DP está particularmente ligada à disfunção na cadeia respiratória mitocondrial, provocando um aumento na produção de EROs (SCHAPIRA, 2009).

Durante o próprio envelhecimento há uma diminuição na atividade dos antioxidantes acompanhados do aumento na produção de EROs (HERRERA et al., 2009), podendo o estresse oxidativo estar relacionado com o processo de envelhecimento e inclusive, podendo explicar o declínio motor e cognitivo encontrado nas doenças de Parkinson e Alzheimer (JOSEPH et al., 2009).

Além disso, o encéfalo também é alvo de ataque das EROs, pois apesar do encéfalo compreender apenas 2% do peso total do corpo, ele consome cerca de 20% do consumo total de oxigênio. Outro motivo está no fato de que no encéfalo existe uma grande quantidade de ácidos graxos poliinsaturados que são facilmente oxidados pelas EROs (FACHINETTI et al., 1996; EMERIT et al., 2004; CHINTA, ANDERSEN, 2008).

O encéfalo também não é dotado de um sistema de defesa antioxidante hábil, apresentando baixos níveis de glutathione e uma atividade moderada de antioxidantes enzimáticos, tais como: a catalase, a superóxido dismutase e a glutathione peroxidase.

Ao mesmo tempo, possui altas concentrações de metais de transição que contribuem para a produção de EROs (AQUILANO et al., 2008), tornando-o suscetível ao estresse oxidativo, podendo ter como consequência a morte celular, comumente encontrado na DP.

Além da predisposição ao ataque de EROs característica do sistema nervoso, algumas áreas apresentam características peculiares que as tornam ainda mais propensas ao desenvolvimento de peroxidação lipídica, como é o caso da substância negra, através do metabolismo da dopamina que pode ser uma fonte de EROs nos neurônios nigroestriatais (ANDREADOU et al., 2009).

O principal neurônio presente na substância negra é o neurônio dopaminérgico. A dopamina citosólica produz semiquinonas e quinona eletrofílicas, estas atuam como oxidantes, auxiliando na produção de espécies reativas (ONYANGO, 2008). Há indícios de que a neuromelanina, presente nestes neurônios, seja produto da auto-oxidação da dopamina. Além disso, a neuromelanina pode se ligar ao ferro presente em elevadas concentrações na substância negra, aumentando a vulnerabilidade de neurônios com melanina de sofrerem dano oxidativo (FACHINETTI et al., 1996).

Muitos estudos têm sugerido a relação do estresse oxidativo com a DP e a análise de estudos *post mortem* em tecidos encefálicos de pacientes com a doença tem mostrado que a degeneração dos neurônios dopaminérgicos está envolvida com o estresse oxidativo através da observação dos altos níveis de peroxidação lipídica e da diminuição da capacidade antioxidante (TSANG, CHUNG, 2008; ZHOU et al., 2008; MIGLIORE, COPPÈDE, 2009).

O estresse oxidativo pode estar envolvido na DP desde os eventos primários até a sua progressão, sendo responsável não somente pela degeneração neuronal em si, mas também no processo de aceleração da perda neuronal (BERG et al., 2004).

Observa-se que em todas as outras hipóteses, como a da neuroinflamação (ZHOU, HUANG, PREZEDBORSKI, 2008), disfunção mitocondrial (ONYANGO, 2008; PARKER et al., 2008), excitotoxicidade (TANG, CHUNG, 2009) e alterações genéticas (EMERIT et al., 2004), o estresse oxidativo é comumente considerado como participante importante na via que leva à morte neuronal. O que não se sabe é se o estresse oxidativo é uma causa ou uma consequência da doença de Parkinson (Figura 11). No

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Verificar a existência de alterações no metabolismo oxidativo e sua relação com a capacidade funcional em pacientes com a doença de Parkinson.

2.2 Objetivos Específicos

- Correlacionar a capacidade antioxidante total com a capacidade motora e funcional de pacientes.

- Correlacionar a peroxidação lipídica com a capacidade motora e funcional de pacientes com a doença de Parkinson;

3. MÉTODOS

3.1 Pacientes

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

A amostra foi constituída por pacientes atendidos na Unidade de Ensino e Assistência de Fisioterapia e Terapia Ocupacional (UEAFTO) e membros da APP (Associação de Parkinsonianos do Pará), sendo vinte e seis com diagnóstico de doença de Parkinson com tratamento medicamentoso e trinta e três sem a doença, estes últimos constituíram a população controle.

Participaram somente pacientes que concordaram com a pesquisa de acordo com o que foi proposto no termo de livre consentimento esclarecido, onde foram agendadas as avaliações neurológicas na UEAFTO com o objetivo de ser realizar uma triagem destes pacientes.

Para o estabelecimento da amostra de parkinsonianos teve-se como critérios de inclusão: pacientes com diagnóstico da doença de Parkinson, entre os estágios 1 a 5 de acordo com a Escala de Hoehn & Yahr modificada, sem preferência de sexo. E para a amostra controle, tiveram-se os seguintes critérios de inclusão: pacientes livres do diagnóstico da doença de Parkinson, atendidos na UEAFTO, sem preferência de sexo.

Os pacientes com DP foram agrupados de acordo com a sua pontuação na escala de Hoehn & Yahr modificada, os pacientes com pontuação de 1 a 2 na nesta escala foram classificados dentro do grupo considerados no estágio inicial; os pacientes que apresentaram pontuação entre 2,5 e 3 foram classificados dentro do grupo considerado no estágio intermediário e os pacientes com pontuação entre 4 e 5 no grupo de estágio avançado

Quando os pacientes correspondiam aos parâmetros de inclusão da população da pesquisa, eram encaminhados para a avaliação funcional e para a coleta de sangue. A avaliação funcional foi realizada no Laboratório de Atividades de Vida Diária (AVD) da unidade assim como a coleta de sangue.

Durante as avaliações, foi observado que os pacientes atendidos na UEAFTO encontravam-se somente no estágio inicial da doença, não sendo possível a participação dos pacientes no estágio avançado devido a impossibilidade de serem deslocados de suas residências até a unidade. Tendo em vista que o presente trabalho visa avaliar os pacientes nos diferentes estágios da doença, contornou-se a situação entrando-se em contato com a Associação de Parkinsonsonianos do Pará que indicou pacientes que se encontravam em estágio avançado da doença. Essas famílias foram contactadas, sendo agendada uma visita domiciliar para a avaliação neurológica e funcional juntamente com a coleta sanguínea.

3.2 Avaliação Motora e Funcional

Os pacientes eram encaminhados pelas neurologistas para a avaliação funcional que foi realizada no laboratório de atividades de vida diária. Este laboratório consiste em um espaço que simula o ambiente domiciliar, composto de uma sala de estar, cozinha, quarto e banheiro, contendo todos os utensílios comumente encontrados em um domicílio regular. Neste laboratório, era simulada a realização das atividades de vida diária que se encontravam nas escalas de avaliação funcional utilizadas no presente trabalho e detalhadas abaixo. Os pacientes em estágios avançados foram avaliados no próprio domicílio.

A avaliação das atividades de vida diária (AVD) foi realizada através da Escala de Katz e colaboradores (1970; ANEXO A). Esta escala contém seis itens para serem avaliadas as atividades mais básicas que o paciente pode realizar, dentre elas estão: banho, vestir-se, higiene pessoal, transferência, continência e alimentação. Foi observado se os pacientes conseguiam realizar estas atividades de forma independente, recebendo 1 ponto para aquelas que realizavam sozinhos e 0 para aquelas que não conseguiam realizar ou realizavam com ajuda. A pontuação foi

classificada em: 6 a 5 pontos – independência; 4 a 3 pontos – déficit moderado; 2 a 0 pontos – déficit severo.

Para a avaliação das atividades instrumentais da vida diária (AIVD) foi utilizada a Escala de Lawton (1982; ANEXO B). A escala é composta por 9 itens, dentre eles: usar o telefone; deslocar-se utilizando algum meio de transporte; fazer compras; preparar a própria refeição; arrumar a casa; realizar trabalhos manuais domésticos, lavar e passar roupa; administração da medicação e das finanças pessoais. A pontuação para cada item é em torno de 1 a 3 pontos, sendo 1 para atividades que consegue executar sem ajuda, 2 com ajuda parcial e 3 não consegue realizar. Para a classificação da pontuação, os pacientes que fizeram de 19 a 27 pontos foram classificados como independentes, 10 a 18 pontos capacidade com assistência, 1 a 9 pontos dependentes.

Foi utilizada a Escala de Avaliação da Marcha e Equilíbrio de Tinetti (1986; ANEXO C) com o intuito de se identificar e quantificar o grau de prejuízo funcional comparado ao grau de independência e mobilidade. A escala é composta por 16 itens que são: equilíbrio sentado; levantando; tentativas de levantar; assim que levanta (primeiros 5 segundos); equilíbrio em pé; teste dos 3 tempos; olhos fechados; girando 360 graus; sentando; início da marcha; comprimento e altura dos passos; simetria dos passos; continuidade dos passos; direção; tronco e distância dos tornozelos. Para cada item, os pacientes eram pontuados de 0 a 2 pontos de acordo com a realização da atividade solicitada, onde os pacientes que apresentaram pontuação abaixo de 19 pontos foram classificados com risco de queda 5 vezes maior do que a população normal.

3.3 Obtenção e preparação das amostras sanguíneas

A coleta foi realizada após a aplicação das escalas funcionais a fim de se evitar que um possível estresse provocado pela coleta sanguínea pudesse interferir no resultado das avaliações.

Foi coletada de cada paciente uma amostra de 5 ml de sangue em tubos a vácuo contendo EDTA. As amostras de sangue foram imediatamente colocadas em gelo e levadas para o laboratório onde foram centrifugadas a 3500 rotações por minuto

(rpm) por 15 minutos. Uma parte do soro foi encaminhada ao Laboratório de Análises Clínicas da Universidade do Estado do Pará (UEPA) para os exames bioquímicos e a outra foi armazenada em nitrogênio líquido para análise da peroxidação lipídica e da capacidade antioxidante total. A coleta foi realizada por um experiente técnico de enfermagem do posto de coleta do Laboratório de Análises Clínicas da UEPA.

Os exames laboratoriais realizados foram: hemograma, glicose, uréia, creatinina, cálcio, TGP, TGO, Gama-GT e VDRL. Os resultados dos exames foram entregues aos pacientes, e aqueles que apresentaram alguma alteração nos exames, foram encaminhados à Unidade Básica do Marco, onde foram atendidos pelos médicos do posto. Além disso, muitos dos pacientes com a DP necessitavam destes exames de rotina como condição para o recebimento gratuito da medicação para o tratamento da DP nos centros de referência.

3.4 Determinação da atividade antioxidante total equivalente ao Trolox (TEAC)

Para a avaliação da atividade antioxidante total equivalente ao Trolox (TEAC) utilizou-se a técnica de Miller e colaboradores (1993) adaptado por Re e colaboradores (1999), sendo analisado no Laboratório Morfofuncional em Saúde da UEPA. O Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrameticromono-2-carboxílico) é um análogo hidrossolúvel da vitamina E, sendo utilizado como solução padrão. O método é uma técnica colorimétrica com base na reação entre o 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolína-ácido-6-sulfônico-diamônio (ABTS) e o persulfato de potássio ($K_2S_2O_8$), dando origem o radical cátion $ABTS^{*+}$, cromóforo de cor verde/azul com absorvância máxima nos comprimentos de onda 645, 734 e 815 nm.

O TEAC reflete a habilidade do hidrogênio ou do antioxidante doador de elétron de eliminar o radical cátion $ABTS^{*+}$ comparando-se com o padrão, neste caso, o Trolox (KARALI et al., 2009). Inicialmente, preparou-se o tampão fosfato com pH 7.2. Posteriormente, preparou-se a solução de estoque de $ABTS^{*+}$ que foi feito 12 horas antes das dosagens, sendo conservado no escuro à temperatura ambiente. Também foi preparada a solução de estoque de Trolox (Aldrich Chemical Co 23,881-3)

No dia das dosagens, preparou-se a solução de trabalho de $ABTS^{*+}$, que foi misturada com o tampão fosfato. Desta solução, foram retirados 3 ml para leitura em

espectrofotômetro para a sua calibração, sendo a leitura realizada em uma absorvância de 734 nm a temperatura de 30°C. A partir disso, foi realizada a curva padrão, utilizando-se o Trolox preparado anteriormente, seguido de suas diluições com o tampão, sendo submetido à leitura de absorvância em cubeta de quartzo a 734 nm em 25°C.

Para a leitura das amostras, colocou-se 2970 µl da solução de trabalho de ABTS⁺ na cubeta de quartzo, realizando-se a leitura na absorvância a 734 nm. Em seguida, acrescentou-se 30 µl da amostra, homogeneizou-se manualmente e com o auxílio de uma pipeta por 20 segundos, reiniciando-se a leitura na mesma absorvância dentro de um intervalo de 5 minutos. O valor final da leitura das amostras foi quantificado em mM/l.

3.5 Determinação da concentração de substâncias que reagem com o ácido tiobarbitúrico (TBARS)

Para a determinação da concentração de TBARS no soro dos pacientes foi utilizado o método de Kohn e Liversedge (1944) adaptado por Percário et al. (1994). A técnica baseia-se na incubação do material em meio ácido e aquecido, onde o MDA reage com uma variedade de agentes nucleofílicos para produzir cromógenos com alta absorvância molar no espectro visível. A sua condensação com o ácido tiobarbitúrico (TBA) forma produtos que podem ser determinados por absorção ou por fluorescência no espectrofotômetro (LIMA, ABDALLA, 2001).

Durante a determinação da concentração de TBARS nas amostras de soro dos pacientes, juntou-se 200 µl de amostra com 1 ml do reagente de ácido tiobarbitúrico (TBA 10mM em KH₂PO₄ – Fosfato monobásico de potássio) em tubos de ensaio resistentes a altas temperaturas, em seguida levou-se as amostras ao banho Maria a 95°C durante uma hora. Após o banho, os tubos foram esfriados em temperatura ambiente durante 15 minutos e adicionado 4 ml de álcool n-butílico. Posteriormente, foram homogeneizados e levados a centrifuga a 3.000 rpm por 15 minutos. Ao saírem da centrifuga, foi possível visualizar a formação de duas fases nas amostras, sendo

coletados 3 ml do sobrenadante os quais foram colocados em cubetas de quartzo para serem analisadas no espectrofotômetro a 535nm.

Durante a realização dos testes para a dosagem da concentração do TBARS, observou-se que quando as amostras eram retiradas diretamente do nitrogênio líquido e descongeladas em temperatura ambiente ocorria coagulação de proteínas quando passavam pelo banho-maria, além de não haver mudança de coloração das amostras. Também foi observado que em quantidades acima de 200 µl de amostras ocorria o mesmo problema. A partir disso, as amostras eram retiradas do nitrogênio líquido e descongeladas paulatinamente no freezer durante 2 dias para posterior descongelamento total em temperatura ambiente, além de se estabelecer o volume de 200 µl para ser utilizado nas dosagens.

3.6 Análise estatística

Os resultados da avaliação motora e funcional, a capacidade antioxidante total equivalente ao Trolox e a concentração de TBARS foram submetidos ao teste ANOVA para um critério com amostras independentes. Ao se alcançar o nível de significância de 0,01 foi realizado o pós-teste de Tukey com nível de significância de $p < 0,01$. A correlação de Pearson foi utilizada para correlacionar os resultados da avaliação funcional e motora com os resultados da capacidade antioxidante, para os estágios da doença com a capacidade antioxidante, bem como para se correlacionar a concentração de TBARS com o TEAC e com a avaliação motora e funcional. Para se comparar os valores médios do TEAC e do TBARS entre os grupos de Parkinson e controle utilizou-se o teste *t student* para duas amostras independentes. O nível de significância aceito para todos os testes foi $p < 0,05$.

4. RESULTADOS

4.1 Perfil clínico dos pacientes

No momento em que foram avaliados, os pacientes com DP tinham em média 5,8 anos de tempo transcorrido desde o diagnóstico da doença. Apresentavam como principais sintomas a rigidez, a bradicinesia e o tremor, onde somente um paciente não manifestava este último sintoma. Mais da metade dos pacientes ($n=17$) estavam sob terapia medicamentosa utilizando levodopa. Outras características como o estágio da doença de acordo com a escala de Hoehn & Yahr, assim como o sexo e a mediana de idade estão mostradas na tabela 1.

Tabela 1. Perfil clínico e social dos pacientes com a doença de Parkinson e do grupo controle

Dados Demográficos	Pacientes com Parkinson (n=26)	Pacientes Controle (n= 33)
Homem: Mulher	13:13	13:20
Mediana de idade (anos)	67	66
Pontuação média na Escala de Hoehn & Yahr	2,5± 1,5	N.A.

Nota: *N.A.- Não aplicado.

Após a avaliação motora e funcional, foram coletadas amostras de sangue, sendo uma parte armazenada para a análise dos parâmetros oxidativos e a outra destinada para os exames bioquímicos laboratoriais que foram entregues aos pacientes. Observou-se que no exame bioquímico não houve diferença significativa nos resultados entre os pacientes com a doença e os pacientes controle.

4.2 Avaliação motora e funcional

Observou-se que dos 26 pacientes com DP avaliados, 18 encontravam-se dentro da escala de Katz classificados como independentes, 2 como déficit moderado e 6 como déficit severo. No grupo controle todos se encontravam dentro da classificação de independentes, totalizando 33 pacientes. A distribuição dos pacientes por estágio da

doença com as suas respectivas classificações na escala de Katz são encontradas na tabela 2.

Tabela 2 - Distribuição dos pacientes com doença de Parkinson por estágio de acordo com a sua classificação na escala de Katz.

Classificação na Escala de Katz	Número de pacientes em cada classificação na Escala de Katz	Número de pacientes de acordo com o grupo de estágio na Escala de Hoehn & Yahr
Independência	17	Estágio inicial – 6 Estágio intermediário – 9 Estágio avançado – 2
Déficit moderado	2	Estágio inicial – 1 Estágio Intermediário – 1
Déficit severo	7	Estágio inicial – 1 Estágio intermediário – 1 Estágio avançado – 5

Os pacientes no estágio inicial foram os que apresentaram uma pontuação média maior na escala da AVD de Katz (5,0), sendo classificados como independentes, bem como os pacientes no estágio intermediário (5,0). Portanto, não houve diferença significativa entre estes dois grupos, assim como não foi observada diferença significativa entre os pacientes no estágio inicial e intermediário em relação aos pacientes controle, sendo o conjunto desses 3 grupos representado na figura 12 como grupo 1. Por outro lado, os pacientes no estágio avançado apresentaram pontuação média na escala de Katz significativamente menor em relação aos demais grupos (2,0; $p < 0,01$), sendo representado pelo grupo 2 na figura 12.

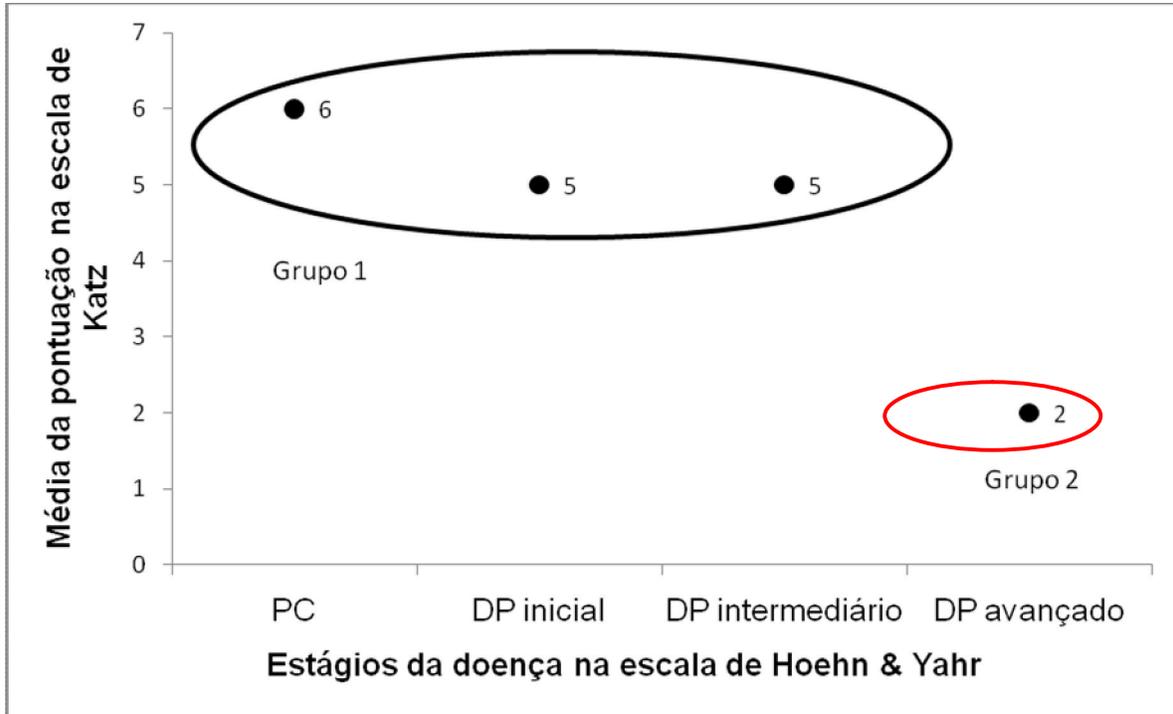


Figura 12 – Pontuação média na escala de Katz de acordo com os estágios da doença. Pacientes controle (PC), pacientes com a doença de Parkinson (DP) de acordo com o estágio da doença. Os resultados são mostrados em média. (n PC= 33; n DP inicial= 9; n DP intermediário= 9; n DP avançado= 8). *Análise de variância com pós-teste de Tukey, nível de significância para o grupo 2 foi de $p < 0,01$ comparado com os demais pacientes do grupo 1.*

Durante a avaliação das atividades instrumentais da vida diária através da escala de Lawton, avaliou-se o desempenho dos pacientes em realizar atividades cotidianas complexas, como fazer compras, gerenciar suas finanças, deslocar-se para locais distantes utilizando algum meio de transporte, dentre outros. Observou-se que 17 pacientes com DP ficaram dentro da classificação na escala de Lawton como independentes, 7 como capacidade com assistência, e 2 como dependentes. No grupo controle apenas 1 paciente encontrou-se dentro da classificação capacidade com assistência, os demais (32) sendo classificados como independentes.

De acordo com a escala de Lawton, os pacientes que obtiveram pontuação entre 19 a 27 pontos são considerados capazes de realizar suas AIVD de forma independente, já os pacientes que obtiveram pontuação entre 10 a 18 pontos, são considerados como capazes de realizar suas AIVD somente com auxílio de terceiros, enquanto que os pacientes que obtiveram pontuação entre 1 a 9 pontos são considerados incapazes de realizar estas atividades mesmo com auxílio de terceiros. A

distribuição dos pacientes por estágio da doença e as suas respectivas classificações na escala de Lawton são mostradas na tabela 3.

Tabela 3 – Distribuição dos pacientes com doença de Parkinson de acordo com o estágio da doença com sua respectiva classificação na escala de Lawton.

Classificação na Escala de Lawton	Número de pacientes em cada classificação na Escala de Lawton	Número de pacientes de acordo com o grupo de estágio na Escala de Hoehn & Yahr
Independência	17	Estágio inicial – 9 Estágio intermediário – 8
Capacidade com assistência	7	Estágio intermediário – 1 Estágio avançado - 6
Dependência	2	Estágio avançado - 2

Observou-se que os pacientes nos estágios inicial e intermediário apresentaram-se dentro da classificação de independência, não havendo diferença significativa entre os dois grupos e os pacientes controle, sendo representados na figura 13 como grupo 1. Somente os pacientes em estágio avançado apresentaram uma pontuação média na escala de Lawton significativamente diferente em relação aos demais pacientes ($p < 0,01$), sendo representados como o grupo 2 na figura 13.

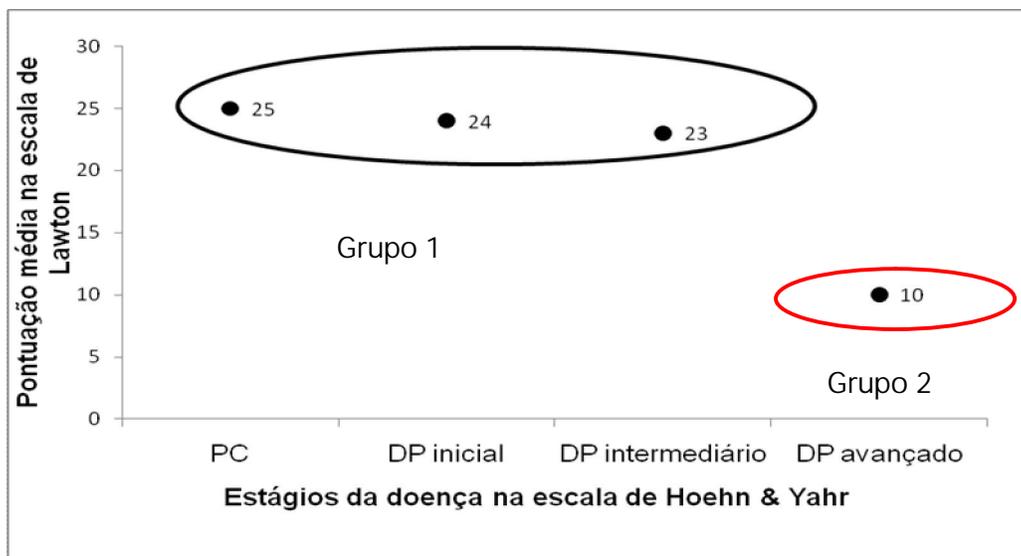


Figura 13 – Pontuação média na escala de Lawton de acordo com o estágio da doença. Pacientes controle (PC), pacientes com a doença de Parkinson (DP) de acordo com o estágio da doença. Os resultados são mostrados em média. *Análise de variância com pós-teste de*

Tukey, nível de significância para o grupo 2 foi de $p < 0,01$ comparado com os demais pacientes do grupo 1.

Aos serem avaliados com relação aos aspectos da marcha e do equilíbrio, pela escala de Tinetti, observou-se que 11 pacientes com DP apresentaram pontuação inferior a 19 pontos e 15 apresentaram pontuação superior a 19 pontos. No grupo controle, nenhum dos pacientes apresentou pontuação inferior a 19 pontos. Os pacientes que apresentaram pontuação abaixo de 19 pontos são pacientes que, de acordo com a escala de Tinetti, apresentam risco 5 vezes maior de quedas quando comparados com a população em geral. A distribuição dos pacientes com a doença de Parkinson de acordo com o estágio da doença e sua respectiva classificação na escala de Tinetti é mostrado na tabela 4.

Tabela 4 – Distribuição dos pacientes com a doença de Parkinson de acordo com o grupo de estágio e sua respectiva classificação na escala de Tinetti.

Classificação na Escala de Tinetti	Número de pacientes em cada classificação na Escala de Tinetti	Número de pacientes de acordo com o grupo de estágio na Escala de Hoehn & Yahr
Sem risco de quedas	15	Estágio inicial – 9 Estágio intermediário – 6
Com risco de quedas	11	Estágio intermediário – 3 Estágio avançado - 8

Observou-se que na escala de Tinetti, os pacientes que se encontravam no estágio inicial da doença não apresentaram diferença significativa na sua pontuação média em relação aos pacientes controle, sendo representados na figura 14 como grupo 1. O mesmo foi observado entre os pacientes nos estágios inicial e intermediário, sendo representados na figura 14 como grupo 2. No entanto, observou-se diferença significativa entre os pacientes no estágio avançado e os demais pacientes ($p < 0,01$), sendo representado como grupo 3 na figura 14. Também foi observado que os

pacientes nos estágios intermediário e avançado apresentaram diferença significativa em relação aos pacientes controle ($p < 0,01$).

Nota-se que com o avanço da doença, os pacientes apresentam um risco crescente de quedas de acordo com a escala de Tinetti a partir dos resultados mostrados na figura 14.

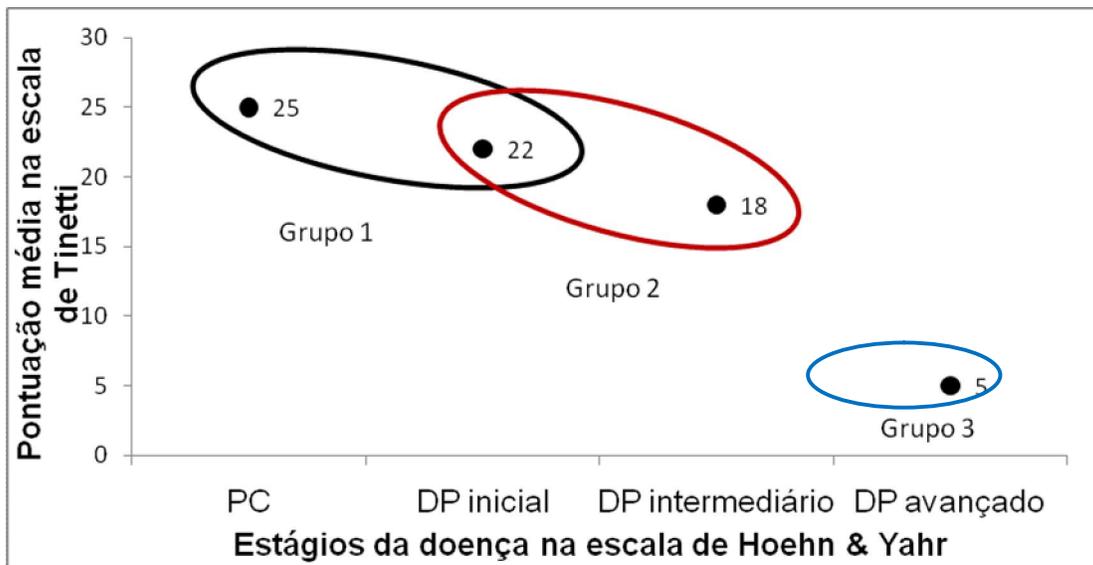


Figura 14 – Pontuação média na escala de Tinetti de acordo com o estágio da doença. Pacientes controle (PC), pacientes com a doença de Parkinson (DP) de acordo com o estágio da doença. Os resultados são mostrados em média. (n PC= 33; n DP inicial= 9; n DP intermediário= 9; n DP avançado= 8). *Análise de variância com pós-teste de Tukey, nível de significância para o grupo 3 foi de $p < 0,01$ comparado com os demais pacientes do grupo 1 e 2 e para os pacientes nos estágios intermediário e avançado em relação aos pacientes controle.*

4.3 Avaliação da capacidade antioxidante total equivalente ao Trolox (TEAC)

Durante a avaliação da capacidade antioxidante total houve diferença significativa entre os pacientes com DP e os pacientes controle, sendo que os pacientes com a doença apresentaram o nível da capacidade antioxidante total menor que os pacientes controle ($p < 0,01$; Figura 15).

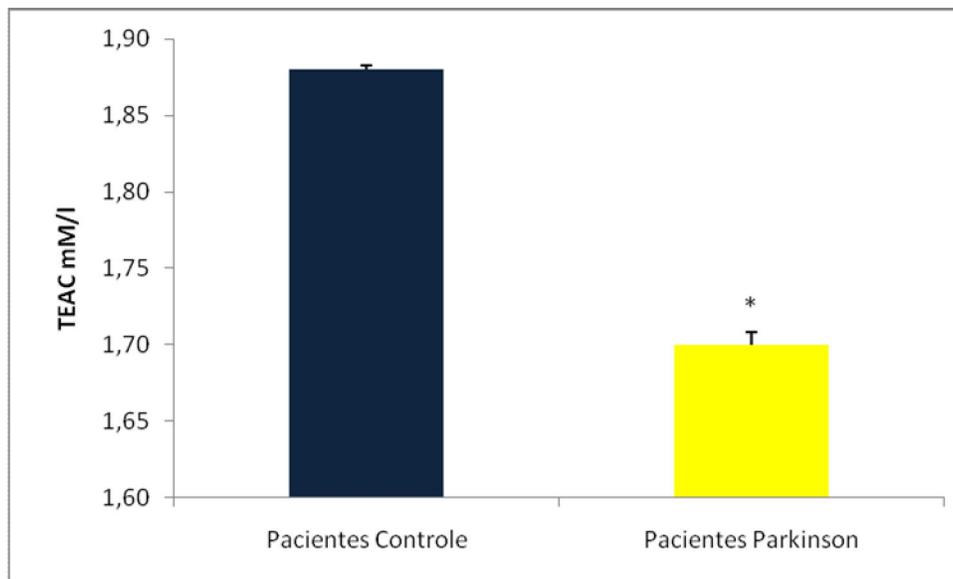


Figura 15 – Concentração média de TEAC entre os pacientes controle e os pacientes com a doença de Parkinson. Valores são mostrados em média e desvio padrão. (n Pacientes controle= 28; n Pacientes Parkinson= 26). Teste *t student* para duas amostras independentes ($t = 9,02$). * $p < 0,05$.

No entanto, ao se fazer a análise de variância entre os diferentes estágios da doença de acordo com a escala de Hoehn & Yarh e dos pacientes controle não foi observado diferença significativa entre os pacientes com a doença, sendo representados como grupo 2, porém em relação aos pacientes controle observou-se diferença significativa, sendo representados como grupo 1 na figura 16.

Assim, observa-se que não há uma correlação entre estágio da doença e a capacidade antioxidante total, pois em todos os estágios estes níveis encontraram-se baixos.

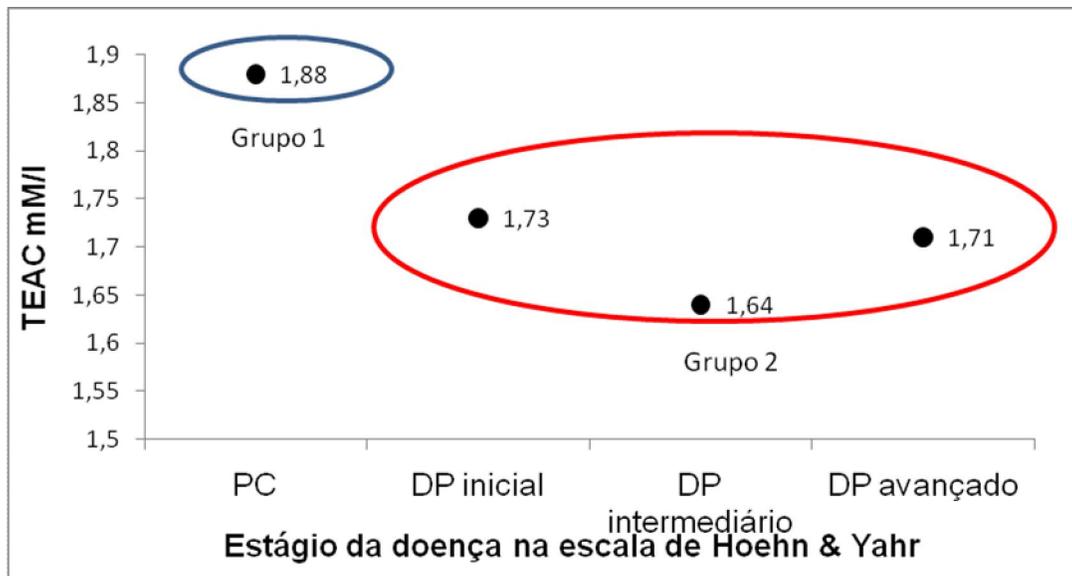


Figura 16 – Valores médios dos níveis da capacidade antioxidante total equivalente ao Trolox em relação aos estágios da doença. Pacientes controle (PC), pacientes com a doença de Parkinson (DP) de acordo com o estágio da doença. Os resultados são mostrados em média. (n PC= 33; n DP inicial= 9; n DP intermediário= 9; n DP avançado= 8). Análise de variância com pós-teste de Tukey, nível de significância para o grupo 1 em relação aos demais pacientes do grupo 2 foi de $p < 0,01$.

4.4 Correlação entre idade, sexo, uso de L-dopa e a capacidade antioxidante total equivalente ao Trolox

Ao se tentar estabelecer uma correlação entre a idade e a capacidade antioxidante total equivalente ao Trolox dos pacientes com a doença de Parkinson, observou-se que não houve uma correlação significativa ($r=0,15$; $p= 0,43$; n pares=26), uma vez que os pacientes com a doença de Parkinson apresentaram níveis baixos da capacidade antioxidante independente de sua idade.

Com relação ao sexo, não foi observada diferença significativa na atividade antioxidante dos pacientes com a doença de Parkinson do sexo masculino (1,68) em relação aos pacientes do sexo feminino (1,71). Assim como não foi observada diferença significativa entre os pacientes que faziam uso da L-dopa em relação aos pacientes que faziam uso de outras medicações.

4.5 Correlação entre o desempenho motor-funcional e a capacidade antioxidante total equivalente ao Trolox

Não foi observada uma correlação significativa entre o desempenho nas AVD na escala de Katz ($r = -0,307$; $p = 0,12$; n pares= 26), o desempenho nas AIVD na escala de Lawton ($r = -0,33$; $p = 0,09$; n pares= 26), e o desempenho motor na escala de Tinetti ($r = -0,24$; $p = 0,23$; n pares= 26) com a capacidade antioxidante total. Uma vez que todos os pacientes com a DP apresentavam níveis menores do TEAC mesmo apresentando um bom desempenho nas suas AVD e AIVD.

4.6 Avaliação da concentração das substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico – TBARS

Observou-se que os pacientes com doença de Parkinson apresentaram concentração média de TBARS mais elevada quando comparados com os pacientes controle. No entanto, esta diferença não foi significativa (Figura 17).

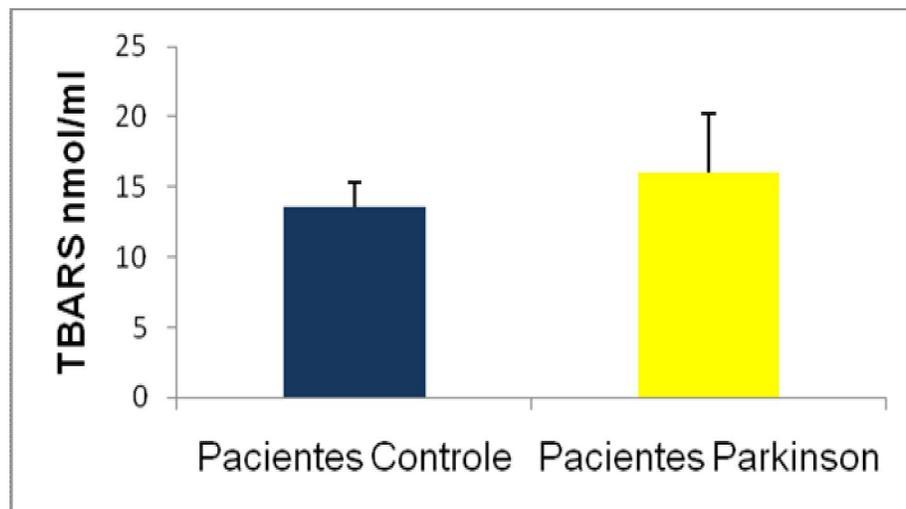


Figura 17 – Concentração média de TBARS entre os pacientes controle e os pacientes com a doença de Parkinson. Valores apresentados em média e desvio padrão. Teste *t* *student* para duas amostras independentes (n Pacientes controle= 33; n Pacientes Parkinson= 23; $t = -1,47$).

Ao se avaliar a concentração de TBARS em relação a classificação na escala de Hoehn & Yahr, observou-se que não houve diferença significativa nas concentrações de TBARS entre os pacientes com diferentes estágios da doença como observado na tabela 5.

Tabela 5 – Valores médios da concentração de TBARS nos pacientes com a doença de Parkinson de acordo com a classificação da escala de Hoehn & Yahr.

Classificação na escala de Hoehn Yahr	Valor médio da concentração de TBARS
Estágio Inicial ($n=7$)	14,45 ± 3,51
Estágio Intermediário ($n=9$)	15,95 ± 5,83
Estágio Avançado ($n=7$)	17,74 ± 11,49

Não foi observada diferença significativa nas concentrações médias de TBARS entre os pacientes que faziam uso da L-dopa e os pacientes que faziam uso de outras medicações.

4.7 Correlação entre a concentração de TBARS, sexo e a idade dos pacientes com a doença de Parkinson

Não foi observada uma correlação significativa entre a idade e a concentração de TBARS ($r=0,13$; $p=0,54$; n pares= 23), uma vez que mesmo os pacientes mais jovens apresentaram a concentração de TBARS próxima ou igual aos pacientes com idade mais avançada.

Também não foi observada diferença significativa nas concentrações de TBARS entre os pacientes do sexo masculino versus feminino. Os pacientes do sexo masculino apresentaram concentração média de 15,32 nmol/ml e os de sexo feminino 16,82 nmol/ml.

4.8 Correlação entre a concentração de TBARS e a avaliação motora e funcional dos pacientes com a doença de Parkinson

Ao se fazer a correlação entre a concentração de TBARS e o desempenho na escala de Katz não foi observada uma correlação significativa ($r = -0,29$; $p = 0,17$; n pares = 23), assim como na escala de Lawton ($r = -0,20$; $p = 0,35$; n pares = 23) e na escala de Tinetti ($r = -0,34$; $p = 0,10$; n pares = 23). As concentrações de TBARS não se apresentaram diferentes entre os pacientes com a DP, não sendo possível estabelecer uma correlação com os parâmetros motores e funcionais.

No entanto, ao se realizar a análise de variância para um critério entre a concentração de TBARS e a classificação na escala de Lawton, observou-se que os pacientes com doença de Parkinson classificados com independência e capacidade com assistência (grupo 1; figura 18) não apresentaram diferença significativa nas concentrações de TBARS entre eles, no entanto, ambos apresentaram concentrações de TBARS significativamente menores do que os pacientes classificados com dependência na escala de Lawton ($p < 0,05$), sendo representados como grupo 2 na figura 18.

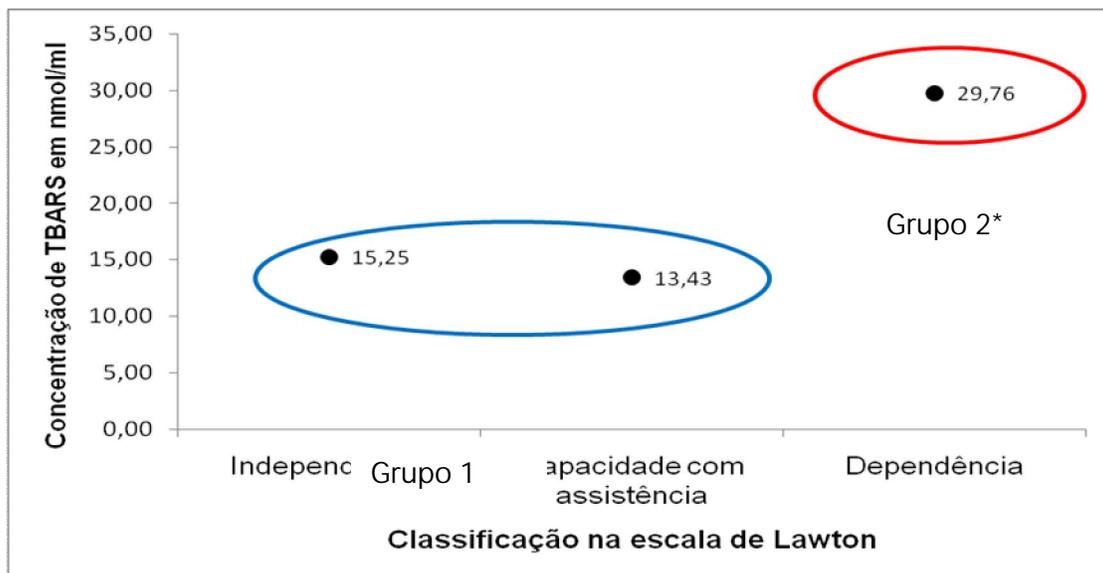


Figura 18. Concentração média de TBARS de acordo com a classificação na escala de Lawton para AIVD. Os resultados são mostrados em média. (n Independência = 15; n Capacidade com assistência = 6; n Dependência = 2. Análise de variância com pós-teste de Tukey. * $p < 0,05$).

5. DISCUSSÃO

A maioria dos casos da doença de Parkinson é de natureza idiopática, porém vários estudos têm mostrado alterações genéticas envolvidas na doença de Parkinson do tipo familiar (OTTER et al., 2010). Embora a doença tenha sido descrita há muitos anos, e muitos avanços tenham sido feitos desde então, ainda não se estabeleceu a causa da doença. Nos últimos anos, muitos estudos têm estabelecido fortes evidências sobre o envolvimento do estresse oxidativo na doença de Parkinson (CHINTA, ANDERSEN, 2008).

Neste sentido, objetivou-se relacionar os parâmetros motores e funcionais da DP com os parâmetros oxidativos na tentativa de diminuir a lacuna encontrada sobre esta temática.

5.1 Avaliação motora e funcional

Por conta de seu quadro clínico, a doença de Parkinson é uma doença incapacitante e, em longo prazo, os pacientes tornam-se dependentes de cuidadores, além de apresentarem maior risco a sua saúde quando comparados a outros indivíduos na mesma faixa etária (RODRIGUEZ et al., 2009).

Sintomas como a bradicinesia, a instabilidade postural e a rigidez dificultam a realização de movimentos considerados simples para muitos, como levantar-se de uma cadeira ou abotoar uma camisa, mas que para o doente de Parkinson é algo extremamente difícil de ser realizado. Tudo isso influencia na sua independência e conseqüentemente, na sua produtividade, fazendo com que muitos se aposentem e deixem de exercer suas profissões.

Durante a pesquisa, observou-se que atividades simples como vestir-se e alimentar-se foram encontradas deficitárias inclusive em alguns pacientes em estágio inicial da doença, mas que piorava em pacientes em estágio mais grave. Atividades mais complexas avaliadas na escala de Lawton como administração das finanças e deslocamento para locais distantes foram atividades que se encontraram prejudicadas em todos os estágios da doença.

Scalzo e colaboradores (2010) encontraram declínio cognitivo em seus pacientes com DP. Isso pode explicar os resultados encontrados na escala de Lawton no presente trabalho, para a dificuldade dos pacientes em realizar algumas atividades mais complexas, que exigiam maior uso de sua capacidade cognitiva, como fazer compras e cuidar das finanças.

Outro fator de risco para os pacientes está relacionado às alterações na marcha e no equilíbrio, tornando-os mais suscetíveis às quedas. Os distúrbios na marcha incluem a festinação, a dificuldade em iniciar a marcha e o congelamento, em que o paciente se depara com uma súbita paralisação dos movimentos durante a sua caminhada (HAUSDORFF, 2009). No estudo realizado pelo mesmo autor, dos 230 pacientes avaliados, 43% destes relataram ter caído pelo menos uma vez nos últimos 12 meses. As alterações no equilíbrio, principalmente no que se diz respeito ao déficit nos reflexos posturais também são outros fatores que contribuem para o risco de quedas nesta população, além de torná-los dependentes para se locomoverem (BENATRU et al., 2008).

Durante a avaliação da marcha através da escala de Tinetti, foi observada a presença de risco de quedas nestes pacientes, confirmando que os sintomas anteriormente mencionados contribuem para o aumento no risco de quedas. Além disso, em estágios mais avançados da doença observou-se piora na marcha e consequente aumento na probabilidade de sofrer quedas.

A marcha foi o sintoma que se deteriorou mais rapidamente em comparação aos demais sintomas. De acordo com Alty e colaboradores (2009) este também foi um dos sintomas que mais avançou durante o curso da doença nos pacientes avaliados em sua pesquisa.

Observou-se que durante a maioria das avaliações motoras e funcionais os pacientes nos estágios inicial e intermediário não se diferenciaram entre si e em relação aos pacientes controle. Segundo Alty e colaboradores (2009) isto pode ser resultado do efeito benéfico da L-dopa, onde os pacientes que se encontram ainda sob o efeito da medicação, o estado “ligado”, apresentam uma melhor resposta. Além disso, os pacientes no estágio inicial e alguns do estágio intermediário não sofrem

como os pacientes no estágio avançado em relação às flutuações motoras que a L-dopa provoca em longo prazo.

5.2 Pacientes com a doença de Parkinson apresentaram níveis da capacidade antioxidante total inferiores em relação aos pacientes controle independente do seu estágio

Para se defender do ataque das EROs contra as estruturas celulares, o organismo desenvolveu uma série de mecanismos de defesas para prevenir a formação de radicais livres e limitar os seus efeitos deletérios. Estes mecanismos incluem: inativação de peróxidos, proteínas para sequestrar metais de transição e vários outros componentes para transformar radicais livres em substâncias menos deletérias ao organismo (ZWART et al., 1999).

Dentre estes componentes encontram-se os antioxidantes enzimáticos e os não enzimáticos. Os não enzimáticos são encontrados comumente no meio extracelular (HALLIWELL, 1996). Estes antioxidantes possuem papel fundamental para a manutenção do equilíbrio redox necessário para a manutenção da sobrevivência celular (VALKO et al., 2007).

Embora ambos os tipos de antioxidantes tenham sua importância, observa-se que muitos estudos dão ênfase aos sistemas enzimáticos, não levando em consideração os antioxidantes não enzimáticos encontrados no plasma e/ou no soro que também são importantes, apresentando uma visão limitada sobre os processos oxidativos presentes naquele organismo (AGIL et al., 2006).

Para se avaliar o estresse oxidativo é necessário tanto a análise da capacidade antioxidante como do dano oxidativo. Segundo Agil e colaboradores (2006), a avaliação de elementos pró-oxidantes e antioxidantes no plasma é importante, pois os antioxidantes plasmáticos são hidrossolúveis e também devem ser levados em consideração.

Por outro lado, a avaliação destes parâmetros é algo difícil de ser feito com precisão devido a alguns fatores que influenciam na concentração ou na atividade de uma única molécula. Assim, não é possível analisar um único marcador químico para

determinar como se encontra o estado oxidativo de um indivíduo (CHEN et al., 2009). Também se observa a existência de vários métodos para se fazer esta avaliação, o que poderia explicar tantos resultados diferentes.

No presente estudo, verificou-se que os pacientes com a doença de Parkinson apresentaram a capacidade antioxidante total significativamente diminuída em relação aos pacientes controle, mas não apresentaram diferenças entre si nos diferentes estágios da doença, ou seja, a diminuição da capacidade antioxidante foi independente ao estágio em que os pacientes se encontravam.

Andreadou e colaboradores (2009) também encontraram estes resultados em relação à capacidade antioxidante não enzimática. Outros autores também encontraram estes resultados em antioxidantes enzimáticos (FOY et al., 1998; SERRA et al, 2001; ABRAHAM et al., 2005; SHARMA et al., 2007). Chen e colaboradores (2009) encontraram baixos níveis em ambos os tipos de antioxidantes. Em todos estes estudos não foi observada uma correlação entre o estágio da doença e o nível da capacidade antioxidante.

Este resultado indica que os pacientes com a DP são mais suscetíveis ao estresse oxidativo, pois não possuem um sistema antioxidante eficiente para combater a produção excessiva de EROs (ABRAHAM et al., 2005). Mesmo os pacientes em estágio inicial da doença apresentaram baixos níveis da capacidade antioxidante.

Os resultados observados dão subsídios a novas pesquisas a fim de se determinar se as alterações oxidativas podem ser utilizadas no diagnóstico precoce da doença. Estudos mais aprofundados podem levar à formulação de terapias utilizando-se de antioxidantes.

Vários pesquisadores têm buscado alternativas ao tratamento de pacientes com DP. Bloomer e colaboradores (2010) relataram que pacientes que praticaram exercícios físicos apresentaram uma diminuição na concentração de MDA e um aumento nos níveis da SOD, CAT e GSH-px. Outro estudo realizado em animais por Capitelli e colaboradores (2008) mostrou que o uso da melatonina preveniu a redução da expressão de células marcadas por tirosina hidroxilase e atenuou o efeito hipocinético causado pelo MPTP.

Neste sentido, estratégias como as destacadas anteriormente podem ser uma alternativa para combater os prejuízos causados pelo estresse oxidativo.

5.3 Não houve relação entre idade e o nível da capacidade antioxidante nos pacientes com a doença de Parkinson

Durante a avaliação da capacidade antioxidante, não foi observada diferença significativa no nível da capacidade antioxidante nos pacientes com diferentes idades. Também não se observou relação entre idade e a capacidade antioxidante. Alguns estudos observaram uma correlação entre o nível de antioxidantes com a idade dos pacientes com a doença (CHEN et al., 2009; BHARUCHA et al., 2008), verificando-se uma tendência de aumento da capacidade antioxidante com a idade.

No entanto, estes resultados devem ser melhor investigados pois outros estudos mostram resultados opostos (IHARA et al., 1999) ou não encontraram nenhuma relação entre idade e a capacidade antioxidante (YOUNES-MHENNI et al,1997; ABRAHAM et al., 2005; PRIGIONE et al., 2006; ANDREADOU et al., 2009; BAILLET et al, 2010).

5.4 Não houve relação entre o déficit motor e funcional e a capacidade antioxidante total dos pacientes com a doença de Parkinson

Não foi observada uma correlação entre o nível da capacidade antioxidante com o desempenho motor e funcional dos pacientes com a DP. Apenas verificou-se uma tendência no aumento da capacidade antioxidante com a piora no desempenho funcional.

Alguns estudos também não encontraram relação entre os aspectos clínicos e motores-funcionais da doença com os parâmetros oxidativos. Jiménez-Jiménez e colaboradores (1999) quantificaram o nível da co-enzima Q10 que é um importante antioxidante encontrado na mitocôndria e não encontrou diferença nos níveis desta co-enzima entre os pacientes com DP e os pacientes controle bem como não encontraram relação com os aspectos clínicos da doença.

Chalimoniuk e colaboradores (2004) avaliaram o nível da glutatona no soro de pacientes com a DP e também não verificou relação entre o déficit motor com o nível de antioxidantes presentes no soro. Por outro lado, Abraham e colaboradores (2005) encontraram uma correlação negativa entre a capacidade antioxidante enzimática e a avaliação motora.

Esta variabilidade nos resultados deve-se ao fato da doença de Parkinson se manifestar de maneira diversa em cada paciente, além das pesquisas utilizarem diferentes protocolos para avaliarem os parâmetros motores dos pacientes.

Ainda se observa poucos estudos relacionando os parâmetros motores-funcionais com os parâmetros oxidativos, sendo necessárias mais pesquisas para diminuir as divergências nos resultados encontrados nos diferentes estudos.

5.5 Não houve diferença significativa entre a concentração de TBARS dos pacientes com Parkinson e pacientes controle

Uma das formas de se analisar o dano celular causado pelo estresse oxidativo é a mensuração de subprodutos formados durante a peroxidação lipídica. Estes subprodutos são complexos, porém podem ser mensurados através de diversos métodos. O mais utilizado é a mensuração do MDA através da técnica do TBARS (GIASSON et al., 2002).

Embora a mensuração do MDA seja amplamente utilizada, tem se observado uma dificuldade em se relacionar os parâmetros clínicos com os parâmetros oxidativos, especialmente os de peroxidação lipídica devido a variabilidade de técnicas utilizadas. Além disso, os valores de referência para os níveis de MDA relatados na literatura são variados, sendo resultado da grande variabilidade das condições experimentais e das próprias técnicas utilizadas (ANTUNES et al., 2008).

Mesmo sem apresentar diferenças significativas nas concentrações de TBARS entre os pacientes controle e os pacientes com DP, observou-se no presente trabalho que os pacientes com DP apresentaram uma tendência a apresentar concentrações de TBARS maiores. Esta não significância pode ser reflexo da variabilidade encontrada nos resultados entre os pacientes, além do material analisado ser de difícil manejo.

Outro fator a ser levado em consideração foi a perda de algumas amostras durante o armazenamento, o que diminuiu ainda mais o número da população estudada.

No entanto, o resultado encontrado nesta pesquisa confirma os achados de outros autores (SHARMA et al., 2007; SUDHA et al., 2009) que analisaram o sangue dos pacientes com a doença, não havendo diferença significativa nas concentrações de TBARS entre os pacientes com a doença e os pacientes controle.

5.6 Não foi observada relação entre idade e concentração de TBARS nos pacientes com a doença

Embora o envelhecimento, como dito anteriormente, é um fator que contribui para o processo do estresse oxidativo, visto que doenças como diabetes e hipertensão, comumente encontradas em pacientes idosos também apresentam o estresse oxidativo como um dos fatores que contribuem para o surgimento destas doenças (SERRA et al., 2009), não foi observada diferença significativa na concentração de TBARS nos pacientes de diferentes idades.

Alguns autores encontraram resultados semelhantes aos da presente pesquisa (CHALIMONIUK et al., 2004; SERRA et al., 2009), não sendo observada nenhuma relação entre idade e concentração de TBARS. Por outro lado, Chen e colaboradores (2009) observaram que o avanço da idade diminui a concentração de TBARS. O mesmo autor refere esta diminuição ao uso das medicações anti-parkinsonianas que podem ter contribuído com a diminuição na produção de EROs, porém esta afirmação ainda é controversa, já que o uso prolongado de algumas medicações, como a L-dopa, provoca efeitos colaterais que pioram a condição do paciente.

5.7 Alterações nas concentrações de TBARS nos pacientes com a doença de Parkinson em relação ao déficit motor

Apesar de existirem poucos estudos que relacionam o déficit motor com o estresse oxidativo, as pesquisas encontradas revelaram um aumento da concentração de TBARS com a evolução da doença de acordo com a escala de Hoehn e Yahr

(IHARA et al., 1999; CHEN et al., 2009). No entanto, no presente estudo, não foi observado uma relação entre a concentração de TBARS e o quadro motor-funcional dos pacientes com a doença. Chalimoniuk e colaboradores (2004) também não encontraram relação entre a avaliação motora e a concentração de TBARS. Embora os primeiros autores tenham usado a escala de Hoehn e Yahr como parâmetro de análise, esta escala analisa a condição motora geral do paciente e não àquela relacionada a funcionalidade, para poder classificá-lo. Já o outro estudo utilizou a Escala Unificada para Doença de Parkinson (UPDRS) que é uma escala mais específica, porém, mesmo nos seus resultados em relação à concentração de TBARS não foi encontrado uma diferença significativa entre os pacientes com DP e os controle.

Isto pode ter ocorrido devido à utilização de soro, que pode não refletir as alterações oxidativas que ocorrem no sistema nervoso. No entanto, observa-se que no estudo de Chalimoniuk e colaboradores (2004) existe um aumento nas concentrações de TBARS em relação aos controles.

6. CONCLUSÃO

A partir dos resultados encontrados podemos concluir alguns aspectos nos pacientes com a doença de Parkinson:

- Diminuição progressiva da capacidade funcional e motora;
- Possível relação entre a diminuição da capacidade antioxidante e a presença da doença de Parkinson;
- A concentração de TBARS pode não ser um bom marcador bioquímico para a doença de Parkinson;
- Relação entre o aumento da capacidade antioxidante com o déficit funcional de acordo com a escala de Lawton entre os pacientes com a doença de Parkinson;

7. REFERÊNCIAS

ABRAHAM, S; SOUNDARARAJAN, C C; VIVEKANADHAN, S. Erythrocyte antioxidant enzymes in Parkinson's disease. *Indian J Med Res*, [s.l.], v. 121, n. , p.111-115, fev. 2005.

ALBANESE, A.. Diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Neurol Sci*, [s.l.], v. 24, n., p.S23-S26, 2003.

AGIL, Ahmad; DURÁN, Raquel; BARRERO, Francisco; MORALES, Blas; ARAÚZO, Mariano; ALBA, Francisco; MIRANDA, Maria Teresa; PRIETO, Isabel; RMÍREZ, Manuel; VIVES, Francisco. Plasma lipid peroxidation in sporadic Parkinson's disease: Role of the L-dopa. *Journal of the Neurological Sciences*, [s.l.], p. 31-36, 2006.

ANDREADOU, Elisabeth; NIKOLAOU, Chryssoula; GOURNARAS, Filippos. Serum uric acid levels in patients with Parkinson's disease: Their relationship to treatment and disease duration. *Clinical Neurology And Neurosurgery*, [s.l.], p.1-5, 2009. Doi: 10.1016/j.clineuro.2009.06.012.

ANTUNES, Marina Venzon; LAZZARETTI, Camilla; GAMARO, Giovana Duzzo. Estudo pré-analítico e de validação para determinação de malondialdeído em plasma humano por cromatografia líquida de alta eficiência, após derivatização com 2,4-dinitrofenilhidrazina. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, [s.l.], v. 44, n. 2, p.279-287, 2008. Bimestral.

ALTY, Jane E.; MA; CLISSOLD, Benjamin G.; MCCOLL, Craig D.; REARDON, Katrina A.; SHIFF, Mark; KEMPSTER, Peter A. Longitudinal study of the Levodopa motor response in Parkinson's disease: relationship between cognitive decline and motor function. *Movement Disorders*, [s.l.], v. 24, n. 16, p. 2337- 2343, 2009.

AQUILANO, Katia; BALDELLI, Sara; ROTILIO, Giuseppe; CIRIOLO, Maria Rosa. Role of nitric oxide synthases in Parkinson's disease: A review of the antioxidant and anti-inflammatory activity of polyphenols. *Neurochem Res*, [s.l.], v. 33, n. , p. 2416- 2426, 2008.

BAILLET, Athan; CHANTEPERDRIX, Vanessa; TROCMÉ, Candice; CASEZ, Pierre; GARREL, Catherine; BESSON, Gérard. The role of oxidative stress in amyotrophic lateral sclerosis and Parkinson's disease. *Neurochem Res*, [s.l.], Jun/2010. DOI: 10.1007/s11064-010-0212-5.

BEAR, Mark F.; CONNORS, Barry W.; PARADISO, Michael A.. Controle encefálico do movimento. In:_____. **Neurociências: desvendando o sistema nervoso**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008. Cap. 14, p. 451-478.

BERG, Daniela; YOUDIM, Moussa B. H.; RIEDERER, Peter. Redox imbalance. **Cell tissue res**, [s.l.], v. 318, n. , p. 201-213, 2004.

BERGMAN, Hagai; DEUSCHL, Günther. Pathophysiology of parkinson's disease: from clinical neurology to basic neuroscience and back. **Movement Disorders**, [s.l.], v. 17, n. 3, p.S28-S40, 2002.

BENATRU, I.; VAUGOYEAU, M.; AZULAY, J. -p.. Postural disorders in Parkinson's disease. **Clinical Neurophysiology**, [s.l.], v. 38, n. , p.459-465, 2008.

BHARUCHA, Kersi J.; FRIEDMAN, Joyce K.; VINCENT, Andrea S.; ROSS, Elliott D. Lower serum ceruloplasmin levels correlate with younger age of onset in Parkinson's disease. **J Neurol**, [s.l.], n. 255, p. 1957-1962, 2008. DOI: 10.1007/s00415-009-0063-7.

BHIDAYASIRI, Roongroj; TRUONG, Daniel D.. Motor complications in parkinson's disease: clinical manifestations and management. **Journal Of The Neurological Sciences**, [s.l.], v. 266, n. , p.204-215, 2008.

BISAGLIA, Marco; GREGGIO, Elisa; DRAGAN, Maric; MILLER, David W.; COOKSON, Mark R.; BUBACCO, Luigi. -Synuclein overexpression increases dopamine toxicity in BE(2)-M17 cells. **BMC Neurosciences**, [s.l.], v. 11, n. 41, p. 1-6, 2010.

BLASZCZYK, Janusz W.. Motor deficiency in Parkinson's disease. **Acta Neurobiologiae Experimentalis**, Polônia, n. 58, p.79-93, 1998.

BLOOMER, R.J.; SCHILLING, BK.; KARLAGE, RE.; LEDOUX, MS.; PFEIFFER, RF.; CALLEGARI, J. Effect of resistance training on blood oxidative stress in Parkinson's disease. **Med Sci Sports Exerc**, [s.l.], v. 40, n. 8, p.1385-1389, 2008.

BRAAK, Heiko; GHEBREMEDHIN, Estifanos; RÜB, Udo; BRATZKE, Hansjürgen; TREDICI, Kelly Del. Stages in the development of parkinson's disease-related pathology. **Cell And Tissue Research**, [s.l.], v. 318, n. , p.121-134, 2004.

BRASIL. Luis Antônio Pinto de Oliveira. Ibge (Org.). Sítense de indicadores sociais: uma análise das condições sociais de vida da população brasileira. **Estudos e Pesquisas: informação demográfica e socioeconômica**, Rio de Janeiro, v. 23, n., p.1-280, 2008. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaoedevida/indicadoresminimos/sinteseindicais2008/indic_sociais2008.pdf>. Acesso em: 17 abr. 2010.

BURCH, Druin; SHEERIN, Fintan. Parkinson's disease. **Lancet**, [s.l.], v. 365, n. , p.622-627, 2005.

CAPITELLI, Caroline; SERENIKI, Adriana; LIMA, Marcelo MS.; REKSIDLER, Angela B.; TUFIK, Sergio; VITAL, Maria ABF. Melatonin attenuates tyrosine hydroxylase loss and hypocolomotion in MPTP-lesioned rats. **European Journal of Pharmacology**, [s.l.], v. 594, n., p. 101-108, 2008.

CHALIMONIUK, Malgozarta; STEPIÉN, A.; STROSZNAJDER, JB. Pergolide mesylate, a dopaminergic receptor agonist, applied with L-DOPA enhancer serum antioxidant enzyme activity in Parkinson disease. **Clin Neuropharmacol**, [s.l.], v. 27, n. 5, p. 223-229, Set-Out/2004.

CHEN, Chiung-Mei; LIU, Jun-Liang; WU, Yih-Ru; CHENG, Huey-Shinn; CHENG, Mei-Ling; CHIU, Daniel Tsun-Yee. Increased oxidative damage in peripheral blood correlates with severity of Parkinson's disease. **Neurobiology Of Disease**, [s.l.], v. 33, n. , p.429-435, 2009.

CHINTA, Shankar J.; ANDERSEN, Julie K. Redox imbalance in Parkinson's disease. **Biochimica et Biophysica Acta**, [s.l.], v. 1780, n. , p. 1362-1367, 2008.

CHINTA, Shankar J; RAJAGOPALAN, Subramanian; BUTTERFIELD, D. Allan; ANDERSEN, Julie K. In vitro and in vivo neuroprotection by γ -glutamylcysteine ethil ester against MPTP: Relevance to the role of glutathione in Parkinson's disease. **Neuroscience Letters**, [s.l.], v. 402, n. , p.137-141, 2006.

CONTRERAS-VIDAL, José L.; STELMACH, George E. Effects of parkinsonism on motor control. **Life Sciences**, [s.l.], v. 3, n. , p.165-176, 1996.

COTZIAS, C.; VAN WOERT, M. H.; SCHIFFER, L.M. Aromatic amino acids and modification of parkinsonism. **N. Engl J Med**, [s.l.], v. 379, n., p. 276:374, 1967.

DAVIE, C.A. A review of Parkinson's disease. **British Medical Bulletin**, [s.l], v. 86, n., p.109-127, abr. 2008.

DAWSON, Ted M.; KO, Han Seok; DAWSON, Valina L. Genetic animal models of Parkinson's disease. **Neuron**, [s.l], v. 66, n., p. 646-661, Jun. 2010.

DE PABLOS, V.; BARCIA, C.; MARTÍNEZ, S.; GOMEZ, A.; ROS-BERNAL, F.; ZAMARRO-PARRA, J.; SORIA-TORRECILLAS, JJ.; HERNÁNDEZ, J.; CERON, JJ.; HERRERO, MT. MPTP administration increases plasma levels of acute phase proteins in non-human primates (*Macaca fascicularis*). **Neuroscience Letters**, [s.l], v. 463, n., p. 37-39, 2009.

DEXTER, D.T.; CARTER, C.J.; WELLS, F.R.; JAVOY-AGID, F.; AGID, Y.; LEES, A.; JENNER, P.; MARSDEN, C.D. Basal lipid peroxidation in substantia nigra is increased in Parkinson's disease. **J Neurochem**, 52, 381-9, 1989.

EMERIT, J.; EDEAS, M.; BRICAIRE, F. Neurodegenerative diseases and oxidative stress. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [s.l], v. 58, n. , p. 39-46, 2004.

FACCHINETTI, Fabrizio; DAWSON, Valina L.; DAWSON, Ted M.. Free radicals as mediators of neuronal injury. **Cellular And Molecular Neurobiology**, [s.l], v. 18, n. 6, p.667-682, 1998.

FAHN, Stanley. The history fo dopamine and levodopa in the treatment of Parkinson's disease. **Movement Disorders**, Massachusetts, v. 23, n. 3, p.497-508, 2008.

FERREIRA, A.L.A; MATSUBARA, L.S.. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Res. Ass. Med. Brasil**, [s.l], v. 43, n. 1, p.61-68, 1997.

FRANK, Christopher; PARI, Giovanna; ROSSITER, John P.. Approach to diagnosis of Parkinson's disease. **Canadian Family Physican**, [s.l], v. 52, n. , p.862-868, 2006.

FOY, C.J.; PASSMORE, AP.; VAHIDASSR, MD.; YOUNG, IS.; LAWSON, JT. Plasma chain-breaking antioxidants in Alzheimer's disease, vascular dementia and Parkinson's disease. *QJ Med*, [s.l.], v. 92, n., p. 39-45, 1999.

FUKAE, Jiro; MIZUNO, Yoshikuni; HATTORI, Nobutaka. Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease. *Mitochondrion*, [s.l.], v. 7, n. , p. 58-62, 2007.

GANDHI, S.; WOOD, N.W. Molecular pathogenesis of Parkinson's disease. *Hum Mol Genet*, 14, 2749-2755, 2005.

GIASSON, Benoit I.; ISCHIROPOULOS, Harry; LEE, Virginia M-Y; TROJANOWSKI, John Q. The relationship between oxidative/nitrative stress and pathological inclusions in Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Free radical biology & Medicine*, [s.l.], v. 32, n. 12, p. 1264-1275, 2002.

HALLIDAY, Glenda. Clinical pathological aspects of motor parkinsonism. *Parkinsonism And Related Disorders*, [s.l.], v. 13, n. , p.S208-S210, 2007.

HALLIWELL, Barry. Antioxidants in human health and disease. *Ann rev Nutr*, [s.l.], v. 16, n. , p. 33-50, 1996.

HAUSDORFF, Jeffrey M.. Gait dynamics in Parkinson's disease: common and distinct behavior among stride length, gait variability, and fractal-like scaling. *Chaos*, [s.l.], v. 19, n. , p.026113-1-026113-14, 2009.

HERRERA, Emílio; JIMÉNEZ, Rafael; ARUOMA, Okezie I; HERCBERG, Serge; SÁNCHEZ-GARCIA, Isidro; FRAGA, César. Aspects of antioxidant foods and supplements in health and disease. *Nutrition Reviews*, [s.l.], v. 67, suppl 1, p. s140-s144, 2009.

HOFMANN, Kerly W.; SCHUH, Artur FS.; SAUTE, Jonas; TOWNSEND, Raquel; FRICKE, Daniele; LEKE, Renata; SOUZA, Diogo O; PORTELA, Luis V.; CHAVES, Márcia LF.; RIEDER, Carlos RM. Interleukin-6 serum levels in patients with Parkinson's disease. *Neurochem Res*, [s.l.], v. 34, n. , p. 1401- 1404, 2009.

IHARA, Yuetsu; CHUDA, Masaki; KURODA, Shigetoshi; HAYABARA, Toshiyuki. Hydroxyl radical and superoxide dismutase in blood of patients with Parkinson's

disease: relationship to clinical data. **Journal of the Neurological Sciences**, [s.l], v. 170, n. , p. 90-95, 1999.

JANKOVIC, Joseph. Motor fluctuations and dyskinesias in parkinson's disease: clinical manifestations. **Movement Disorders**, [s.l], v. 20, n. , p.S/11-S/16, 2005.

JOSEPH, James A.; SHUKITT-HALE, Barbara; WILLIS, Lauren M. Grape juice, berries and walnuts affect brain aging and behavior. **The journal of nutrition**, [s.l], v. 139, n. , p. 1813S-1817S, 2009.

JIMÉNEZ-JIMÉNEZ, FJ; MOLINA, JA.; BASTOS, F de.; GARCÍA-REDONDO, A.; GOMÉZ-ESCALONILLA, C.; MARTÍNEZ-SALIO, A.; BERBEL, A.; CAMACHO, A.; ZURDO, M.; BARCENILLA, B.; SALAMANCA, R. Enríquez de.; ARENAS, J. Serum levels of coenzyme Q10 in patients with Parkinson's disease. **Journal of Neural transmission**, [s.l], v. 107, n. , p. 177-181, 2000.

KARALI, Nilgün; GÜZEL, Özlen; ÖZSOY, Nurten; ÖSBEY, Süheyla; SALMAN, Aidin. Synthesis of new spiroindolinones incorporating a benzothiazole moiety as antioxidant agents. **European Journal Of Medicinal Chemistry**, [s.l], v. 45, n. , p.1068-1077, 2010.

KATZ, S; DOWNS, TD; CASH, HR; GROTZ, RC. Progress in development of the index of ADL. **Gerontologist**, [s.l], v.10,n.1, p. 20-30, 1970.

KERKSICK, Chad; WILLOUGHBY, Darryn. The antioxidant role of glutathione and n-acetyl-cysteine supplements and exercise-induced oxidative stress. **Journal Of The International Society Of Sports Nutrition**, [s.l], v. 2, n. 2, p.38-44, 2005.

KLOCKGETHER, Thomas. Parkinson's disease: Clinical aspects. **Cell And Tissue Research**, [s.l]., v. 318, n. , p.115-120, 2004.

KORDOWER, Jeffrey H.; GOETZ, Christopher G.. The first miracle in neurodegenerative disease: The discovery of oral levodopa. **Brain Research Bulletin**, Londres, v. 50, n. 5/6, p.377-378, 1999.

KOHN, HI.; LIVERSEDGE, M. On a new aerobic metabolite whose production by brain is inhibited by apomorphine, emetine, ergotamine, epinephrine and menadione. **J Pharmacol Experimen Ther**, [s.l], v. 82, n., p. 292-300, 1944.

KÜLTZ, Dietmar. Molecular and evolutionary basis of the cellular stress response. **Ann rev Physiol**, [s.l], v. 67, n. , p. 225-257, 2005.

LANGSTON, J William; BALLARD, Philip; TETRUD, James W.; IRWIN, Ian. Chronic Parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis. **Science**, [s.l], v. 219, n., p. 979-980, 1983.

LAWTON, P. A Research and Service-Oriented Multilevel Assessment Instrument. **Journal of Gerontology**, [s.l], v. 37, n., p. 91-99, 1982.

LEE, Moonhee; TAZZARI, Valero; GIUSTARINI, Daniela; ROSSI, Ranieri; SPARATORE, Ana; SOLDATO, Piero Del; MCGEER, Edith; MCGEER, Patrick L. Effects of Hydrogen sulfide-releasing L-DOPA derivatives on glial activation: Potential for treating Parkinson's disease. **The Journal of Biological Chemistry**, [s.l], DOI: 10.1074/jbc.M110115261. Abr, 2010. No prelo.

LEES, Andrew J.. Unresolved issues relating to the shaking palsy on the celebration of Jmaes Parkinson. **Movement Disorders**, Massachusetts, v. 22, n. 17, p.327-334, jul. 2004. Disponível em: <www.interscience.wiley.com>. Acesso em: 20 mar. 2010.

LIMA, Émerson Silva; ABDALLA, Dulcineia Saes Parra. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, [s.l], v. 37, n. 3, p.293-303, 2001.

LIMONGI, João Carlos Papaterra (org). **Conhecendo melhor a doença de parkinson: Uma abordagem multidisciplinar com orientações práticas para o dia-a-dia**. São Paulo: Plexus, 2001. 164p.

LOTHARIUS, J.; BRUNDIN, P. Pathogenesis of Parkinson's Disease: Dopamine, Vesicles and -Synuclein. **Neuroscience**, [s.l],v. 3, n., p.932-942, 2002.

MARSDEN, C. D.. Parkinson's disease. **Journal Of Neurology, Neurosurgery, And Psychiatry**, [s.l]., v. 57, n. , p.672-681, 1994.

MATHERS, Colin D; IBURG, Kim Moesgaard; A SOLOMON, Joshua; TANDON, Ajay; CHATTERJI, Somnath; USTÜN, Bedirhan; MURRAY, Christopher JL. Global Patterns of healthy life expectancy in the year 2002. **Bmc Public Health**200, [s.l], v. 66, n. 4, p.1-12, 2004.

MIGLIORE, Lucia; COPPÈDE, Fabio. Enviromental-induced oxidative stress in neurodegenerative disorders and aging. **Mutation research**, [s.l], v. 674, n. , p. 73-84, 2009.

MILLER, N; RICE-EVANS, C; DAVIES, M; GOPINATHAN, V; MILNER, A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. **Clin Sci**, [s.l], v. 84, n., p. 407-412, 1993.

MURPHY, Michael P.; SMITH, Robin A.J. Targeting antioxidants to mitochondria by conjugation to lipophilic cations. **Ann rev Pharmacol Toxicol**, [s.l], v. 47, n. , p. 629-656, 2007.

ONYANGO, Isaac G. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in Parkinson's disease. **Neurochem Res**, [s.l], v. 33, n. , p. 589-597, 2008.

OTTER, Mallin von; LANDGREN, Sara; NILSSON, Staffan; CELOJEVIC, Dragana; BERGSTRÖM, Petra; HAKANSSON, Anna; NISSBRANDT, Hans; DROZDZIK, Marek; BIALECKA, Monika; KURZAWSKI, Mateusz; BLENNOW, Kaj; NILSSON, Michael ; HAMMARSTEN, Ola; ZETTERBERG, Henrik. Association of Nrf2-encoding NFE2L2 haplotypes with Parkinson's disease. **BMC Medical Genetics**, [s.l], v. 11, n. 36, p. 1-9, 2010.

PARKER, Davis Jr.; PARKS, Janice K.; SWERDLOW, Russell H. Complex I deficiency in Parkinson's disease frontal cortex. **Brain research**, [s.l], v. 1189, n., p. 215-218, 2008.

PEARCE, J. S.. Aspects of the history of Parkinson's Disease. **Journal Of Neurology, Neurosurgery, And Psychiatry**, Londres, n. , p.6-10, 1989.

PERCÁRIO, Sandro; VITAL, Anna CC.; JABLONKA, Fernando. Dosagem do malondialdeído (MDA). **NewsLab**, [s.l], v. , n. 6, p. 46-50, Set/ Out, 1994.

PRIGIONE, Alessandro; BEGNI, Barbara; GALBUSSERA, Alessio; BERETTA, Simone; BRIGHINA, Laura; GAROFALO, Rosanna; ANDREONI, Simone; PIOLTI, Roberto; FERRARESE, Carlo. Oxidative stress in peripheral blood mononuclear cells from patients with Parkinson's disease: Negative correlation with Levodopa dosage. **Neurobiology of Disease**, [s.l.], v. 23, n., p. 36-43, 2006.

PERRY, J.J.P.; SHIN, D.S.; GETZOFF, E.D.; TAINER, J. A. The structural biochemistry of the superoxide dismutases. **Biochimica et Biophysica Acta**, [s.l.], v. 1804, p. 245-262, 2010.

PRASAD, Kedar N.; COLE, William C.; KUMAR, Bipin. Multiple antioxidants in the prevention and treatment of Parkinson's disease. **Journal of the American College of Nutrition**, [s.l.], v.18, n.05, p. 413-423, 1999.

RAO, Goutham; FISCH, Laura; SRINIVASAN, Sukanya; D'AMICO, Frank; OKADA, Tadao; EATON, Carolyn; ROBBINS, Craig. Does this patient have Parkinson's disease? **Journal Of The Amercian Medical Association**, [s.l.], v. 3, n. 289, p.347-353, 2003.

RE, R; PELLEGRINI, R; PROTEGGENTE, A; PANNALA, A; YANG, M; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Rad Biol Med**, [s.l.],v. 26, n., p. 1231-1237, 1999.

RICE-EVANS, C.a.; DIPLOCK, A.t.; SYMONS, M.c.r.. Mechanisms of radical production. In: RICE-EVANS, C.a.; DIPLOCK, A.t.; SYMONS, M.c.r.. **Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology: techniques in free radical research**. 22. ed. Amsterdã: Elsevier, 1991. Cap. 2, p. 19-50.

RODRIGUEZ-OROZ, Maria C.; JAHANSHAHI, Marjan; KRACK, Paul; LITVAN, Irene; MACIAS, Raúl; BEZARD, Erwan; OBESO, José A. Initial clinical manifestations of Parkinson's disease: features and pathophysiological mechanisms. **The Lancet Neurology**, [s.l.], v. 8, n. , p.1128-1139, 2009.

RUIZ, P. J. García. Prehistoria de la enfermedad de Parkinson. **Neurologia**, Madrid, v. 10, n. 19, p.735-737, 2004. 2004.

SAGGU, H.; COOKSEY, J.; DEXTER, D.; WELLS, F. R.; LEES, A.; JENNER, P.; MARS DEN, C. D. A selective increase in particular superoxide dismutase activity in parkinsonian substantia nigra. **J. Neurochem.** 53, 692-7, 1989.

SAMII, Ali; G.NUTT, John; RANSOM, John R.. Parkinson. *Lancet*, [s.l], v. 363, n. , p.1783-1793, 2004.

SCALZO, Paula; KÜMMER, Arthur; CARDOSO, Francisco; TEIXEIRA, Antônio L. Serum levels of interleukin-6 are elevated in patients with Parkinson's disease and correlate with physical performance. *Neuroscience Letters*, [s.l], v. 468, n., p. 56-58, 2010.

SCHAPIRA, Anthony H.v.. Etiology and pathogenesis of parkinson disease. *Neurol Clin*, [s.l], v. 27, n. , p.583-603, 2009.

SERRA, Jorge A; DOMÍNGUEZ, Raúl O.; MARSCHOFF, Enrique F.; GUARESCHI, Eduardo M.; FAMULARI, Arturo L; BOVERIS, Alberto. Systemic oxidative stress associated with the neurological diseases of aging. *Neurochem Res*, [s.l], v.,n., Jun. 2009.

SHARMA, Aabha; KAUR, Pushipinder; KUMAR, Binu; PRABAKHAR, S; GILL, K.D. Plasma lipid peroxidation and antioxidant status of Parkinson's disease patients in the Indian population. *Parkinsonism And Related Disorders*, [s.l], v. 14, n. , p.52-57, 2008.

SUDHA, K.; RAO, A V; RAO, S. Systemic oxidative stress associated with the neurological diseases of aging. *Neurology India*, [s.l], v. 51, n. 1, p.60-62, jan. 2003. Trimestral.

TEIVE, Hélio A. G.. Opapel de Charcot na Doença de Parkinson. *Arquivos de Neuropsiquiatria*, São Paulo, v. 56, n. 1, p.141-145, 1998.

TINETTI, M . Performance-oriented Assessment of Mobility Problems in Elderly Patients. *Journal of American Geriatrics Society*, [s.l], v.34, n., p. 119- 126, 1986.

TOLOSA, Eduardo; COMPTA, Yaroslau. Dystonian in Parkinson's disease. *Journal Of Neurology*, [s.l], v. 253, n. , p.VII/7-VII/13, 2006.

TSANG, Anthony H.K.; CHUNG, Kenny K.K. Oxidative and nitrosative stress in Parkinson's disease. *Biochimica et Biophysica Acta*, [s.l], v. 1792, n. , p. 643-650, 2008.

VALKO, Marian; LEIBFRITZ, Dieter; MONCOL, Jan; CRONIN, Mark T.D.; MAZUR, Milan; TELSER, Joshua. Free radical and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal Of Biochemistry & Cell Biology**, [s.l], v. 39, n. , p.44-84, 2007.

VASCONCELOS, Sandra Mary Lima; GOULART, Marília Oliveira Fonseca; MOURA, José Benedito de França; MANFREDINI, Vanusa; BENFATO, Mara da Silveira; KUBOTA, Lauro Tatsuo. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio , anti-oxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, [s.l], v. 30, n. 5, p.1323-1338, 2007.

WANG, Xiaoyan; MOUALLA, Dima; WRIGHT, Josephine A., BROWN, David A. Cooper binding regulates intracellular alpha-synuclein: localisation, aggregation and toxicity. **Journal Of Neurochemistry**, [s.l], n. , p.1-11, 27 jan. 2010.

WICHMANN, Thomas; DELONG, Mahlon R.. Pathophysiology of parkinson's disease: the MPTP primate model of the human disorder. **Ann Acad Sci**, Nova York, v. 991, n. , p.199-213, 2003.

WOLTERS, Erik Ch.. Variability in the clinical expression of parkinson's disease. **Journal Of The Neurological Sciences**, [s.l], v. 266, n. , p.197-203, 12 set. 2007.

YOUNES—MHENNI, S.; FRIH-AYED, M.; KERKENI, A.; BOST, M.; CHAZOT, Z. Peripheral blood markers of oxidative stress in Parkinson's disease. **European Neurology**, [s.l], v. 58, n., p. 78-83, 2007.

ZHAO, Baolu. Natural antioxidants protect neurons in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. **Neurochem Res**, [s.l], v. 34, n. , p. 630-638, 2009.

ZHOU, Chun; HUANG, Yong; PRZEDBORSKI, Serge. Oxidative stress in Parkinson's disease: A mechanism of pathogenic and therapeutic significance. **Ann N Y Acad Sci**, [s.l]. p.93-104, 2008.

ZWART, Loeckie L.; MEERMAN, John H.N.; COMMANDEUR, Jan N.M.; VERMEULEN, Nico P.E. Biomarkers of free radical damage: applications in experimental animals and in humans. **Free Radical Biology & Medicine**, [s.l], v. 26, n. 1, p. 202-226, 1999.

ANEXOS

ANEXO A

AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES DA VIDA DIÁRIA

ATIVIDADE	INDEPENDENTE	SIM	NÃO
1. Banho	Não recebe ajuda ou somente recebe ajuda para uma parte do corpo		
2. Vestir-se	Pega as roupas e se veste sem qualquer ajuda, exceto para amarrar os sapatos		
3. Higiene Pessoal	Vai ao banheiro, usa o banheiro, veste-se e retorna sem qualquer ajuda (pode usar andador ou bengala)		
4. Transferência	Consegue deitar na cama, sentar na cadeira e levantar sem ajuda (pode usar andador ou bengala)		
5. Continência	Controla completamente urina e fezes		
6. Alimentação	Come sem ajuda (exceto para cortar carne ou passar manteiga no pão)		
Escore: 1 ponto para cada resposta "sim". Independência: 6 pontos; Déficit Moderado: 4 pontos, Déficit Severo: 2 pontos.			

KATZ, S; DOWNS, TD; CASH,HR; ET AL . 1970. Progress in development of index of ADL in Gerontologist ,10:20-30.

ANEXO B

AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES INSTRUMENTAIS DA VIDA DIÁRIA

1. Consegue usar o telefone?	À Sem Ajuda À Com Ajuda Parcial À Não Consegue	3 2 1		
2. Consegue ir a locais distantes, usando algum transporte, sem necessidade de planejamentos especiais?	À Sem Ajuda À Com Ajuda Parcial À Não Consegue	3 2 1		
3. Consegue fazer compras?	À Sem Ajuda À Com Ajuda Parcial À Não Consegue	3 2 1		
4. Consegue preparar suas próprias refeições?	À Sem Ajuda À Com Ajuda Parcial À Não Consegue	3 2 1		
5. Consegue arrumar a casa?	À Sem Ajuda À Com Ajuda Parcial À Não Consegue	3 2 1		

ANEXO B

6. Consegue fazer os trabalhos manuais domésticos, como pequenos reparos?	Sem Ajuda Com Ajuda Parcial Não Consegue	3 2 1		
7. Consegue lavar e passar sua roupa?	Sem Ajuda Com Ajuda Parcial Não Consegue	3 2 1		
8. Consegue tomar seus remédios na dose certa e horário correto?	Sem Ajuda Com Ajuda Parcial Não Consegue	3 2 1		
9. Consegue cuidar de suas finanças?	Sem Ajuda Com Ajuda Parcial Não Consegue	3 2 1		
TOTAL				
<p>Escore máximo 27. Primeira resposta = independência (19 a 27 pontos); segunda resposta = capacidade com assistência (10 a 18 pontos); terceira resposta = dependência (1 a 9 pontos) . O escore tem significado individual, declínio ao longo do tempo revela deterioração. Obs: As questões 4 a 7 podem ter variações conforme o sexo, podendo ser adaptadas para atividades como subir escadas ou cuidar do jardim, pelo entrevistador.</p>				

LAWTON, P . 1982. A Research and Service-Oriented Multilevel Assessment Instrument in Journal of Gerontology, 37: 91-99 .

ANEXO C
ESCALA DE AVALIAÇÃO DE EQUILÍBRIO

(Tinetti, 1986) ⁸ EQUILÍBRIO			
O avaliado deve estar sentado em uma cadeira sem braços, e as seguintes manobras são testadas:			
1. Equilíbrio sentado	Escorrega	0	
	Equilibrado	1	
2. Levantando	Incapaz	0	
	Usa os braços	1	
	Sem os braços	2	
3. Tentativas de levantar	Incapaz	0	
	Mais de 1 tentativa	1	
	Única tentativa	2	
4. Assim que levanta (primeiros 5 segundos)	Desequilibrado	0	
	Estável, mas usa suporte	1	
	Estável sem suporte	2	
5. Equilíbrio em pé	Desequilibrado	0	
	Suporte ou base	1	
		2	

	Sem suporte ou base		
--	---------------------	--	--

6. Teste dos 3 tempos (examinador empurra levemente o externo do paciente, que deve ficar de pés juntos)	Começa a cair	0	
	Agarra ou balança(braços)	1	
	Equilibrado	2	
7. Olhos fechados (mesma posição do item 6)	Desequilibrado, instável	0	
	Equilibrado	1	
8. Girando 360 graus	Passos descontínuos	0	
	Passos contínuos	1	
	Instável (desequilíbrios)	0	
	Estável (equilibrado)	1	
9. Sentando	Inseguro (Cai na cadeira)	0	
	Usa braços	1	
	Seguro, movimento suave	2	
/16		Escore do Equilíbrio	

TINETTI, M . 1986. Performance-oriented Assessment of Mobility Problems in Elderly Patients in Journal of American Geriatrics Society, vol.34 , pag.119- 126.

ANEXO C

ESCALA DE AVALIAÇÃO DE MARCHA

(Tinetti, 1986) MARCHA			
O avaliado deve estar de pé caminha pelo corredor ou pela sala com passo normal, depois volta a passos rápidos, mas com segurança (usando o suporte habitual, tal como bengala ou andador)			
10. Início da marcha	Hesitação ou várias tentativas para iniciar	0	
	Sem hesitação	1	
11. Comprimento e altura dos passos	a) Pé direito		
	Não ultrapassa o pé esquerdo	0	
	Ultrapassa o pé esquerdo	1	
	Não sai completamente do chão	0	
	Sai completamente do chão	1	
	b) Pé esquerdo		
	Não ultrapassa o pé direito	0	
	Ultrapassa o pé direito	1	
	Não sai completamente do chão	0	
	Sai completamente do chão	1	

12. Simetria dos passos	Passos diferentes Passos semelhantes	1 0	
13. Continuidade dos passos	Paradas ou passos descontínuos Passos contínuos	0 1	
14. Direção	Desvio nítido Desvio leve ou mod. Ou uso de apoio Linha reta sem apoio (bengala ou andador)	0 1 2	
15. Tronco	Balanço grave ou uso de apoio Flexão dos joelhos ou dorso, ou abertura dos braços enquanto anda Sem flexão, balanço, não usa os braços nem apoio	0 1 2	
16. Distância dos tornozelos	Tornozelos separados Tornozelos quase se tocam enquanto anda	0 1	
Score da marcha			
/12			
Score total			
/28			
<p>Quanto menor o escore, maior o problema. Escore menor que 19 indica risco 5 vezes maior de quedas.</p>			

TINETTI, M . 1986. Performance-oriented assessment of mobility problems in elderly patients in Journal of American Geriatrics Society, vol.34 , pag.119- 126.

ANEXO D

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

APÊNDICES

APÊNDICE A



FUNDAÇÃO PÚBLICA ESTADUAL
HOSPITAL DE CLÍNICAS GASPAR VIANNA
GERÊNCIA DE ENSINO E PESQUISA
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



Belém, 26 de março de 2009.

PARECER DE ÉTICA DE PROJETO DE PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS

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

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

Parecer: APROVADO

Helder José Lima Reis
Coordenador em exercício do CEP/FHCGV

GEP/FHCGV

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

APÊNDICE B

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

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O projeto de pesquisa consiste em correlacionar dados epidemiológicos, clínicos e funcionais, com análises laboratoriais de metabolismo oxidativo em pacientes idosos, portadores das doenças de Alzheimer (DA) e Parkinson (DP), atendidos no Centro de Geriatria e Gerontologia da Universidade do Estado do Pará. Farão parte do estudo 30 idosos previamente diagnosticados como portadores da DA, 30 idosos com DP e 30 idosos sem doença neurológica. Os pacientes realizarão avaliações neurológicas, cognitivas, funcionais e laboratoriais com profissionais de saúde qualificados. A avaliação neurológica será realizada pela anamnese do paciente e complementada por exames laboratoriais, como os exames de proteína-C-reativa, VDRL, exames de função hepática, renal e tireoidiana, a fim de investigar causas sistêmicas de demência. Em situações em que seja necessário exame de neuroimagem, os pesquisadores encaminharão os participantes da pesquisa para realizarem no respectivo lugar a ser informado. Além disso, serão avaliados os aspectos emocionais através da Escala de Depressão GDS e a Escala Analógica de Felicidade. A avaliação cognitiva dos pacientes será realizada através de testes validados no Brasil, como o Mini-exame do estado mental, fluência verbal, teste do relógio, desenhos do CERAD, recordação tardia do CERAD ou de objetos apresentados como figuras. Na avaliação da capacidade funcional dos idosos acometidos pela doença de Alzheimer e Parkinson, serão utilizados testes de Atividades da Vida Diária (AVD) pela Escala de Katz, Atividades Instrumentais da Vida Diária (AIVD) de Lawton e Escala de Avaliação da Marcha e Equilíbrio de Tinetti. Em qualquer momento do estudo, os idosos e seus cuidadores terão acesso aos pesquisadores, para esclarecimento de dúvidas e fornecimento de resultados parciais. Os riscos para os sujeitos são a revelação de sua identidade, porém os pesquisadores se comprometem a preservar o sigilo da identidade dos mesmos durante toda a realização da pesquisa e na apresentação dos dados coletados e alguma alteração do quadro clínico, entretanto, caso isto ocorra, o idoso será encaminhado aos profissionais de saúde do Centro de Geriatria e Gerontologia da Universidade do Estado do Pará para tratamento. Os pesquisadores estarão atentos a qualquer manifestação de fadiga física, interrompendo a atividade se necessário, além de se comprometerem a utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa e para divulgação científica, sendo eliminados ou incinerados, no máximo, após 5 anos de utilização. Os benefícios aos sujeitos da pesquisa são a melhoria da capacidade funcional, cognitiva e clínica, ou seja, da qualidade de vida no acompanhamento das patologias.

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

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

Assinatura dos Pesquisadores

CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

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

Belém, ____/____/____

Assinatura do participante e/ou responsável da pesquisa

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](#)