



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**

**FACULDADE DE MEDICINA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**AVALIAÇÃO DA FREQUÊNCIA DE SINTOMAS PRÉ-MOTORES DA  
DOENÇA DE PARKINSON EM PACIENTES ADULTOS COM DOENÇA DE  
GAUCHER TIPO 1**

**Matheus Vernet Machado Bressan Wilke**

**Orientadora: Profa. Ida Vanessa Doederlein Schwartz**

**Porto Alegre**

**2018**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**

**FACULDADE DE MEDICINA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**AVALIAÇÃO DA FREQUÊNCIA DE SINTOMAS PRÉ-MOTORES DA  
DOENÇA DE PARKINSON EM PACIENTES ADULTOS COM DOENÇA DE  
GAUCHER TIPO 1**

**Matheus Vernet Machado Bressan Wilke**

Dissertação apresentada como requisito parcial para  
obtenção de título de Mestre em Medicina:  
Ciências Médicas, da Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Programa de Pós-  
Graduação em Medicina: Ciências Médicas

**Orientadora: Profa. Ida Vanessa Doederlein Schwartz**

**Porto Alegre**

**2018**

### CIP - Catalogação na Publicação

Vernet Machado Bressan Wilke, Matheus  
AVALIAÇÃO DA FREQUÊNCIA DE SINTOMAS PRÉ-MOTORES DA  
DOENÇA DE PARKINSON EM PACIENTES ADULTOS COM DOENÇA DE  
GAUCHER TIPO 1 / Matheus Vernet Machado Bressan Wilke.  
-- 2018.  
89 f.  
Orientadora: Ida Vanessa Doederlein Schwartz.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de  
Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Porto  
Alegre, BR-RS, 2018.

1. Doença de Gaucher. 2. Doença de Parkinson. 3.  
Sintomas pré motores. I. Doederlein Schwartz, Ida  
Vanessa, orient. II. Título.

*“A única maneira de sobrevivermos é se formos gentis. A única maneira de conseguirmos sobreviver neste mundo é através da ajuda que recebemos dos outros. Ninguém consegue fazer tudo sozinho, não importa o quão boas sejam as máquinas.”*

*— Amy Poehler, Yes Please*

**BANCA EXAMINADORA:**

**Prof. Dr. André Anjos**

**Prof. Dr. Jonas Saute**

**Dr. Vivian Altmann**

**Prof. Dr. Rieder**

## **AGRADECIMENTOS:**

Primeiramente agradeço à minha orientadora, a Profa. Ida Vanessa Doederlein Schwartz, não somente pela orientação, mas também por ter proporcionado tantas oportunidades de aprendizagem nos últimos anos e ser um exemplo de médica e pessoa.

À equipe do Serviço de Genética Médica, do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em especial à Tatiéle Nalin e Tassia Tonon por terem me ajuda nas burocracias e na logística das coletas. Agradeço também aos residentes do serviço Dra. Ana Karolina Maia e Dra. Tâmara Menezes e a contratada Dra. Alicia Dorneles pelo apoio nos ambulatórios. A Suélen Basgalupp pela orientação na pesquisa das mutações e para dúvidas teóricas. Aos Drs. Artur Schu e Filippo Vairo também agradecem pela parceria e orientação teórica da presente dissertação.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em especial Prof. Wolnei Caumo, pelos ensinamentos e dicas para deixar o trabalho da melhor forma.

À minha família, em especial meus pais Remo e Maria Eliza, pelo amor incondicional, pelo exemplo e por sermos um time tão especial. Agradeço também a minha avó Maria de Lourdes e minha tia Tânia que são exemplos de como o estudo e a dedicação são importantes na nossa vida. Agradeço ao Bruno por todo apoio e incentivo nessa jornada. Aos amigos, pelo acolhimento e pelas alegrias que proporcionaram em todos os nossos encontros e por respeitarem a minha ausência nos períodos de muito trabalho e por torcerem pela concretização deste projeto.

Agradeço aos meus alunos do Improv POA por me darem a dose semanal de alegria que é tão necessária para tornar as coisas mais leves.

Aos pacientes, pela paciência e pelo aprendizado! Agradeço também pelo acolhimento, pelo interesse em contribuir de forma voluntária com a ciência e pela troca de experiências em nossos encontros. O aprendizado que tive com vocês foi além do conhecimento acadêmico ou científico.

## RESUMO

A doença de Gaucher (DG) é um erro inato do metabolismo causado pela atividade deficiente de beta-glucocerebrosidase (GCase). Já foram descritas mais de 400 mutações no gene que codifica a GCase (*GBAI*). Três formas clínicas de DG são convencionalmente classificadas com base no envolvimento neurológico, sendo o tipo 1 considerado como a forma não neuropática. A doença de Parkinson (DP) é a segunda doença neurodegenerativa mais comum. Os sintomas motores clássicos da DP podem ser precedidos por muitos sintomas pré-motores (SPM). Eles incluem: hiposmia, distúrbio comportamental do sono REM, constipação, comprometimento cognitivo e depressão. Estudos populacionais identificaram mutações no *GBAI* como o principal fator de risco para a DP idiopática.

**OBJETIVO:** Avaliar a prevalência dos SPM da DP em uma coorte de pacientes sul-brasileiros adultos com DG tipo 1.

**METODOLOGIA:** Trata-se de um estudo observacional, transversal, com amostragem por conveniência. Para ser incluído, o paciente deveria ter  $\geq 18$  anos, diagnóstico bioquímico e/ou genético de DG e manifestações clínicas compatíveis com o tipo 1 da doença. O recrutamento ocorreu no Centro de Referência para DG do Rio Grande do Sul. A cognição foi avaliada pela avaliação cognitiva de Montreal (MoCa), sonolência diurna pela Escala de Epworth, depressão pelo Inventário de Beck, constipação pela Unified Multiple System Atrophy Rating Scale e transtorno de comportamento do sono REM através da triagem de pergunta única. Hiposmia foi avaliada com teste Sniffin 'Sticks e os sintomas motores foram avaliados com a parte III da Escala Unificada de Avaliação de Doença de Parkinson. Além disso, foi avaliada a presença do polimorfismo 3'UTR SNP no *GBAI*(rs708606).

**RESULTADOS:** A amostra foi composta por 23 pacientes (13 mulheres), vindos de 18 famílias, com média de idade foi de  $41,4 \pm 15,3$  anos (amplitude= 22 a 67 anos). Oito pacientes eram heterozigotos para o 3'-UTR SNP (rs708606). Todos os pacientes estavam em tratamento (terapia de reposição enzimática= 21; terapia de inibição de síntese de substrato= 2). Quinze pacientes apresentavam pelo menos um SPM (sonolência diurna = 10, alteração na cognição = 7, depressão =5, distúrbio comportamental do sono REM= 4, constipação= 3 e hiposmia= 2). Dois pacientes (63 e 64 anos) também apresentavam sintomas motores, provavelmente relacionados ao uso de bloqueadores do canal de cálcio para hipertensão.

**CONCLUSÕES:** SPM foram prevalentes nesta coorte. Destacamos a importância do acompanhamento multidisciplinar, com foco no diagnóstico precoce da DP, especialmente para pacientes com DG tipo 1, com idade acima de 40 anos.

**Palavras Chaves:** Doença de Gaucher; Doença de Parkinson; Sintomas não Motores.

## ABSTRACT

Gaucher Disease (GD) is an inborn error of the metabolism caused by the deficiency of beta-glucocerebrosidase (GCase). More than 300 mutations of the GCase gene (*GBA1*) have already been described. Three clinical forms of GD are conventionally classified based on the neurological involvement type 1 is considered the non-neuropathic form. Parkinson's disease (PD) is the second most common neurodegenerative disease. The classic motor symptoms of PD may be preceded by many non-motor symptoms (NMS). They include: hyposmia, REM sleep behavior disorder, constipation, cognitive impairment, and depression. Population studies have identified mutations in *GBA1* as the main risk factor for idiopathic PD.

**OBJECTIVE:** The objective is to evaluate the prevalence of NMS of PD on South Brazilian patients with GD type 1.

**METHODOLOGY:** This is an observational, cross-sectional study with a convenience sampling strategy. To be included patients should have  $\geq 18$  years, biochemical and / or genetic diagnosis of DG and clinical manifestations compatible with type 1 of the disease. Recruitment occurred at the Referral Center for Gaucher Disease in Rio Grande do Sul. Cognition was evaluated by the Montreal Cognitive assessment (MoCa), daytime sleepiness by the Epworth Scale, depression by the Beck Inventory, constipation by the Unified Multiple System Atrophy Rating Scale, and REM sleep behavior disorder by the Single-Question Screen; hyposmia was assessed with Sniffin' Sticks. Motor symptoms were assessed with part III of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale. The frequency of the 3'-UTR SNP (rs708606) was also assessed. **RESULTS:** Twenty-three patients (13 women), from 18 families, with a mean age of  $41.4 \pm 15.3$  years (range, 22-67) were included; eight were heterozygous for the 3'-UTR SNP (rs708606). All patients were on treatment (enzyme replacement therapy = 21; substrate reduction therapy: 2). Fifteen patients had at least one NMS (daytime sleepiness = 10 patients, altered cognition = 7, depression=5, REM sleep behavioral disorder = 4, constipation = 3, hyposmia = 2). Two patients (aged 63 and 64) also presented motor symptoms, probably drug-related. **CONCLUSIONS:** NMS were prevalent in this cohort. We highlight the importance of multidisciplinary follow-up focusing on earlier diagnosis of PD, especially for patients with GD type 1 over the age of 40.

**Key Words:** Gaucher Disease; Parkinson's Disease; Non Motor Symptoms.



## **LISTA DE FIGURAS:**

<b>Figura 1</b> : Fluxograma da estratégia de busca na seleção de informações sobre Doença de Gaucher e Sintomas Não Motores.....	17
<b>Figura 2</b> - Figura modificada do Sidransky (2004). Mostrando a rota metabólica da glucocerebrosidase e da glucosilesfingosina.....	19
<b>Figura 3</b> - Figura traduzida do Futerman (2006) representando o espectro de fenótipos da Doença de Gaucher.....	22
<b>Figura 4</b> - Hipóteses para a associação entre a glucocerebrosidase e o acúmulo de alfa-sinucleína.....	33
<b>Figura 5</b> - Progressão da Doença de Parkinson adaptada de Noyce AJ (2016).....	38
<b>Figura 6</b> - Resumo das informações sobre risco de Doença de Parkinson em pacientes e familiares de pacientes com Doença de Gaucher.....	43
<b>Figura 7</b> - Marco conceitual do estudo.....	44

## **ARTIGO:**

<b>Figure 1</b> . Flowchart of patient enrollment in the study.....	70
---------------------------------------------------------------------	----

## **LISTA DE TABELAS:**

**Tabela 1-** Exemplo de estudos que analisaram a relação entre a Doença de Parkinson com a Doença de Gaucher e mutações do gene *GBA1*.....29

## **ARTIGO:**

Table 1 Demographic and clinical characteristics of patients with Gaucher disease type 1 (n=23).....68

Table 2. Scores of the scales used to evaluate non-motor symptoms of Parkinson's disease in patients with Gaucher disease type 1 and comorbidities in each patient (n=23).....69

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS:**

ABX : Ambroxol

$\alpha$ SIN: Alfa-sinucleína

BHE: Barreira hemato encefálica

CL: Corpos de Lewy

DG: Doença de Gaucher

DP: Doença de Parkinson

EIM: erro inato do metabolismo

*GBA1*: gene que codifica a GCase

GCase: beta-glucocerebrosidase

HCPA: Hospital de Clínicas de Porto Alegre

LCR: líquido cefalorraquidiano

MoCa: avaliação cognitiva de Montreal

RE: Retículo endoplasmático

REM: Rapid eye movement

SAP C: Saposina C

SMN: sintomas não motores

SNC: sistema nervoso central

TG: Terapia Gênica

TRE: terapia de reposição enzimática

TRS: terapia de redução de substrato

## SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO.....	12
1. INTRODUÇÃO .....	13
2 REVISÃO DA LITERATURA .....	15
2.1 Estratégias para localizar e selecionar as informações .....	15
2.2 Capítulo 1- A Doença de Gaucher.....	18
2.3 Capítulo 2- A Descoberta da associação entre a Doença de Gaucher e a Doença de Parkinson.....	28
2.4 Capítulo 3- Hipóteses para a associação entre a Doença de Gaucher e a Doença de Parkinson.....	32
2.5 Capítulo 4- Sinais Pré Motores da Doença de Parkinson.....	38
2.6 Capítulo 5- Biomarcadores e Implicações da associação entre as doenças nos Pacientes.....	41
3. MARCO CONCEITUAL .....	44
4. JUSTIFICATIVA.....	45
5. OBJETIVOS .....	46
6. REFERÊNCIAS .....	47
7. ARTIGO.....	54
8 CONCLUSÕES.....	71
9. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS.....	73
10. ANEXOS E APÊNDICES	
APÊNDICE 1 – APROVAÇÃO NO GPPG do HCPA.....	74
APÊNDICE 2 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	75
APÊNDICE 3 – ANÁLISE DA FUNÇÃO OLFATIVA.....	78
APÊNDICE 4 – ESCALA DE SONOLÊNCIA DE EPWORTH.....	79
APÊNDICE 5 – AVALIAÇÃO DO SONO REM.....	80
APÊNDICE 6 – AVALIAÇÃO DE CONSTIPAÇÃO.....	81
APÊNDICE 7 – INVENTÓRIO DE DEPRESSÃO DE BECK.....	82
APÊNDICE 8 – MONTREAL COGNITIVE ASSESSMENT.....	84
APÊNDICE 9 – PARTE III UPDRS.....	85
APÊNDICE 10 – STROBE Statement – Checklist para estudos observacionais.....	88

## **APRESENTAÇÃO**

Esta dissertação é oriunda do trabalho de Mestrado desenvolvido no Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. A pesquisa foi desenvolvida no Serviço de Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), com financiamento pelo Fundo de Incentivo à Pesquisa (FIPE) do HCPA. Todos os experimentos com seres humanos apresentados neste trabalho foram incluídos em projeto de pesquisa aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do HCPA, número 78018217800005327

A presente dissertação será estruturada didaticamente em cinco capítulos:

- Capítulo 1- A Doença de Gaucher
- Capítulo 2- A Descoberta da associação entre a Doença de Gaucher e a Doença de Parkinson
- Capítulo 3- Hipóteses para a associação entre a Doença de Gaucher e a Doença de Parkinson
- Capítulo 4- Sinais Pré-Motores da Doença de Parkinson.
- Capítulo 5- Biomarcadores e Implicações da associação entre as doenças nos Pacientes

## 1. INTRODUÇÃO

A Doença de Gaucher (DG, OMIM 230800) é um erro inato do metabolismo (EIM) causado pela atividade deficiente da enzima lisossomal beta-glicocerebrosidase (GCase). A GCase é responsável por catalisar a hidrólise do glicocerebrosídeos em glicose e ceramida. Seu mau funcionamento leva ao acúmulo intracelular de glicocerebrosídeo nos lisossomos dos macrófagos, principalmente no baço, fígado e medula óssea. A DG é uma das doenças lisossômicas mais prevalentes, com uma incidência mundial de 1 a cada 40.000 nascidos vivos (VAIRO et al., 2015; ZIMRAN; ELSTEIN 2016; PASTORES; HUGHES 2018). Três formas clínicas de DG são convencionalmente classificadas com base no envolvimento neurológico, o tipo 1 é considerado a forma não neuropática.

O gene que codifica a GCase é chamado *GBAI* (OMIM 606463) e está localizado em uma região rica em genes do cromossomo 1q21. A DG é causada por mutações em ambos os alelos deste gene. Mais de 400 mutações do gene *GBAI* já foram descritas sendo a c.1226A>G (N370S) a mais comumente encontrado na população em geral (COX; ROSENBLOOM; BARKER 2015).

A doença de Parkinson (DP) é a segunda doença neurodegenerativa mais comum após a doença de Alzheimer (TOMMASO BECCARI et al., 2011). A causa da DP não é completamente conhecida, haja vista sua etiologia multifatorial, que envolve o envelhecimento do próprio cérebro, a suscetibilidade genética e fatores ambientais. O acúmulo de alfa-sinucleína ( $\alpha$ SIN) é considerado o principal desencadeante patogênese da DP. A DP afeta 2% da população acima de 60 anos e 4% da população acima de 80 anos (TOMMASO BECCARI et al., 2011). O tratamento atual da DP é sintomático, sem efeito na própria neurodegeneração (TOMMASO BECCARI et al., 2011; ELSTEIN; ALCALAY; ZIMRAN 2015).

Os sintomas motores da DP são precedidos por um período prodrômico de até 20 anos. Neste período, os sintomas considerados como "sintomas pré-motores" (SPM) podem representar o início de um progresso patológico. Os SPM considerados como tendo evidências fortes a moderadas de preceder o início dos sintomas motores da DP são: hiposmia, distúrbio do sono REM, sonolência diurna, constipação, depressão e ansiedade (MCNEILL et al., 2012; SAUERBIER et al., 2016, GATTO et al., 2016).

As primeiras associações entre a deficiência da enzima GCase e a DP foram descobertas a partir da observação clínica (TOMMASO BECCARI et al., 2011; ELSTEIN; ALCALAY; ZIMRAN 2015). Estudos populacionais identificaram mutações no *GBA1* como o principal fator de risco para a PD idiopática. Atualmente, considera-se que pacientes com DG têm risco relativo de desenvolver DP 21,4 vezes maior ao longo da vida do que a população normal (ELSTEIN; ALCALAY; ZIMRAN 2015; SCHAPIRA, 2015).

Sendo a mutação no gene *GBA1* o principal fator de risco para a DP, neste estudo tivemos como objetivo principal avaliar a prevalência de SPM da DP em pacientes sul-brasileiros com DG tipo 1. Também foram correlacionados a prevalência desses sintomas com alguns marcadores de gravidade da DG.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Estratégias para localizar e selecionar as informações.

A seleção de informações foi realizada por meio de estratégia de busca dos sintomas pré-motores da Doença de Parkinson associados a Doença de Gaucher. Inicialmente foi pesquisado do Mesh termos abrangentes para ambas as doenças com os seguintes resultados:

1- Pesquisa do MeSh para termos para “Parkinson Disease”: Idiopathic Parkinson's Disease, Lewy Body Parkinson Disease, Lewy Body Parkinson's Disease, Primary Parkinsonism, Parkinsonism, Primary, Paralysis Agitans

2- Pesquisa do MeSh para termos para “Gaucher Disease”: Gaucher Disease, Glucocerebrosidase Deficiency, Diseases, Glucocerebrosidase Deficiency, Gaucher Syndrome.

Feita a pesquisa com os termos acima especificados utilizando-se a Plataforma Embase haja vista inclusão nessa plataforma de relatos de caso e estudos menores o que é de importância em um contexto de doenças raras.

Utilizado pesquisa para dos sintomas pré-motores de doença de Parkinson: Hiposmia, constipação, depressão, alteração na cognição e alteração do sono REM associados a Doença de Gaucher. Todos os sintomas pré motores tiveram seus termos pesquisados do Mesh e incluído na pesquisa os respectivos sinônimos.

Foram utilizados estudos dos anos de 2008-2018.

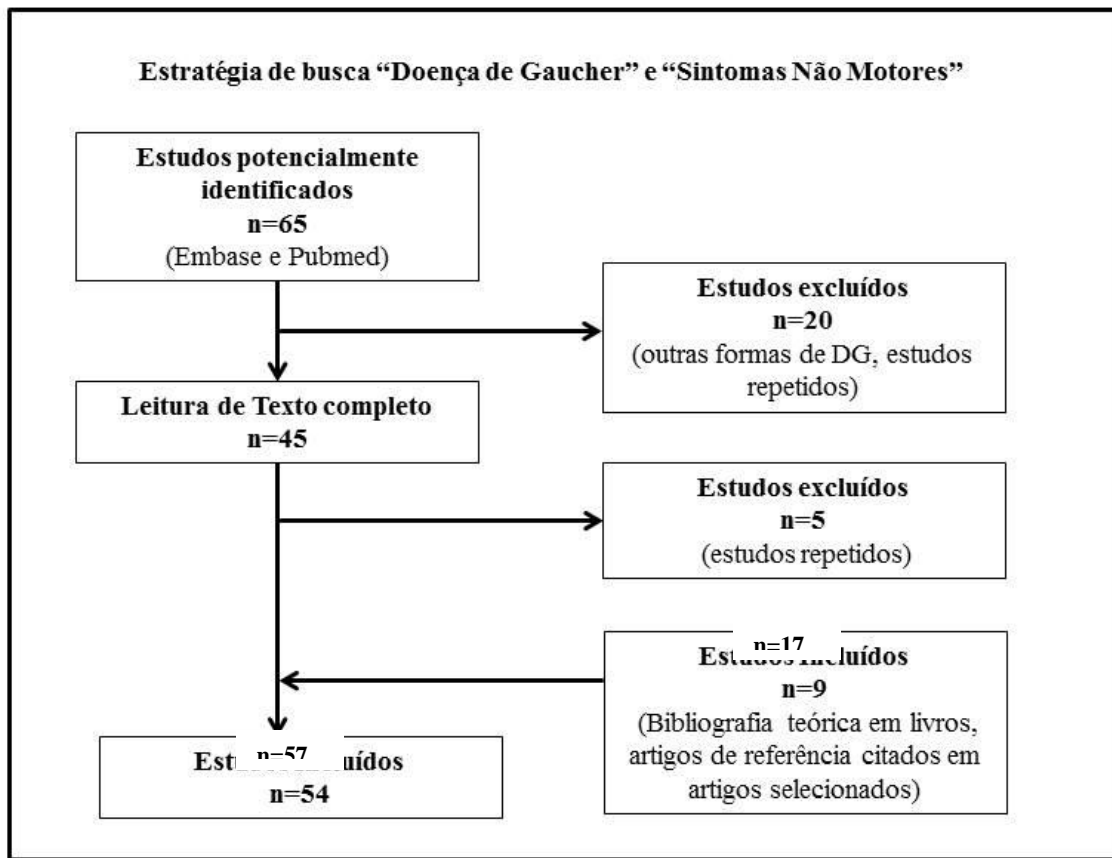
Primeira Pesquisa (hiposmia) : ('parkinson disease'/exp OR 'parkinson disease') AND ('gaucher disease'/exp OR 'gaucher disease') AND ('hyposmia'/exp OR hyposmia) - encontrado 12 resultados, utilizados 9 artigos após revisão manual.

Segunda Pesquisa (cognição): ('parkinson disease'/exp OR 'parkinson disease') AND ('gaucher disease'/exp OR 'gaucher disease') AND ('cognition'/exp OR cognition OR



'cognitive accessibility'/exp OR 'cognitive accessibility' OR (cognitive AND ('accessibility'/exp OR accessibility)) OR 'cognitive function'/exp OR 'cognitive function' OR (cognitive AND ('function'/exp OR function)) OR 'cognitive task'/exp OR 'cognitive task' OR (cognitive AND ('task'/exp OR task)) OR 'volition'/exp OR volition) AND [2010-2018].

Terceira Pesquisa (demais sintomas pré-motores) : ('parkinson disease'/exp OR 'parkinson disease') AND ('gaucher disease'/exp OR 'gaucher disease') AND ('constipation'/exp OR constipation OR 'dyschezia'/exp OR dyschezia OR 'obstipation'/exp OR obstipation OR 'rectal constipation'/exp OR 'rectal constipation' OR (rectal AND ('constipation'/exp OR constipation)) OR 'slow transit constipation'/exp OR 'slow transit constipation' OR (slow AND transit AND ('constipation'/exp OR constipation) AND ('rem phase'/exp OR 'rem phase' OR (rem AND phase) OR 'rem sleep'/exp OR 'rem sleep' OR (rem AND ('sleep'/exp OR sleep)) OR 'activated sleep'/exp OR 'activated sleep' OR (activated AND ('sleep'/exp OR sleep)) OR 'deep sleep or eye movement rapid or dyssomnia' OR (deep AND ('sleep'/exp OR sleep) AND oreye AND ('movement'/exp OR movement) AND rapid AND or dyssomnia) OR 'sleep disorder'/exp OR 'sleep disorder' OR (('sleep'/exp OR sleep) AND ('disorder'/exp OR disorder)) OR 'sleep disturbance'/exp OR 'sleep disturbance' OR (('sleep'/exp OR sleep) AND ('disturbance'/exp OR disturbance) AND [2008-2018]. Utilizados 57 artigos conforme exemplificado na figura 1.



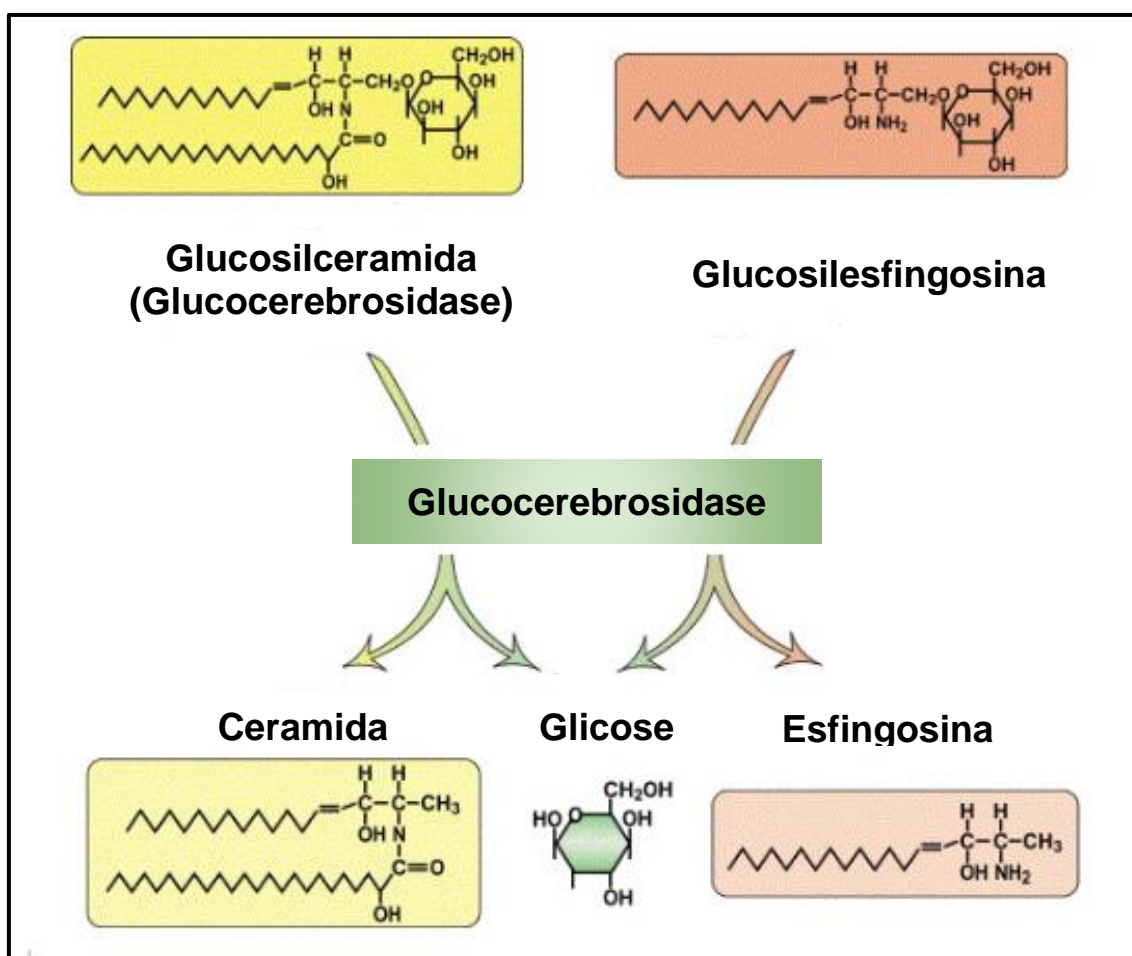
**Figura 1:** Fluxograma da estratégia de busca na seleção de informações sobre Doença de Gaucher e Sintomas Não Motores.

## **CAPÍTULO 1**

### **2.2.1 A Doença de Gaucher**

A Doença de Gaucher (DG) é um erro inato do metabolismo (EIM) de padrão de herança recessiva que resulta na atividade deficiente da enzima lisossomal beta-glucocerebrosidase ácida (GCase, EC 3.2.1.45). Essa enzima é envolvida na rota do catabolismo dos glicosfingolípídeos e é a responsável pela quebra da ligação dos beta-glicocerebrosídeos em glicose e ceramida. A DG é um dos EIM mais comuns. A incidência da DG varia em estudos sendo encontrada em aproximadamente 1 a cada 40000 nascidos vivos (VAIRO et al., 2015; ZIMRAN; ELSTEIN 2016; PASTORES; HUGHES 2018). DG é mais frequente na população de judeus Ashkenazi com uma prevalência de 1:855, a frequência de portadores de mutação nessa população é de 1:18 (PASTORES; HUGHES 2018).

A deficiência da GCase leva ao acúmulo de glicosfingolípídeos principalmente a glucosilceramida, no sistema reticuloendotelial ocasionando acúmulo desse material no baço, no fígado, nos pulmões e na medula óssea. Esses glicolípídeos, são derivados das ceramidas e componentes fundamentais de todas as membranas do corpo conforme exemplificado na figura 1. São encontrados principalmente no tecido nervoso central e exercem importante papel na regulação das interações celulares, e do metabolismo de crescimento e de desenvolvimento desses órgãos (HARVEY; FERRIER 2015).



**Figura 2:** Figura modificado do Sidransky (2004) . Mostrando a rota metabólica da glucocerebrosidase e da glucosilesfingosina e a importância da glucocerebrosidase nesse processo. A Glucocerebrosidase converte glucosilceramida e glicosilesfingosina em ceramida, glicose e esfingosina.

O acúmulo de glicolípídeos ocorre principalmente no interior dos lisossomos de macrófagos que passam a ser denominadas, quando isso ocorre, de células de Gaucher (STIRNEMANN et al., 2017; PASTORES; HUGHES 2018). O material acumulado nas células leva ao mau funcionamento desses órgãos tanto pela substituição do tecido sadio por células enzimaticamente deficientes, quanto pela liberação de fatores inflamatórios, incluindo citocinas, que ocasionam uma cascata de mudanças patológicas.

O estado inflamatório celular, ocasionado pelo acúmulo, leva ao desenvolvimento das várias manifestações da DG: hipertrofia de órgãos linfóides primários e secundários, desenvolvimento de fibrose nos órgãos afetados, alta incidência de gamopatia

monoclonal, estado hipermetabólico e estado inflamatório sistêmico que precede as crises ósseas de alguns pacientes (FUTERMAN; ANTONY; ZIMRAN 2006).

A GCase é sintetizada nos polirribossomos ligados ao retículo endoplasmático (RE) da célula. Essa enzima, após ser sintetizada, passa para o RE onde, após glicosilações, é transportada para o complexo de Golgi e deste então para os lisossomos onde atuarão na hidrólise de glicolípídeos. Como exemplificado a seguir, dependendo do tipo de mutação do *GBAI* a GCase resultante pode variar quanto ao seu grau de retenção no RE. O resultado disso é que algumas Gcase, devido a sua forma anômala, não conseguem ser transportadas para o seu destino final, estando mais propensas a serem submetidas a degradação via proteossoma associado a RE.

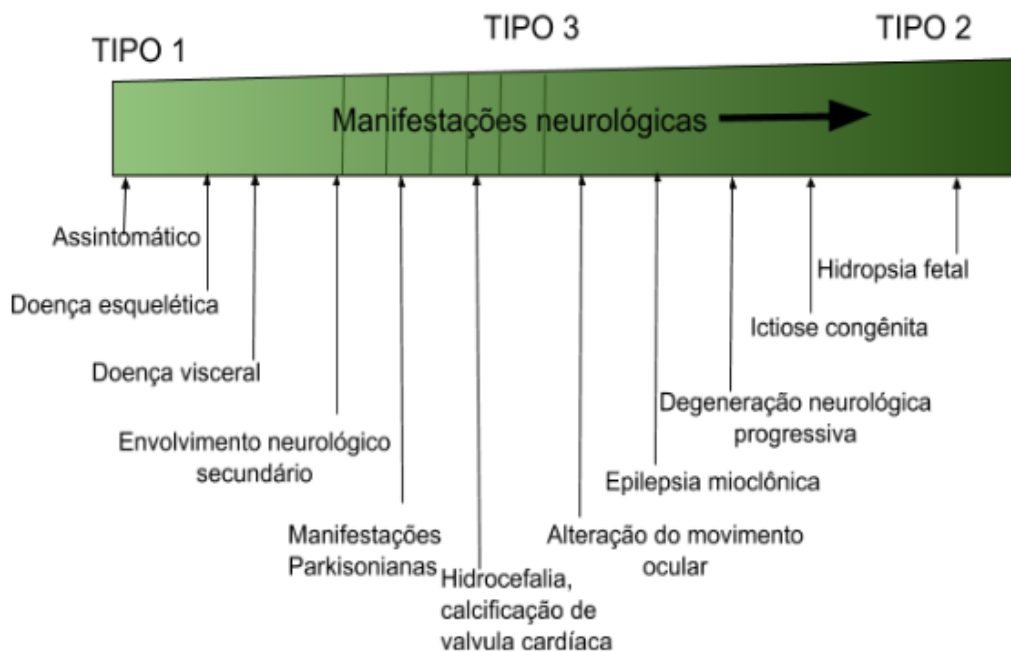
A GCase é expressa em diferentes níveis em todas as células nucleadas de mamíferos. Sua maior atividade ocorre nos tecidos derivados do ectoderma e sua menor naqueles derivados do mesoderma. A presença de Saposina C (SAP C), um ativador proteico, é essencial para a estabilidade da GCase e sua ação de proteólise do lisossomo (FUTERMAN; ANTONY; ZIMRAN 2006).

O gene que codifica a glucocerebrosidase ácida é denominado *GBAI* (nomenclatura dada pelo termo em inglês "glucosidase, beta, acid") e é localizado em uma região rica de genes do cromossomo 1q21. O gene possui 7kb e 11 exons, o cDNA desse gene é de aproximadamente 2.5kb. Um pseudogene próximo em relação a localização, possui 96% de sua sequência homóloga, o que dificulta a detecção e o sequenciamento de mutações. Entretanto, mais de 400 mutações desse gene já foram descritas sendo a c.1226A>G (N370S) mais encontrada em judeus Ashkenazi e na população em geral (COX; ROSENBLOOM; BARKER 2015).

Entre os tipos de mutação cita-se mutações de ponto, *frameshifts*, alterações do sítio de *splicing* e alelos recombinantes que incluem segmentos da sequência do pseudogene (SIDRANSKY; LOPEZ 2012). As mutações mais comuns responsáveis por 70-98% de todos os casos de DG na população geral são: N370S (c.1226A>G), L444P (c.1448T>C), 84insG (c.84dupG), e IVS2+1G>A (c.115+1G>A)(BARKHUIZEN; ANDERSON; GROBLER 2016). Em uma coorte brasileira em Tabuleiro do Norte com incidência de 1: 4000 nascidos vivos de DG a mutação G377S foi tida como a terceira mais comum nessa população (CHAVES et al., 2015).

A atividade da GCase em pacientes com DG é tipicamente 10-20% da encontrada em um indivíduo normal (MIGDALSKA-RICHARS; SCHAPIRA 2016). Tais mutações possuem correlação com o fenótipo na maioria dos casos sendo que homozigotos ou heterozigotos compostos para N370S exclusivamente desenvolvem o tipo 1 da DG e os homozigotos para a mutação L444P geralmente desenvolvem o tipo 3 da DG (SIDRANSKY, 2004). O motivo para tal fenômeno pode ser explicado pelo efeito que a mutação tem na estrutura da GCase. A mutação N370S não afeta diretamente o sítio catalítico dessa enzima, enquanto que a L444P, causa mudanças conformacionais do core do domínio II da enzima, o que pode levar a instabilidade da mesma (MIGDALSKA-RICHARS; SCHAPIRA 2016). Diferentes mutações provocavam diferentes atividades residuais enzimáticas: a mutação comum N370S detém 38% de atividade enzimática enquanto que a L444P apenas 13% (CHAVES et al., 2015).

A DG possui fenótipos variáveis e três formas clínicas são convencionalmente separadas com base no envolvimento neurológico, são elas: forma não neuropática (tipo 1), forma neurológica aguda (tipo 2) e forma neuropática subaguda (tipo 3).



**Figura 3:** Figura traduzida do Futerman (2006) representando o espectro de fenótipos da Doença de Gaucher, com a principal distinção sendo a presença ou ausência de manifestações neurológicas entre a forma mais leve (à esquerda) e a forma mais grave (a direita). Há uma “zona



cinzenta”, indicada por linhas verticais, onde não está claro se a neuropatologia é o resultado da deficiência enzimática ou de uma causa secundária.

As formas neuropáticas são caracterizadas por mutações tidas como mais graves ou mutações ‘nulas’ em contraste com o tipo 1 que, em teoria, teria que ter, em pelo menos em um alelo, uma mutação com um efeito fenotípico mais leve. Entretanto o surgimento de Doença de Parkinson (DP) em pacientes com DG tipo 1 tem alterado cada vez mais o entendimento na patofisiologia e genética da deficiência de Gcase (ELSTEIN; ALCALAY; ZIMRAN 2015).

A DG tipo 1 (OMIM, #230800) é tida como a mais frequente e é o foco da presente dissertação. O fenótipo varia de adultos assintomáticos a adolescentes com visceromegalia e doença óssea debilitante. Não ocorre envolvimento neurológico primário nesse subtipo. O início da apresentação dos sintomas geralmente surge na vida adulta, mas podem ser encontrados desde a infância. Pelo acúmulo de glicolípídeos do sistema reticuloendotelial de órgãos como o fígado, o baço e a medula óssea, entre os sintomas do tipo 1 cita-se: hepatoesplenomegalia, trombopenia, anemia e leucopenia. A infiltração das células de Gaucher na medula óssea causa, tanto alterações na linhagem sanguínea, como pancitopenia, quanto dores ósseas causadas pela tumoração celular

devido ao acúmulo de células de Gaucher (Gaucheromas). Osteólise e osteoporose também são sintomas frequentemente associados (PASTORES; HUGHES 2018).

O tipo 2 ( OMIM, #230900) é o tipo mais grave da DG e é responsável por menos de 1% dos casos. A manifestação ocorre no início da infância com deterioração neurológica progressiva, que pode culminar em morte precoce principalmente por aspiração ou apneia. Entre os sintomas apresentados cita-se espasticidade progressiva, hiperreflexia e paralisia ocular.

O tipo 3 (OMIM, #231000) leva a sintomas neurológicos subagudos que são menos severos do que as do tipo 2. O início dos sintomas é mais tardio e a progressão neurológica costuma ser mais lenta. Os sintomas sistêmicos costumam surgir antes da forma neurológica e tendem a ser parecidos com os encontrados na DG tipo 1. Sintomas neurológicos costumam incluir, ataxia cerebelar, paraparesia espástica, epilepsia, oftalmoplegia e demência.

### **2.2.2 O Tratamento da Doença de Gaucher**

O tratamento para a DG consiste principalmente na terapia de reposição enzimática (TRE). Tal terapia baseia-se no fornecimento de enzima exógena em nível suficiente para superar o bloqueio na rota metabólica da enzima previamente deficiente e assim ajudar no *clearance* de substrato acumulado.

A TRE está disponível desde 1994, através da administração de forma recombinante modificada da GCase e pode tratar os sintomas hematológicos e viscerais da doença. Essa forma de tratamento, no entanto, não interfere na doença do sistema nervoso central (SNC), por não penetrar na barreira hemato encefálica (BHE). (Sardi et al 2015). São as enzimas aprovadas para TRE e seus respectivos laboratórios: imiglucerase (Cerezyme®, Genzyme pertencente a Sanofi-Aventis), velaglucerase alfa (VPRIV®, Shire Human Genetic Therapies Inc.) e taliglucerase alfa (Comercializado na America Latina como Uplyso®, Pfizer Inc).

A imiglucerase é produzida em células de ovário de hamster chinês projetadas para superexpressar um análogo recombinante da  $\beta$ -glicocerebrosidase humana, a velaglucerase alfa é produzida em uma linhagem de fibrossarcoma humano para superexpressar o *GBA1* endógeno e a taliglucerase é produzida em células da raiz de cenoura.



Estudos comparando a velaglucerase e a imiglucerase demonstraram que as propriedades enzimáticas são essencialmente idênticas, a eliminação do fármaco é semelhante e os parâmetros cinéticos *in vitro* e a desnaturação do pH também são semelhantes (BURROW; THOMAS; GRABOWSKI 2011).

Em seguimento de 10 anos foi mostrado que a imiglucerase melhora os níveis de hemoglobina, a contagem plaquetária, a hepato e a esplenomegalia e a crise óssea, além de melhorar a qualidade de vida em geral (BARKHUIZEN; ANDERSON; GROBLER 2016; PASTORES; HUGHES 2018). Apesar do uso por mais tempo da imiglucerase, estudos mostraram que todas as três enzimas recombinantes são similares em termos de eficácia (ELSTEIN et al., 2011). O tratamento com as terapias aprovadas não demonstraram efeito na progressão do parkinsonismo em pacientes que apresentam DG e DP (SARDI; CHENG; SHIHABUDDIN 2015).

De forma geral, a TRE é bem tolerada, e entre os efeitos adversos cita-se urticária e prurido, controlados de forma satisfatória com antihistamínicos. Há relatos de desenvolvimento de anticorpos em indivíduos em uso de infusões de imiglucerase e velaglucerase com taxas aproximadas de 10-15% e 1% respectivamente (PASTORES; HUGHES 2018). Em um relato de caso com paciente de DG tipo 3 foi encontrado diferentes efeitos adversos no uso dessas 3 enzimas demonstrando que elas podem ter um perfil de segurança diferente (VAIRO et al., 2013).

Uma alternativa para a TRE é a terapia de redução de substrato (TRS) a qual inibe a síntese de glucosilceramida via inibição da glucosilceramida sintase assim diminuindo o acúmulo. A menor quantidade de substrato pode então ser degradada pela enzima mutada se essa ainda tiver alguma ação hidrolítica residual. Os exemplos são miglustate (Zavesca®, Actelion) e o eliglustate (Cerdelga® Genzyme). A TRS é uma opção para pacientes com DG leve a moderada nos quais a TRE não é uma opção como em pacientes hiper alérgicos ou com rede venosa difícil (PASTORES; HUGHES 2018).

A via de administração da TRS é oral e o principal exemplo é o miglustate que recebeu aprovação para o tratamento da DG tipo 1 em 2002. Intolerância gastrointestinal e tremores são eventos adversos comuns que diminuem a adesão dos pacientes ao tratamento. Apesar de cruzar a BHE há estudos que não demonstraram benefício em sintomas neurológicos de pacientes com DG tipo 3 e nem houve redução da toxicidade induzida pelo acúmulo de  $\alpha$ SIN (BARKHUIZEN; ANDERSON; GROBLER 2016). Em

2014 o eliglustate (um inibidor da glucosilceramida sintase) recebeu aprovação, sendo um inibidor de substrato que não cruza a BHE e que tem mostrado resultado na estabilização da doença visceral e óssea.

Atualmente novas terapias têm se mostrado promissoras para tratar não somente os sintomas viscerais e hematológicos, como também os neurológicos. Entre as novas terapias cita-se o uso de pequenas moléculas de chaperonas feitas para cruzarem a BHE e que são capazes de se ligarem a glicocerebrosídeos no retículo endoplasmático, ajudando no seu correto dobramento e subsequentemente ao seu transporte ao lisossomo onde serão degradadas. As chaperonas podem também se ligarem a enzimas mal dobradas, levando-as ao lisossomo onde terão sua ação permitida. As chaperonas são, logo, uma importante promessa para o tratamento das formas neuropáticas da DG (MIGDALSKA-RICHARS; SCHAPIRA 2016).

Ambas miglustate e a isofagomina foram as primeiras chaperonas que demonstraram aumento da atividade da GCCase. Tais chaperonas agem aumentando o tráfego da GCCase do retículo endoplasmático até o lisossomo através de ligação específica porém reversível (LEIDENHEIMER, 2018). Essas chaperonas, entretanto, possuem um efeito inibitório na atividade dessa enzima. A isofagomina é efetiva *in vitro* e atualmente está em ensaios clínicos para teste de segurança e eficácia.

O ambroxol (ABX), um expectorante mucolítico, foi também estudado como chaperona. Sua forma de atuação consiste em ligar-se em um pH neutro a enzimas mal dobradas do retículo endoplasmático, facilitando seu transporte até o lisossomo. Nessa organela, devido ao pH mais ácido, a enzima é liberada de sua ligação com a chaperona podendo exercer sua função. Logo para tanto, se beneficiam produtos de mutações que geram uma GCCase com alguma atividade intrínseca residual apesar da forma anômala (BARKHUIZEN; ANDERSON; GROBLER 2016). O uso do ABX em alguns estudos aumentou significativamente a atividade da GCCase e baixou os níveis de glicosfingolipídeos do fluido cerebrospinal, além de melhorar sintomas neurológicos (NARITA et al., 2016; BALESTRINO; SCHAPIRA 2018; PASTORES; HUGHES 2018).

Em um estudo altas doses de ABX foram administradas a 5 indivíduos com DG tipo 3 e manifestações neurológicas debilitantes. ABX levou a uma melhora clínica em ambos os escores subjetivo-funcionais e escores objetivos, como potenciais evocados

visuais e movimentos oculares. Aumento da atividade de GCase em linfócitos e redução de glicosíngolípídeos no líquido cefalorraquidiano (LCR) também foram demonstrados nesse estudo (NARITA et al., 2016). O estudo piloto realizado em 12 pacientes com DG tipo 1 (com pelo menos um alelo N370S), que não estavam em TRE, demonstrou melhora nos parâmetros como concentração de hemoglobina e tamanho do baço. Porém, nesse estudo, haja vista o uso de dosagem subterapêutica de ABX por se tratar de um estudo piloto, tais achados foram limitados aos dois pacientes com os menores índices de massa corporal. O próprio artigo sugere o uso de maiores doses e um controle com grupo placebo para melhor avaliação em estudos subsequentes (ZIMRAN; ALTARESCU; ELSTEIN 2013).

Além das chaperonas, outra forma de tratamento que está sendo estudada envolve a transferência de um gene, que codificará uma proteína funcionante, na célula através de um vetor com vistas a aumentar a atividade da GCase. Esse tratamento é denominado Terapia Gênica (TG). Em um modelo animal com neurodegeneração induzida pelo acúmulo de  $\alpha$ SIN, a superexpressão do gene *GBA1* diminuiu o acúmulo lipídico celular (BARKHUIZEN; ANDERSON; GROBLER 2016). Em um estudo com modelo animal com deleção cérebro-específica do *GBA1* a injeção intraperitoneal com um vetor adenovírus do tipo 9 mostrou melhora da atividade da GCase, das mudanças neuropatológicas e aumentou a expectativa de vida desses animais em duas vezes (DU et al., 2018).

Apesar de promissora, a TG necessita, entretanto, nos casos de acometimento do SNC, chegar ao tecido cerebral através de injeção direta. A TG está sendo estudada com estudos pré-clínicos promissores em vários modelos animais, incluindo modelo de ratos da doença de Niemann-Pick tipo C, doença de Tay-Sachs e mucopolissacaridose (GIUGLIANI et al., 2017). A infusão endovenosa para cruzar a BHE ocorre somente em modelos animais neonatos ou muito jovens, e talvez no futuro será uma alternativa terapêutica viável.

Um dos marcadores plasmáticos para monitorar a resposta ao tratamento e progressão da doença para a DG é a quitotriosidase. Hibridização *in situ* e histoquímica de medula óssea e biópsias esplênicas de pacientes revelaram que a quitotriosidase é especificamente produzida pelas células de depósito, possuindo uma correlação direta com a quantidade de glicosilceramida acumulada no corpo (FUTERMAN, 2006).

Atualmente considera-se que os níveis de quitotriosidase não refletem somente um dos sintomas da doença, mas sim a quantidade global secretada pelas células fagocíticas sobrecarregadas de acúmulo lipídico em todo corpo (FUTERMAN, 2006).

## **CAPITULO 2.**

### **2.3 A Descoberta da associação entre a Doença de Gaucher e a Doença de Parkinson**

A DP é a segunda doença neurodegenerativa mais comum depois da doença de Alzheimer (DA) (TOMMASO BECCARI et al., 2011). A causa da DP é pouco conhecida, haja visto sua etiologia multifatorial, que envolve o próprio envelhecimento do cérebro, a susceptibilidade genética e os fatores ambientais. Os achados principais dessa doença decorrem da perda dos neurônios dopaminérgicos na substância negra e a aparição de inclusões intraneuronais compostas de agregados anormais de proteínas, especialmente  $\alpha$ SIN, denominadas corpos de Lewy (CL). O acúmulo de  $\alpha$ SIN é considerada o marco central na patogênese da DP: mutações, multiplicações e polimorfismos do gene *SNCA*, responsável pela proteína, levam a formação e acúmulo direto dessa proteína (SCHAPIRA, 2015).

A  $\alpha$ SIN é encontrada nas células da glia, em incursões nucleares e citoplasmáticas de outras células do SNC e em botões sinápticos de neurônios. Sua função permanece desconhecida (PUSCHMANN; BHIDAYASIRI; WEINER 2012). O acúmulo de agregados de  $\alpha$ SIN possui um efeito tóxico direto sobre a célula: no cérebro de pessoas com sintomas motores de DP esse acúmulo é encontrado tanto na forma esporádica, quanto na forma familiar da doença (FARLOW; PANKRATZ; WOJCIESZEK 2004; TOMMASO BECCARI et al., 2011).

A DP é geneticamente heterogênea com formas tanto idiopáticas (em que o fator ambiental e a susceptibilidade genética são fatores influenciadores) quanto familiares (KARIMI-MOGHADAM et al., 2018). A forma familiar é rara e representa apenas 10% dos casos (PITCAIRN; WANI; MAZZULLI 2018).

A DP foi primeiramente descrita pelo médico inglês James Parkinson em 1817. Já nessa época foi observado a natureza complexa dessa doença e o fato de que os SPM estavam também presentes com os sintomas motores clássicos (SAUERBIER et al., 2016). A DP é classicamente diagnosticada pela manifestação de doença motora com início assimétrico e que evolui para um acometimento bilateral. A maioria dos sintomas ocorre pela perda de neurônios da substância negra *pars compacta* e a subsequente perda da entrada de dopamina nas estruturas motoras do corpo estriado, levando a sintomas como tremores, rigidez muscular e bradicinesia. A incidência da DP aumenta significativamente após a quinta década de vida : a DP afeta 2% da população com mais

de 60 anos e 4% da população acima dos 80 anos. O tratamento atual da DP é sintomático, sem efeito sobre a neurodegeneração em si (TOMMASO BECCARI et al., 2011; ELSTEIN; ALCALAY; ZIMRAN 2015).

As primeiras associações entre a atividade deficiente da enzima GCase e a DP foram descobertas a partir da observação clínica de que pacientes com DG, em vários casos, desenvolveram DP de início precoce e que, em alguns, também havia refratariedade ao tratamento padrão com levodopa (TOMMASO BECCARI et al., 2011; ELSTEIN; ALCALAY; ZIMRAN 2015). Notou-se na época da apresentação dos casos uma dicotomia entre a aparente leve sintomatologia da DG e uma apresentação mais agressiva da DP. O gene *GBA1*, responsável pela DG foi após estudos, considerado um fator de risco para a DP a partir da observação de alguns estudos como os exemplificados abaixo na tabela 1.

**Tabela 1:** Exemplo de estudos que analisaram a relação entre a Doença de Parkinson com a Doença de Gaucher e mutações do gene *GBA1*.

Fonte	Estudo	Conclusão
LWIN et al., 2004	Tecido cerebral pacientes com Doença de Parkinson (n=57) em busca de mutações em <i>GBA1</i> .	Mutações em <i>GBA1</i> encontradas em 14% das amostras
AHARON-PERETZ; ROSENBAUM; GERSHONI-BARUCH 2004	Amostras pacientes com Doença de Parkinson com descendência Ashkenazi (n=99) x amostra de controles com descendência Ashkenazi (n=1543) para as mutações de <i>GBA1</i> mais comuns.	31.3% dos pacientes com Doença de Parkinson portavam mutações no <i>GBA1</i> contra 6,2% dos indivíduos controle
BULTRON et al.,2010	Pacientes com Doença de Gaucher (n=444) avaliados para o risco de desenvolver Doença de Parkinson	Risco relativo de desenvolver Doença de Parkinson precoce de 21,4 vezes maior ao longo da vida do que a população normal.

A partir desses estudos surgiram hipóteses de que as proteínas transcritas pelo *GBA1* e a  $\alpha$ SIN estariam implicadas em uma rota metabólica comum. A observação da ocorrência da DP em alguns pacientes com DG tipo 1, não neuropática, e em seus parentes de primeiro grau, levou a identificação de mutações heterozigotas no *GBA1* como sendo um fator de risco genérico para a doença de Parkinson idiopática (COX; ROSENBLOOM; BARKER 2015; ELSTEIN; ALCALAY; ZIMRAN 2015;

SCHAPIRA, 2015). A penetrância dos portadores de mutações do *GBAI* para desenvolver DP foi estimada em 13,7% aos 60 anos e 29,7% aos 80 anos de idade (BEAVAN et al., 2015; ANHEIM et al., 2012).

Sobre a diferença de fenótipo entre pacientes com DP heterozigotos para mutações do *GBAI* há divergências de estudos que consideram que nos heterozigotos o início da doença é mais precoce e com maior incidência de sintomas neuropsiquiátricos (TOMMASO BECCARI et al., 2011; PITCAIRN; WANI; MAZZULLI 2018) dos que consideram que não há distinção entre as apresentações (SCHAPIRA, 2015).

Foi observado recentemente que pacientes com DP heterozigotos para a mutação em *GBAI* tem maior prevalência e severidade de bradicinesia, complicações motoras induzidas pelo tratamento, hiposmia, disfunção sexual, declínio cognitivo, alucinações, depressão e ansiedade (SIDRANSKY; LOPEZ 2012; SARDI; CHENG; SHIHABUDDIN 2015; E. S. FAHANAAND, 2017). Em um estudo Israelense retrospectivo com 19 pacientes com DP e DG foi tentado caracterizar fenótipo e progressão da doença em um *follow up* de 10 anos. Foi observado nesses pacientes um início mais precoce de DP com média de início de 49,7 anos. A sobrevida média com DP entre os 5 pacientes homozigotos para a mutação N370S (fenótipo tido como mais leve) foi de 11,8 anos. A sobrevida com DP dos 3 pacientes com mutação N370S/outra foi de 9,6 anos (LOPEZ et al., 2016).

Em relação à neuroimagem, há também informações conflituosas entre os achados. Em um estudo com pacientes com DP com e sem mutação nos genes de *GBAI* utilizando tomografia computadorizada por emissão de fóton único para avaliação de neuroimagem foi observado que portadores de mutação no gene *GBAI* têm menor captação de contraste nas regiões parietais posteriores e occipitais posteriores comparadas a pacientes com DP sem mutação. Também foi encontrado maior depleção de sítios de ligação de dopamina do corpo estriado nos pacientes com mutação no *GBAI* (STANDAERT; GELDMACHER et al., 2016). Entretanto, outro estudo com imagens tomografia com emissão de pósitron com fludopa e de único fóton com ligantes sensíveis a dopamina o padrão encontrado foi assimétrico e indistinguível entre os grupos (SCHAPIRA, 2015).

Em relação às mutações tem-se que o risco de DP é diferente dependendo da mutação do *GBAI* encontrada: o risco é considerado maior, com um *odds-ratio* de 9.92 a

21.29 para algumas mutações como a IVS2+1 G>A e a L444P. A N370S tem um *odds ratio* de 2.84-4.94 em relação à população geral (BARKHUIZEN; ANDERSON; GROBLER 2016).

### **Capítulo 3.**

#### **2.4 Hipóteses para a associação entre Doença de Gaucher e a Doença de Parkinson**

O mecanismo pelo qual a mutação do *GBA1* aumenta o risco de DP ainda não está elucidado haja vista que o efeito deletério do gene esperado em homozigotos (levando ao



defeito enzimático e assim acúmulo de  $\alpha$ SIN) não justificaria os achados dos mesmos sintomas em pacientes com a mutação em somente um alelo (SCHAPIRA, 2015).

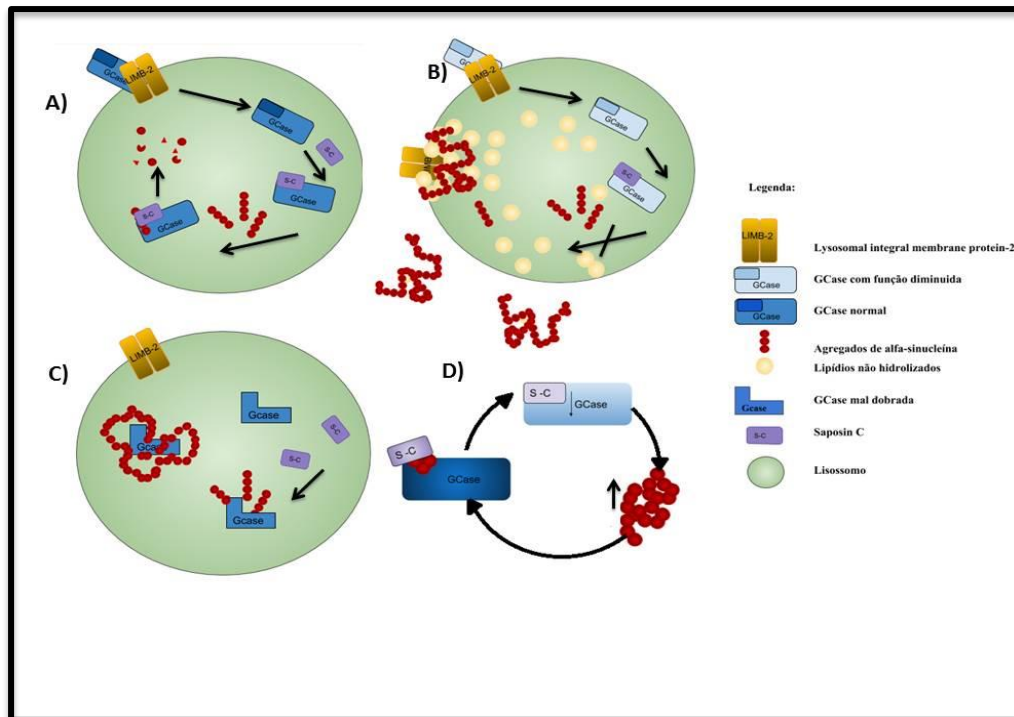
Devido à semelhança de sintomatologia com a DP idiopática foram sugeridas explicações para a via em comum dessas doenças que envolveriam acúmulo de  $\alpha$ SIN, defeito mitocondrial, estresse do RE, defeitos na autofagia, entre outros. Entretanto tais explicações não contemplam o fato de que pacientes com mutação no *GBA1* nem sempre desenvolvem DP (MIGDALSKA-RICHARS; SCHAPIRA 2016).

O organismo humano possui um controle da qualidade das proteínas formadas, feito principalmente pelos lisossomos. Tal controle garante que proteínas mal formadas ou defeituosas não se acumulem ou prejudiquem o organismo. O defeito nesse processo tem forte relação com doenças neurodegenerativas, principalmente a DP e a DA (TOMMASO BECCARI et al., 2011; SARDI; CHENG; SHIHABUDDIN 2015; SAUERBIER et al., 2016).

O processo de degradação por autofagia lisossomal é um sistema complexo que ocorre com três principais vias. São elas: macroautofagia, microautofagia e autofagia mediada por chaperonas. O processo de macroautofagia é definido como sequestro de regiões completas do citosol incluindo, não somente proteínas solúveis, como também organelas completas numa vesícula de duas membranas denominada de autofagossoma. A origem desse autofagossomo é tido como oriundo do RE ou do complexo de Golgi. Como esse vacúolo não possui enzimas, a digestão só ocorre quando este se funde a um lisossomo (KAUCHIK; SUSMITA; CUERVO 2018). A microautofagia consiste na invaginação e digestão de pequenas partes do citosol. Participam do *turn-over* de proteínas senis em diversos tipos de células. Enquanto que a autofagia mediada por chaperonas é caracterizada pela seletividade: as chaperonas entregam diretamente ao lisossomo as proteínas sinalizadas. Esse processo de degradação permite a remoção de proteínas específicas sem prejudicar o entorno.

Independente do processo todos os substratos são, em último caso, levados até o lisossomo onde diversas hidrolases rapidamente os degradam. Uma das rotas de degradação da  $\alpha$ SIN, tida como a principal, é pela via mediada por chaperonas. Estudos revelam que uma função defeituosa do lisossomo parece estar envolvida em formas familiares de DP como consequência da degradação deficiente da  $\alpha$ SIN (TOMMASO BECCARI et al., 2011). Considera-se que heterozigotos podem ter 50-60% de atividade

residual da GCase, atividade esta suficiente para prevenir manifestação sistêmica da DG, dependendo da mutação. Para explicar o risco aumentado de DP nessa população, passou-se a considerar que em heterozigotos a proteína oriunda da tradução seria mal dobrada com ganho ou perda de função. Atualmente tenta se explicar essa associação por meio de três hipóteses, todas com estudos que as comprovam ou as refutam. As principais teorias são exemplificadas na figura 4.



**Figura 4:** Hipóteses para a associação entre a glucocerebrosidase e o acúmulo de alfa-sinucleína. A) Função normal do lisossomo com degradação da alfa-sinucleína sem conteúdo lipídico acumulado na organela. . B) Teoria da perda de função em que a diminuição da atividade da glucocerebrosidase levaria a uma perturbação da homeostase lipídica e prejuízo do transporte de membrana levando a déficit do clearance de alfa-sinucleína. C) Teoria do ganho de função em que a glucocerebrosidase mal dobrada levaria a um aumento do acúmulo de alfa-sinucleína. D) Teoria da alça em que a alfa-sinucleína competiria com o sítio de ligação da saposina C levando a uma diminuição da atividade enzimática o que acarretaria a um aumento do acúmulo de alfa-sinucleína e assim sucessivamente.

A primeira hipótese é a chamada ‘hipótese do ganho de função’ em que a GCCase mal dobrada interagiria diretamente com a  $\alpha$ SIN levando a sua agregação e acúmulo. A mutação mais encontrada em pacientes com DP esporádica é a N370S que causa mal dobramento protéico e é a mutação com maior atividade residual entre todas as mutações do *GBA1*(McNEILL et al., 2012). Tal interação entre GCase e  $\alpha$ SIN já foi demonstrada em lisossomos (um ambiente ácido), inclusive demonstrando que o aumento de GCase mal dobrada levaria ao aumento de  $\alpha$ SIN em modelos animais de 21% a 148% (MIGDALSKA-RICHARS; SCHAPIRA 2016; SARDI; CHENG; SHIHABUDDIN 2015).

A segunda hipótese propõe uma perda de função da GCase ocasionada, por exemplo, pela degradação das enzimas mal dobradas. Tal perda da atividade enzimática levaria a um acúmulo de substrato (glucocerebrosídeos) o que levaria a um desbalanço proteico intracelular. O acúmulo anormal de glicolipídeos levaria a alterações do tráfego e degradação das  $\alpha$ SIN nesse ambiente. Estudos com injeção de Conduritol-B-Epoxide, um inibidor da GCase levou a um aumento de cerca de 20% de  $\alpha$ SIN em modelos celulares (MIGDALSKA-RICHARS; SCHAPIRA 2016). Estudos com cérebro de pacientes com DP idiopática mostraram que tanto a expressão quanto a atividade da GCase estavam diminuídas na substância negra e que a redução da atividade da GCase era associada a um acúmulo de inclusões de  $\alpha$ SIN comparado a regiões não afetadas (PITCAIRN; WANI; MAZZULLI 2018).

Em outro estudo, uma redução seletiva na ceramida total (produto da hidrólise da glicosilceramida pela GCase), mas não na esfingomielina, foi recentemente relatado em estágio inicial de DP do córtex cingulado anterior. A redução de ceramida foi observada justamente em regiões do cérebro que acumulam  $\alpha$ SIN e que possuem deficiência de GCase. No entanto, esses achados são difíceis de associar a uma diminuição na atividade

da GCase, pois nenhuma diminuição nos níveis de ceramida foi observado em cérebros de camundongos com DG (SARDI; CHENG; SHIHABUDDIN 2015).

Uma terceira hipótese sugere uma alça de retroalimentação intracelular em que uma deficiência da GCase levaria a um acúmulo de agregados de  $\alpha$ SIN. Tal acúmulo levaria subsequentemente a uma diminuição da atividade da GCase o que levaria, conseqüentemente a um aumento do número de agregados dessa proteína. Esse fenômeno ocorreria através de uma interação direta entre a glucocerebrosidase e  $\alpha$ SIN em um ambiente ácido, assim como aquele presente nos lisossomos (MIGDALSKA-RICHARS; SCHAPIRA 2016). Essa teoria é consistente com o achado de que agregados de  $\alpha$ SIN inibem o tráfego de proteínas entre o RE e o complexo de Golgi exacerbando a alça (PITCAIRN; WANI; MAZZULLI 2018).

Para o melhor entendimento sobre a interação entre a GCase e a  $\alpha$ SIN tem-se que levar em consideração o papel da SAP C nesse processo. As saposinas são um conjunto de quatro pequenas glicoproteínas, denominadas saposinas A-D, que atuam como ativadores enzimáticos em múltiplos estágios de degradação dos esfingolípídeos lisossômicos, assim como na digestão lisossomal. A SAP C tem particular relevância para a DG: é um ativador necessário para a GCase com mecanismo de ação ainda não totalmente elucidado. Acredita-se que a SAP C se associe tanto à GCase quanto à membrana fosfolipídica, reunindo-as para que a GCase possa hidrolisar a glucosilceramida endógena. A SAP C também pode ajudar a extrair e solubilizar o substrato lipídico da membrana, tornando-o acessível para a hidrólise (TAMARGO et al., 2012).

A importância da SAP C foi demonstrada em um estudo em que modelos de rato com DG com formas hipomórficas da prosaposina, precursor da SAP C, apresentaram uma forma mais agressiva da doença com comprometimento neurológico e déficits tanto na autofagia quanto na homeostase de proteínas do SNC. Tal forma anômala da prosaposina induziu a um maior acúmulo de proteínas mal dobradas, incluindo  $\alpha$ SIN (SARDI; CHENG; SHIHABUDDIN 2015). Segundo outro estudo, a  $\alpha$ SIN em sua forma helicoidal, ligada a membrana, interagiria com a GCase diminuindo sua atividade e que a SAP C, ao competir pelo sítio de ligação, protegeria essa enzima ao impedir sua interação com a  $\alpha$ SIN. Essa hipótese foi demonstrada in vitro em camundongos *knockout*

para  $\alpha$ SIN em que foi observado aumento de 35% na atividade da glicocerebrosidase sem afetar o nível geral da enzima (SARDI; CHENG; SHIHABUDDIN 2015).

Atualmente acredita-se que as alterações na GCase, por si só, não são a responsável pelo acúmulo de  $\alpha$ SIN, havendo outros fatores como alterações genéticas ou modificações na degradação lisossomal.

Atualmente, outra teoria tenta explicar o porquê da DP em pacientes que são heterozigotos para o gene *GBA1*. A do estresse do RE sugere que glicocerebrosídeos mal dobrados podem oprimir o sistema ubiquitina-proteossomo (um sistema de sinalização e degradação protéica nessa organela) causando um atraso na destruição de proteínas acumuladas, incluindo  $\alpha$ SIN, seu substrato natural de ação (TOMMASO BECCARI et al., 2011) Tal teoria sugere que as proteínas mal dobradas, não conseguindo ser degradadas pelo RE, levariam a um estresse dessa organela o que teria como consequência um aumento da apoptose (MIGDALSKA-RICHARS; SCHAPIRA 2016).

A degradação associada ao RE depende da função de parkina, proteína superexpressa em situações de estresse dessa organela para impedir a acumulação de substrato e manter intactos os neurônios dopaminérgicos. Sem a superexpressão da parkina há menos sensibilidade dos inibidores de proteassoma dependentes da atividade do sistema parkina-ubiquitina tornando-os incapazes de prevenir os efeitos tóxicos da acumulação de  $\alpha$ SIN (ELSTEIN; ALCALAY; ZIMRAN 2015).

Em resumo, o papel das mutações no gene *GBA1* na patogenia das sinucleinopatias não é totalmente compreendido. O fato de que alguns pacientes com DG nunca desenvolverão DP é um dos fatores para não se aceitar que somente a perda da função enzimática seja a responsável pelo acúmulo de  $\alpha$ SIN Muitas mutações encontradas no gene *GBA1* são de perda de função e não de ganho, como ocorre na teoria da proteína mal dobrada, também não podendo respaldar essa última teoria como a única correta.

Há estudos que mostram que mesmo heterozigotos possuem aumento de  $\alpha$ SIN mesmo sem interferência da atividade da GCase. Uma explicação possível seria a de que GCases mutantes por si só não seriam suficientes para induzir patologias associadas a  $\alpha$ SIN, mas sim ocorreriam quando houvesse perturbação do componente lisossomal da rota de degradação (MIGDALSKA-RICHARS; SCHAPIRA 2016).

As mitocôndrias também parecem ter um papel importante nessa associação entre DG e DP. As mitocôndrias são organelas celulares responsáveis não somente pela produção de energia celular, como também pela homeostase do cálcio, pela produção do potencial de membrana, pela apoptose e pela produção de esteróides. Mutações nos genes *PARK2*, *PINK1* e *Parkin* ou *DJ-1* que afetam a morfologia e a função das mitocôndrias foram identificadas como causadoras da DP familiar. A homeostase do cálcio também já foi implicada na patogênese da DP (SCHAPIRA, 2015).

Atualmente poucos estudos tentam relacionar mutações do *GBA1* com a função mitocondrial. Estudos promovendo a perda da função do *GBA1* em modelos celulares demonstraram diminuição na fosforilação da adenosina difosfato (ADP), diminuição do potencial de membrana e aumento na geração de radicais livres. Foi também demonstrado que GCases mal dobradas com ganho de função levaram a uma redução significativa do consumo de oxigênio e produção de adenosina trifosfato (ATP) (MIGDALSKA-RICHARS; SCHAPIRA 2016). Esses estudos sugerem que tanto perda quanto ganho de função da GCase causam defeitos mitocondriais colocando essa organela como um importante fator a ser considerado na patofisiologia da DP em pacientes com DG.

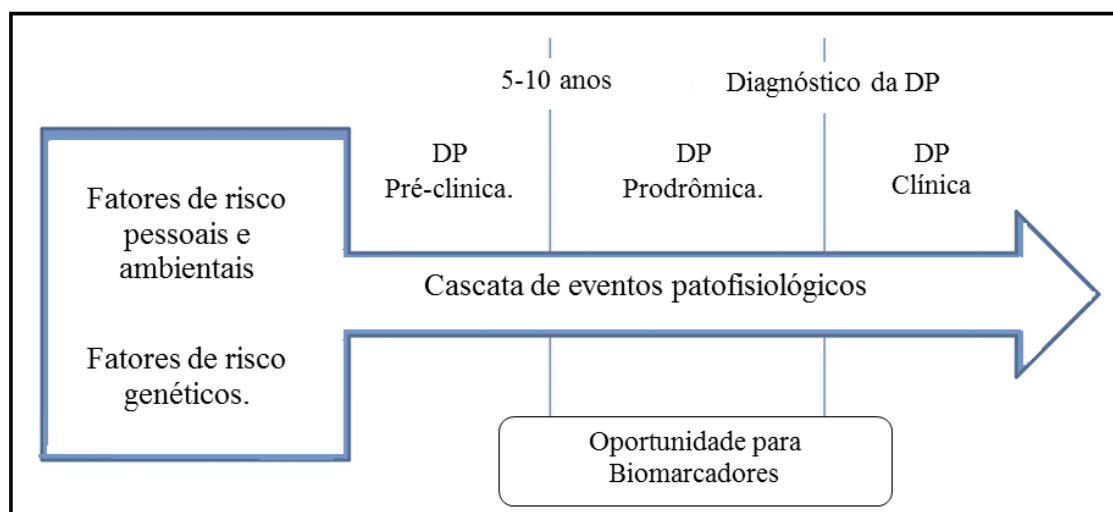
A última hipótese que citaremos propõe que os agregados de  $\alpha$ SIN possuem um mecanismo de transmissão celular semelhante aos príons, sendo transmitidos de célula a célula através de exocitose e subsequente endocitose em células vizinhas. Os macrófagos, a célula mais afetada na DG, serviriam de carreador destes agregados (BAE et al., 2014). A  $\alpha$ SIN tanto intra, quanto extracelular, pode acumular-se e espalhar-se em um ambiente rico em lipídios, como no encontrado nas células de Gaucher. O acúmulo de  $\alpha$ SIN ao redor das células é considerado tóxico e capaz de aumentar o agregado intracelular através do processo de *seeding* o que contribui para a formação de CL (BAE et al., 2014). Essa hipótese, entretanto, não explica o risco aumentado em heterozigotos de DP haja vista a ausência de acúmulo lipídico nos macrófagos desses pacientes. Uma possível explicação é que um segundo insulto, como uma nova mutação somática, pode ocorrer em macrófagos isolados, o que acarretaria um acúmulo de  $\alpha$ SIN e sua posterior propagação (BARKHUIZEN; ANDERSON; GROBLER 2016).

## **CAPITULO 4**

## 2.5 Sinais Pré-Motores da Doença de Parkinson.

Por um grande período de tempo acreditou-se que a DP era uma doença estritamente motora com os pacientes sofrendo principalmente de rigidez, de bradicinesia e de tremores. Nas últimas décadas tem crescido o número de evidências de que a DP é uma doença multissistêmica constituída de vários SPM além dos sintomas clássicos.

Os sintomas considerados motores da DP ocorrem quando mais do que 50% dos neurônios dopaminérgicos da substância negra degeneram (McNEILL et al., 2012). Os sintomas motores podem ser antecidos por um período prodrômico de até 20 anos de duração. Nesse período os sintomas considerados como SPM podem surgir representando períodos diferentes da mesma história da doença. A maioria dos pacientes com DP há muito tempo, ou com DP severa, apresentam de 6 a 10 SPM (KARIMI-MOGHADAM et al., 2018).



**Figura 5:** Progressão da Doença de Parkinson adaptada de Noyce AJ (2016) A figura mostra a fase pré-diagnóstica (fases pré-clínica e prodrômica) e a fase clínica da Doença de Parkinson juntamente com a aplicação paralela de marcadores de risco e progressão para medir a atividade da doença entre as fases.

Os SPM considerados como tendo evidência forte a moderada de relação com o início de sintomas motores de DP são: hiposmia, desordem do sono REM (rapid eye movement), sonolência diurna, constipação, depressão e ansiedade. Os SPM considerados como evidência fraca de associação são: disfunção autonômica, distúrbios de personalidade e comportamentais e sintomas não específicos como fadiga, dor, perda de peso entre outros (SAUERBIER et al., 2016; GATTO et al., 2016). A detecção precoce de sintomas prodrômicos se torna importante quando novas terapias neuroprotetoras

estiverem disponíveis para DP. Atualmente, infelizmente, não há nenhuma (SAUERBIER et al., 2016).

Recentemente a *International Parkinson and Movement Disorders Society* (IPMDS) criou critérios de pesquisa específicos para sintomas prodrômicos de DP representando a importância da detecção dos mesmos do contexto da dessa doença.

Para entender a progressão dos sintomas da DP tem-se demonstrado que depósito de  $\alpha$ SIN não está restrito ao cérebro podendo ser depositado no bulbo olfatório, no sistema nervoso periférico, no sistema nervoso entérico e até em plexos pélvicos (SWALLOW et al., 2016). A hipótese de que as  $\alpha$ SIN mal dobradas se auto propagam, célula a célula, via exocitose e endocitose, em regiões do SNC interconectadas, poderia justificar os SPM da DP (PUSCHMANN; BHIDAYASIRI; WEINER 2012). Tal propagação teria um padrão previsível indo do tronco cerebral ao bulbo olfatório, deste para o sistema límbico e eventualmente para o neocórtex (SWALLOW et al., 2016). Essa propagação também estaria envolvida na qualidade dos SPM estando os subtipos de pacientes com alteração do sono e disautonomia relacionados a rota do tronco cerebral; ansiedade, depressão e sintomas serotoninérgicos relacionados a rota límbica e cognição e apatia relacionados a um fenótipo cortical (SAUERBIER et al., 2016).

O acometimento do bulbo olfatório leva a hiposmia que é um dos SPM considerados na presente tese. O olfato é necessário para monitorar agentes transportados pelo sistema respiratório incluindo substâncias tóxicas e até mesmo alimentos estragados. O olfato, além disso, permite qualidade de vida ao aumentar o sabor dos alimentos. Entretanto, a hiposmia é pouco avaliada em consultas médicas. Muitas vezes os pacientes não relatam em consultas alterações do olfato, devendo essa ser investigada, haja vista sua associação com doenças degenerativas do SNC.

A patologia da DP iniciaria no núcleo olfatório anterior e no bulbo olfatório. Estudos mostraram uma denervação de neurônios dopaminérgicos mais acentuados em pacientes com hiposmia do que comparado a pacientes sem hiposmia (GODOY et al., 2015; CAVACO et al., 2015). Em um estudo com oitenta e quatro participantes (entre pacientes com DG e portadores de mutação no *GBA1*) que avaliou pródromos da DP a hiposmia foi tido como o marcador prodrômico mais precoce e sensível (BEAVAN et al., 2015). Não há relatos de hiposmia em pacientes com DG sem DP ou como efeito colateral do tratamento para DG (McNEILL et al., 2012). A hiposmia também nem sempre



constitui um sintoma pré-motor de DP haja vista que em coorte de parentes de primeiro grau de pacientes com DP com hiposmia apenas 10% desenvolveram DP no seguimento (McNEILL et al., 2012).

Em um estudo sobre validação dos testes para SPM de DP da *Movement Disorder Society* no Canadá em que foram avaliados hiposmia, constipação, sonolência, hipotensão ortostática, disfunção erétil, depressão, disfunção urinária e motora foi encontrado sensibilidade de 81,3% e especificidade de 67,9% no surgimento de DP em seguimento de 4 anos. Os critérios foram considerados independentes entre si (FERESHTEHNEJAD et al., 2017). Em outro estudo de 2012 foi estabelecido a sensibilidade e especificidade de apenas uma pergunta para avaliação de distúrbios do sono REM em pacientes já diagnosticados com esse distúrbio em polissonografia. Essa simples pergunta tem sensibilidade e especificidade de respectivamente 92,2% e 87,7% (RONALD B. POSTUMA et al., 2012).

Um estudo transversal italiano com 21 pacientes com DG e familiares encontrou a incidência de 42% de SPM de DP que poderiam representar pródromos dessa doença. No estudo a incidência de DP foi aumentada em familiares porém o estudo não especifica a quantidade (I. TREZZI et al., 2017). Outro estudo alemão comparando 40 pacientes com DP (20 com mutações do *GBA1* e 20 sem) concluiu que os heterozigotos para a mutação tinham maior chance de ter demência, distúrbios neuropsicológicos e disfunção autonômica (SIDRANSKY; LOPEZ 2012). Pacientes heterozigotos para mutações no *GBA1* também possuem maior frequência de anormalidades retinianas, como afinamento, conforme avaliado por Tomografia de Coerência Óptica (McNEILL et al., 2013).

Haja vista os diversos SPM da DP os estudos apresentados mostram que a avaliação global desses sintomas pode aumentar a especificidade do teste de investigação para a DP em um contexto de ambulatório. Tal medida é de extrema importância para pacientes com DG pelo risco 20 vezes de desenvolvimento de DP (KARIMI-MOGHADAM et al., 2018).

## **CAPITULO 5**

### **2.6 Biomarcadores e Implicações da Associação entre as Doenças nos Pacientes**

O conceito de biomarcador segundo o *The National Institute of Health* é “uma característica que é objetivamente medida e avaliada como um indicador de um processo biológico normal, de um processo biológico patogênico ou de uma resposta farmacológica a uma intervenção terapêutica” (STRIMBU; TAVEL 2010). O desenvolvimento de biomarcadores não somente ajuda a comunidade científica a identificar populações de risco mas também auxilia no diagnóstico clínico. Os biomarcadores também constituem ferramentas para monitorizar progressão da doença, o que pode contribuir para uma abordagem terapêutica personalizada do futuro.

A prevalência da DP é esperada para dobrar dentro das próximas duas décadas devido ao aumento da expectativa de vida da população. A DP tem surgido também como um fardo sócio-econômico, e um desafio para as políticas públicas de saúde. De forma geral, não há biomarcadores para marcar a progressão da DP, os estudos atuais têm focado em demonstrar o acúmulo de  $\alpha$ SIN em fluidos corporais como fluido cérebro espinhal, saliva e sangue (KARIMI-MOGHADAM et al., 2018). Os resultados de tais estudos se mostram contraditórios. Atualmente acredita-se não ser realista o uso de um único biomarcador como critério tanto de diagnóstico quanto de progressão da doença, sendo um grupo de biomarcadores a melhor escolha (SAUERBIER et al., 2016; KARIMI-MOGHADAM et al., 2018). Considerando os biomarcadores como sendo categorizados em 4 principais subgrupos: clínicos (sintomas pré-motores) , bioquímicos (biópsias, demonstração de acúmulo de  $\alpha$ SIN no sangue, no LCR, etc.), genéticos (mutações nos genes *GBA1*, *PINK1*, *LRKK2*,...) e de imagem (tomografia com emissão de pósitron, sonografia transcraniana,...) uma combinação de mais de um parece ser uma alternativa para o futuro (DELENCLOS et al., 2016).

Atualmente, o uso de drogas dopaminérgicas visando a melhora dos sintomas motores mostra-se uma estratégia limitada haja vista que possuem pouco efeito nos SPM e apresentam efeitos colaterais como discinesias, movimentos coreiformes, distônicos e outros movimentos involuntários. Não há evidência de que nenhum tratamento atual para DG ajude a reduzir o risco para DP. Da mesma forma, não há evidências de que tratamentos para DP deveriam ser adaptados diferentemente para pacientes com DG (McNEILL et al., 2012). O aumento de atividade enzimática no SNC de um modelo animal transgênico com genótipo de DG e fenótipo de forma neuropática mostrou a diminuição da agregação de  $\alpha$ SIN e dos déficits funcionais. Dados pré-clínicos de

estudos usando chaperonas para DG em modelos de ratos, também relataram diminuição da acumulação de  $\alpha$ SIN do SNC (STANDAERT; GELDMACHER 2016).

A TRE é usada para controle dos sintomas viscerais e hematológicos pois não cruza a BHE e não afetando as manifestações neurológicas da DG. A TRS também não têm mostrado efeito sobre o parkinsonismo: em estudo com o uso de miglustate em 2 pacientes com DG e DP concomitantes não foi documentado efeito na progressão do parkinsonismo nesses pacientes (SIDRANSKY; LOPEZ 2012).

A estratégia terapêutica mais importante atualmente seria um tratamento que pudesse prevenir, desacelerar ou reverter a degeneração neural causada pela DP. Haja vista o marcante papel da  $\alpha$ SIN em tal processo, potenciais tratamentos poderiam incluir: agentes que reduzam a expressão de  $\alpha$ SIN *wild type*, medicamentos que promovam a aumento de chaperonas endógenas e que promovam o redobramento ou o *clearance* de proteínas anormais, agentes ou alvos imunes que removam oligômeros ou agregados tóxicos de  $\alpha$ SIN, entre outros (SCHAPIRA, 2015).

De posse dessas informações, tem de ser discutido como a informação do risco aumentado de DP em pacientes com DG deve ser comunicada haja vista que na maioria dos casos de DG os pais do probando são heterozigotos para uma mutação em *GBA1* e que a DP é tão estigmatizada por não ter tratamento curativo.

O aconselhamento genético é o processo de oferecer a famílias e indivíduos informações sobre a natureza, o padrão de herança e implicações da desordem genética com vistas a ajudá-los a fazer decisões pessoais e médicas com maior embasamento. O relato de incidência de DP e seus sintomas ocasionados pela mutação do *GBA1* pode ser fonte de grande preocupação para pacientes com DG e suas famílias. Avaliação clínica, histórico detalhado e evidência de sintomas de DP ou dificuldades cognitivas devem ser investigadas mais a fundo. Quando a patofisiologia por trás da doença for descoberta e drogas neuroprotetoras se tornarem disponíveis a identificação precoce desses fatores de risco se tornará importante. Em um estudo sobre aconselhamento genético com população de judeus Ashkenazi (potenciais heterozigotos para mutações do *GBA1* devido a dados epidemiológicos) os participantes foram triados para mutação do *GBA1*. Dos 75 participantes 86,7% acreditavam que os pacientes deveriam ser informados sobre o risco de DP antes do screening para portadores de mutação do *GBA1*. Destes também 93,3%

responderam que o conhecimento prévio do risco não teria afetado a decisão de ter feito o screening (MULHERN et al., 2018).

O aconselhamento genético para DP em DG mostra-se complicado. Muitos pacientes com DG e portadores de mutação do *GBA1* nunca desenvolverão DP. Porém acreditamos que desde as primeiras consultas os pacientes e familiares devem ser informados sobre o risco aumentado para que, a partir desse conhecimento tenham maior conhecimento sobre sua patologia. Nossas recomendações encontram-se resumidas na figura 6.

**ACONSELHAMENTO GENÉTICO**

Antes da triagem para mutações do *GBA1* deixar claro os seguintes aspectos:

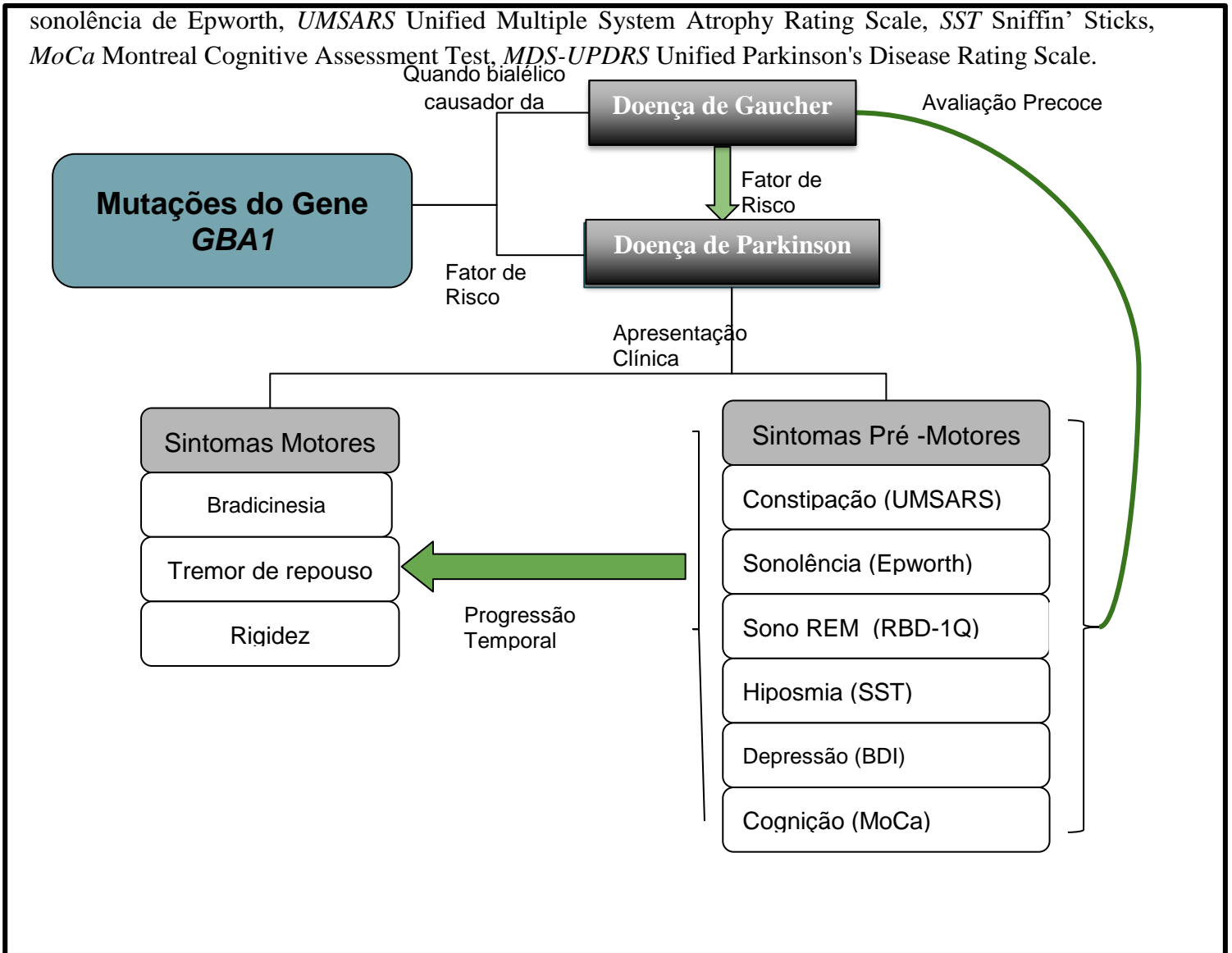
- Na maioria dos casos de DG os pais do probando são heterozigotos;
- Os heterozigotos são assintomáticos e não estão em risco de desenvolverem a doença a DG;
- Portadores de mutação do *GBA1* possuem um risco aumentado de aproximadamente 20 vezes, em relação à população geral, de desenvolver DP.
- Alguns pacientes ou familiares nunca desenvolverão DP.
- Não há tratamento que previna a progressão da DP.
- A DP possui uma progressão sintomática de SPM que podem anteceder os sintomas clássicos de DP.

**Figura 6** :Resumo das informações sobre risco de Doença de Parkinson em pacientes e familiares de pacientes com Doença de Gaucher.*DG* Doença de Gaucher, *DP* Doença de Parkinson.

### 3. MARCO CONCEITUAL:

A mutação do gene *GBA1* constitui quando em heterozigose o principal fator de risco para Doença de Parkinson. A Doença de Parkinson possui uma progressão temporal de sintomas que vão de pré-motores até os sintomas motores clássicos. Tanto os sintomas pré-motores, quanto os sintomas motores possuem escalas validadas para sua avaliação.

**Figura 7:** Marco conceitual do estudo. *BDI* Inventário de depressão de Beck, *Epworth* Escala de sonolência de Epworth, *UMSARS* Unified Multiple System Atrophy Rating Scale, *SST* Sniffin' Sticks, *MoCa* Montreal Cognitive Assessment Test, *MDS-UPDRS* Unified Parkinson's Disease Rating Scale.



#### 4. JUSTIFICATIVA

Pacientes com DG apresentam risco aumentado de até 20 vezes para DP haja vista a presença de mutação no gene *GBI*. Os sinais e sintomas pré-motores da DP que incluem, por exemplo, hiposmia, depressão, sonolência e disfunção autonômica possuem sensibilidade 81,3% e especificidade de 67,9% no surgimento de DP em seguimento de 4 anos (FERESHTEHNEJAD et al., 2017). Não há ainda um único biomarcador (seja ele clínico, laboratorial ou de imagem) para a fase pré-clínica da DP sendo atualmente o uso de um grupo de marcadores a melhor escolha para aumentar a sensibilidade da avaliação.

O presente projeto apresenta importância ao permitir uma avaliação ampla da frequência desses sinais e sintomas em pacientes com DG e identificar biomarcadores clínicos (os sintomas não motores) em um contexto de seguimento longitudinal desses pacientes como é feito do Serviço de Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

## **5. OBJETIVOS**

### **5.1 OBJETIVOS GERAL:**

- Avaliar a prevalência de sinais e sintomas pré-motores da DP ( hiposmia, constipação, alteração do sono REM, sonolência diurna, depressão e alteração cognitiva) em pacientes com DG sem diagnóstico prévio de DP ou demência.

## 5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Correlacionar a frequência de sinais e sintomas pré-motores da DP com:

- a) Exames laboratoriais de controle atuais (hemoglobina, plaquetas e quitotriosidase);
- b) Escores de gravidade da DG usados de rotina nas consultas como o SSI (Zimran Severity Score Index) e o DS3 (Disease Severity Score);
- c) Dados clínicos de tempo de tratamento, idade e idade ao diagnóstico;
- d) A presença da variante 3'-UTR SNP (rs708606).

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aharon-Peretz J, Rosenbaum H, Gershoni-Baruch R. Mutations in the glucocerebrosidase gene and Parkinson's disease in Ashkenazi Jews. *N Engl J Med.* 2004; 351:1972–1977. [PubMed: 15525722]

Anheim, M., Elbaz, A., Lesage, S., Durr, A., Condroyer, C., Viallet, F., et al. (2012). Penetrance of parkinson disease in glucocerebrosidase gene mutation carriers. *Neurology*, 78(6), 417-420. doi:10.1212/WNL.0b013e318245f476 [doi]

Bae, E. J., Yang, N. Y., Song, M., Lee, C. S., Lee, J. S., Jung, B. C., et al. (2014). Glucocerebrosidase depletion enhances cell-to-cell transmission of alpha-synuclein. *Nature Communications*, 5, 4755. doi:10.1038/ncomms5755 [doi]

Balestrino, R., & Schapira, A. H. V. (2018). Glucocerebrosidase and parkinson disease: Molecular, clinical, and therapeutic implications. *The Neuroscientist : A Review ournal Bringing Neurobiology, Neurology and Psychiatry*, 24(5), 540-559. doi:10.1177/1073858417748875 [doi]

Beavan, M., McNeill, A., Proukakis, C., Hughes, D. A., Mehta, A., & Schapira, A. H. (2015). Evolution of prodromal clinical markers of parkinson disease in a GBA mutation-positive cohort. *JAMA Neurology*, 72(2), 201-208

Barkhuizen, M., Anderson, D. G., & Grobler, A. F. (2016). Advances in GBA-associated parkinson's disease--pathology, presentation and therapies. *Neurochemistry International*, 93, 6-25.

Burrow, Thomas A, and Gregory A Grabowski. "Velaglucerase Alfa in the Treatment of Gaucher Disease Type 1." *Clinical investigation 1.2* (2011): 285–293. Print.

Bultron G, Kacena K, Pearson D, et al. The risk of Parkinson's disease in type 1 Gaucher disease. *J Inherit Metab Dis* 2010; 33(2):167e73.

Cavaco, S., Goncalves, A., Mendes, A., Vila-Cha, N., Moreira, I., Fernandes, J., et al. (2015). Abnormal olfaction in parkinson's disease is related to faster disease progression. *Behavioural Neurology*, 2015, 976589.

Chaves, R. G., Pereira Lda, V., de Araujo, F. T., Rozenberg, R., Carvalho, M. D., Coelho, J. C., et al. (2015). Consanguinity and founder effect for gaucher disease mutation G377S



in a population from tabuleiro do norte, northeastern brazil. *Clinical Genetics*, 88(4), 391-395. doi:10.1111/cge.12515 [doi]

Cox, T. M., Rosenbloom, B. E., & Barker, R. A. (2015). Gaucher disease and comorbidities: B-cell malignancy and parkinsonism. *American Journal of Hematology*, 90 Suppl 1, S25-8.

C.Schulte, I. Liepelt-Scarfone, C.E Hagen, A.K Hauser, K. Brockmann, et al. (2016). Coding and non-coding glucocerebrosidase variants have an impact on cognitive decline in Parkinson's disease [abstract]. *Mov Disord*. 2016; 31 (suppl 2).

Delenclos, M., Jones, D. R., McLean, P. J., & Uitti, R. J. (2016). Biomarkers in parkinson's disease: Advances and strategies. *Parkinsonism & Related Disorders*, 22 Suppl 1, S106-10. doi:10.1016/j.parkreldis.2015.09.048 [doi]

Du, S., Ou, H., Cui, R., Jiang, N., Zhang, M., Li, X., et al. (2018). Delivery of glucosylceramidase beta gene using AAV9 vector therapy as a treatment strategy in mouse models of gaucher disease. *Human Gene Therapy*, doi:10.1089/hum.2018.072 [doi]

Elstein D, Altarescu G, Maayan H, et al. Booster-effect with velaglucerase alfa in patients with Gaucher disease switched from long-term imiglucerase therapy: early Access Program results from Jerusalem. *Blood Cells Mol Dis*. 2012;48(1):45–50. doi: 10.1016/j.bcmd.2011.09.009.

Elstein, D., Alcalay, R., & Zimran, A. (2015). The emergence of parkinson disease among patients with gaucher disease. *Best Practice & Research.Clinical Endocrinology & Metabolism*, 29(2), 249-259. doi:10.1016/j.beem.2014.08.007 [doi]

E. S. Faganaand. L. Pihlstrøm Genetic risk factors for cognitive decline in Parkinson's disease:a review of the literature. *Eur J Neurol*. 2017 Apr;24(4):561-e20. doi: 10.1111

Farlow J, Pankratz ND, Wojcieszek J, et al. Parkinson Disease Overview. 2004 May 25 [Updated 2014 Feb 27]. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2018.Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1223/>

Fereshtehnejad, S. M., Montplaisir, J. Y., Pelletier, A., Gagnon, J. F., Berg, D., & Postuma, R. B. (2017). Validation of the MDS research criteria for prodromal parkinson's disease: Longitudinal assessment in a REM sleep behavior disorder (RBD) cohort. *Movement Disorders : Official Journal of the Movement Disorder Society*, 32(6), 865-873.

Futerman, Anthony and Ari Zimran. Livro - Gaucher disease[DNLM: 1. Gaucher Disease. WD 205.5.L5 G265 2006]

Gatto, E. M., Etcheverry, J. L., Sanguinetti, A., Cesarini, M., Fernandez Escobar, N., & Drelichman, G. (2016). Prodromal clinical markers of parkinson disease in gaucher disease individuals. *European Neurology*, 76(1-2), 19-21. doi:10.1159/000447510 [doi]

Giugliani, R., Vairo, F., Kubaski, F., Poswar, F., Riegel, M., Baldo, G., et al. (2018). Neurological manifestations of lysosomal disorders and emerging therapies targeting the CNS. *The Lancet.Child & Adolescent Health*, 2(1), 56-68. doi:S2352-4642(17)30087-1

Godoy, M. D., Voegels, R. L., Pinna Fde, R., Imamura, R., & Farfel, J. M. (2015). Olfaction in neurologic and neurodegenerative diseases: A literature review. *International Archives of Otorhinolaryngology*, 19(2), 176-179.

Harvey, Richard A; Denise R Ferrier. *Bioquimica Ilustrada* (2015). Artmed Editora.

I. Trezzi, E. Monfrini, G. Buongarzone, E. Cassinerio, I. Motta, F. Nascimbeni, F. Carubbi et al. Parkinsonian Features in a Cohort of Gaucher Disease (GD) Patients and Relatives [abstract]. *Mov. Disord.* 2017; 32 (suppl 2).

Kaushik, Susmita, and Ana Maria Cuervo. "Chaperone-Mediated Autophagy: A Unique Way to Enter the Lysosome World." *Trends in cell biology* 22.8 (2012): 407–417. PMC. Web. 19 Oct. 2018.

Karimi-Moghadam, A., Charsouei, S., Bell, B., & Jabalameli, M. R. (2018). Parkinson disease from mendelian forms to genetic susceptibility: New molecular insights into the neurodegeneration process. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 38(6), 1153-1178. doi:10.1007/s10571-018-0587-4 [doi]

Leidenheimer, N. J. (2018). Pharmacological chaperones: Beyond conformational disorders. *Handbook of Experimental Pharmacology*, 245, 135-153. doi:10.1007/164\_2017\_68 [doi]

Lopez, G., Kim, J., Wiggs, E., Cintron, D., Groden, C., Tayebi, N., et al. (2016). Clinical course and prognosis in patients with gaucher disease and parkinsonism. *Neurology.Genetics*, 2(2), e57. doi:10.1212/NXG.0000000000000057 [doi]

Lwin A, Orvisky E, Goker-Alpan O, LaMarca ME, Sidransky E. Glucocerebrosidase mutations in subjects with parkinsonism. *Mol Genet Metab*. 2004; 81:70–73. [PubMed: 14728994]

McNeill, A., Duran, R., Proukakis, C., Bras, J., Hughes, D., Mehta, A., et al. (2012). Hyposmia and cognitive impairment in gaucher disease patients and carriers. *Movement Disorders : Official Journal of the Movement Disorder Society*, 27(4), 526-532.

McNeill, A., Roberti, G., Lascaratos, G., Hughes, D., Mehta, A., Garway-Heath, D. F., et al. (2013). Retinal thinning in gaucher disease patients and carriers: Results of a pilot study. *Molecular Genetics and Metabolism*, 109(2), 221-223.

Migdalska-Richards, A., & Schapira, A. H. (2016). The relationship between glucocerebrosidase mutations and parkinson disease. *Journal of Neurochemistry*, 139 Suppl 1, 77-90.

Mulhern, M., Bier, L., Alcalay, R. N., & Balwani, M. (2018). Patients' opinions on genetic counseling on the increased risk of parkinson disease among gaucher disease carriers. *Journal of Genetic Counseling*, 27(3), 675-680. doi:10.1007/s10897-017-0161-0 [doi]

Narita, A., Shirai, K., Itamura, S., Matsuda, A., Ishihara, A., Matsushita, K., et al. (2016). Ambroxol chaperone therapy for neuronopathic gaucher disease: A pilot study. *Annals of Clinical and Translational Neurology*, 3(3), 200-215. doi:10.1002/acn3.292

Noyce AJ, Lees AJ, Schrag A The prediagnostic phase of Parkinson's disease *J Neurol Neurosurg Psychiatry* Published Online First: 11 January 2016. doi: 10.1136/jnnp-2015-311890

Pastores GM, Hughes DA. Gaucher Disease. 2000 Jul 27 [Updated 2018 Jun 21]. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2018.

Pitcairn, C., Wani, W. Y., & Mazzulli, J. R. (2018). Dysregulation of the autophagic-lysosomal pathway in gaucher and parkinson's disease. *Neurobiology of Disease*, doi:S0969-9961(18)30074-3

Puschmann, A., Bhidayasiri, R., & Weiner, W. J. (2012). Synucleinopathies from bench to bedside. *Parkinsonism & Related Disorders*, 18 Suppl 1, S24-7. doi:10.1016/S1353-8020(11)70010-4 [doi]

Ronald B. Postuma, Isabelle Arnulf, Birgit Hogl, Alex Iranzo, Tomoyuki Miyamoto, et al. (2012). A Single-Question Screen for Rapid Eye Movement Sleep Behavior Disorder: A Multicenter Validation Study. *Mov Disord*. 2012 Jun; 27(7): 913–916.

Sauerbier, A., Qamar, M. A., Rajah, T., & Chaudhuri, K. R. (2016). New concepts in the pathogenesis and presentation of parkinson's disease. *Clinical Medicine (London, England)*, 16(4), 365-370. doi:10.7861/clinmedicine.16-4-365 [doi]

Schapira, A. H. (2015). Glucocerebrosidase and parkinson disease: Recent advances. *Molecular and Cellular Neurosciences*, 66(Pt A), 37-42. doi:10.1016/j.mcn.2015.03.013 [doi]

Sardi, S. P., Cheng, S. H., & Shihabuddin, L. S. (2015). Gaucher-related synucleinopathies: The examination of sporadic neurodegeneration from a rare (disease) angle. *Progress in Neurobiology*, 125, 47-62.

Sidransky, E. (2004). *Gaucher disease: Complexity in a “simple” disorder* doi:https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2004.08.015

Sidransky, E., & Lopez, G. (2012). The link between the GBA gene and parkinsonism. *The Lancet.Neurology*, 11(11), 986-998.

Standaert DG1, Geldmacher DS1. Glucocerebrosidase, Parkinson disease, and the "senses and intellect". *Ann Neurol*. 2016 Nov;80(5):660-661. doi: 10.1002/ana.24808.

Stirnemann, J., Belmatoug, N., Camou, F., Serratrice, C., Froissart, R., Caillaud, C., et al. (2017). A review of gaucher disease pathophysiology, clinical presentation and treatments. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(2), 10.3390/ijms18020441.

Strimbu K, Tavel JA. What are Biomarkers? *Current opinion in HIV and AIDS*. 2010;5(6):463-466. doi:10.1097/COH.0b013e32833ed177.

Swallow, D. M., Lawton, M. A., Grosset, K. A., Malek, N., Smith, C. R., Bajaj, N. P., et al. (2016). Variation in recent onset parkinson's disease: Implications for prodromal detection. *Journal of Parkinson's Disease*, 6(2), 289-300.

Tamargo, R. J., Velayati, A., Goldin, E., & Sidransky, E. (2012). The role of saposin C in gaucher disease. *Molecular Genetics and Metabolism*, 106(3), 257-263. doi:10.1016/j.ymgme.2012.04.024 [doi]

Tommaso Beccari et al. (2011) Role of Lysosomal Enzymes in Parkinson's Disease: Lessons from Gaucher Disease. Chapter of the book: Etiology and Pathophysiology of Parkinson's Disease.

Vairo F, Netto C, Dorneles A, et al. Enzyme Replacement Therapy in a Patient with Gaucher Disease Type III: A Paradigmatic Case Showing Severe Adverse Reactions Started a Long Time After the Beginning of Treatment. *JIMD Reports*. 2013;11:1-6. doi:10.1007/8904\_2013\_214.

Vairo, F., Sperb-Ludwig, F., Wilke, M., Michellin-Tirelli, K., Netto, C., Neto, E. C., et al. (2015). Brain-derived neurotrophic factor expression increases after enzyme replacement therapy in gaucher disease. *Journal of Neuroimmunology*, 278, 190-193. doi:10.1016/j.jneuroim.2014.11.005 [doi]

Weaver Velaglucerase alfa in the treatment of Gaucher disease type 1: an update K Nicole Weaver<sup>1</sup>, Gregory A Grabowski<sup>1</sup> & Thomas A Burrow<sup>\*,1</sup> <sup>1</sup> Cincinnati Children's Hospital Medical

Zimran, A., Altarescu, G., & Elstein, D. (2013). Pilot study using ambroxol as a pharmacological chaperone in type 1 gaucher disease. *Blood Cells, Molecules & Diseases*, 50(2), 134-137. doi:10.1016/j.bcmd.2012.09.006 [doi]

Zimran A, Elstein D (2016) , Gaucher disease and related lysosomal storage diseases In: Kaushansky K, editor; , Lichtman M, editor; , Prchal J, editor. , et al., eds. *Williams Hematology*. 9th ed New York, NY: McGraw-Hill; 2016

## **7. ARTIGO**

### **Evaluation of the frequency of non-motor symptoms of Parkinson's disease in adult patients with Gaucher disease type 1**

Matheus V.M.B. Wilke <sup>1,2</sup>, Alícia D. Dornelles <sup>2</sup>, Artur S. Schuh<sup>1,3</sup>,

Filippo P. Vairo<sup>2,4,5</sup>, Suelen P. Basgalupp<sup>1,10</sup>, Marina Siebert<sup>6,7,10</sup>,  
Tatiele Nalin<sup>2</sup>, Otavio B. Piltcher<sup>8</sup>, Ida V.D. Schwartz<sup>1, 2, 9, 10</sup>

<sup>1</sup> Graduate Program in Medical Sciences, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil;

<sup>2</sup> Medical Genetics Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brazil;

<sup>3</sup> Department of Pharmacology, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil;

<sup>4</sup> Center for Individualized Medicine, Mayo Clinic, Rochester, MN, USA;

<sup>5</sup> Department of Clinical Genomics, Mayo Clinic, Rochester, MN, USA;

<sup>6</sup> Graduate Program in Sciences of Gastroenterology and Hepatology, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil;

<sup>7</sup> Laboratory Research Unit, Experimental Research Center, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, RS, Brazil;

<sup>8</sup> Department of Ophthalmology and Otorhinolaryngology, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brazil;

<sup>9</sup> Department of Genetics, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil;

<sup>10</sup> BRAIN Laboratory, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brazil.

Correspondence to: Matheus V.M.B. Wilke, MD, Medical Genetics Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil. Ramiro Barcelos, 2350 - Santa Cecília, Porto Alegre - RS, 90035-007  
E-mail: mtwilke@gmail.com

Short title: Frequency of non-motor symptoms of Parkinson's disease in Gaucher disease type 1.

Funding Source: Fundo de Incentivo à Pesquisa (FIPE), Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brazil. Project number: 78018217800005327.

Financial Disclosure: The authors have no financial relationships relevant to this article to disclose.

Conflicts of Interest: The authors have no conflicts of interest to disclose.

Intended for the Journal: Molecular Genetics and Metabolism

## ABSTRACT

Gaucher disease (GD) is an inborn error of metabolism caused by deficiency of beta-glucocerebrosidase (GCase). More than 400 mutations of the GCase gene (*GBA1*) have been described. GD is conventionally classified into three clinical forms, on the basis of neurological involvement: type 1 is considered the non-neuropathic form, whereas types 2 and 3 affect the nervous system. Parkinson's disease (PD) is the second most common neurodegenerative condition. The classic motor symptoms of PD may be preceded by

many non-motor symptoms (NMS), which include hyposmia, REM sleep behavior disorder, constipation, cognitive impairment, and depression. Population studies have identified mutations in *GBA1* as the main risk factor for idiopathic PD. The present study sought to evaluate the prevalence of NMS in a cohort of patients with GD type 1 from Southern Brazil. **METHODOLOGY:** This is an observational, cross-sectional study, with a convenience sampling strategy. Cognition was evaluated by the Montreal Cognitive assessment (MoCa), daytime sleepiness by the Epworth Scale, depression by the Beck Inventory, constipation by the Unified Multiple System Atrophy Rating Scale, and REM sleep behavior disorder by the Single-Question Screen; hyposmia was assessed with Sniffin' Sticks. Motor symptoms were assessed with part III of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale. A 3'-UTR SNP (rs708606) of *GBA1* was also assessed. **RESULTS:** Twenty-three patients (female=13; on enzyme replacement therapy=21, substrate reduction therapy=2) with a mean age of  $41.45 \pm 15.3$  years (range, 22-67) were included. Eight patients were heterozygous for the 3'-UTR SNP (rs708606). Fifteen patients (8 over age 40 years) presented at least one NMS; daytime sleepiness was the most frequent (n=10). Two patients (aged 63 and 64, respectively) also presented motor symptoms, probably drug-related. **CONCLUSIONS:** NMS were prevalent in this cohort. We highlight the importance of a multidisciplinary follow-up focusing on earlier diagnosis of PD, especially for patients with GD type 1 over the age of 40.

**Key Words:** Gaucher disease, Parkinson's disease, Non-motor symptoms.

**Abbreviations:** 3'-UTR SNP (rs708606), single nucleotide polymorphism in the three-prime untranslated region (rs708606); BDI, Beck Depression Inventory; ESS, Epworth Sleepiness Scale; GCase, beta-glucocerebrosidase; GD, Gaucher disease; iPD, idiopathic Parkinson disease; MDS-UPDRS III, Part III of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale; MoCa, Montreal Cognitive assessment; NGS, next-generation sequencing; NMS, non-motor symptoms; PD, Parkinson's disease; PSG, polysomnography; RBD-1Q, Single-Question Screen for REM sleep behavior disorder; UMSARS, Unified Multiple System Atrophy Rating Scale.

## INTRODUCTION

Gaucher disease (GD, OMIM 230800) is an inborn error of metabolism caused by deficient activity of the lysosomal enzyme beta-glucocerebrosidase (GCCase). GCCase is



responsible for catalyzing the hydrolysis of glucocerebroside into glucose and ceramide. Its malfunction leads to intracellular accumulation of glucocerebroside in the lysosomes of macrophages, mainly in the spleen, liver, and bone marrow. GD is one of the most common lysosomal disorders, with an estimated worldwide incidence of 1 case per 57,000 live births.<sup>1,2</sup> Three clinical forms of GD are conventionally classified based on the neurological involvement. Type 1 is considered a non-neuropathic form, whereas types 2 and 3 (acute neuronopathic form and subacute neurological form, respectively) both affect the central nervous system.<sup>2</sup> Type 1 GD is especially prevalent in the Ashkenazi population, with an incidence of 1 per 850 live births.<sup>2</sup>

GD is caused by pathogenic variants in both alleles of the GCase gene *GBA1* (OMIM 606463), located at chromosome 1q21. More than 400 mutations in the *GBA1* have been described, with c.1226A>G (N370S) being most commonly found in the general population.<sup>3</sup>

Parkinson's disease (PD) is the second most common neurodegenerative condition, affecting 2% of the population over age 60 years and 4% of the population over age 80.<sup>4</sup> Its etiology is considered multifactorial, involving aging of the brain itself, genetic susceptibility, and environmental factors. The landmark of PD pathogenesis is accumulation of alpha-synuclein. Despite the high prevalence of PD, current treatments are merely symptomatic, with no effect on the neurodegeneration itself.<sup>4,5</sup> The motor symptoms of PD are preceded by a prodromal period of up to 20 years. The so-called non-motor symptoms (NMS) that occur during this prodrome may represent the beginning of the pathological process of PD. There is strong to moderate evidence that hyposmia, REM sleep disorder, daytime drowsiness, constipation, depression, and anxiety are NMS that precede the onset of motor symptoms in PD.<sup>6,7,8</sup>

Population studies have identified *GBA1* mutations as the main risk factor for idiopathic PD (iPD). It is now known that patients with GD have a lifetime relative risk of developing PD 21.4 times greater than that of the overall population; the penetrance of PD in heterozygous carriers of *GBA1* mutations is estimated at 13.7% at the age of 60 and 29.7% at the age of 80.<sup>5,9,10</sup> A small cohort study also suggested that not only mutations in exonic regions but also a single nucleotide polymorphism in the three-prime untranslated region (3'-UTR SNP of *GBA1* rs708606) in the intron-exon boundaries is implicated in the cognitive symptoms of PD.<sup>11</sup>

Within this context, our main objective was to evaluate the prevalence of NMS of PD in a cohort of Brazilian patients with GD type 1. We also correlated the prevalence of these symptoms with some markers of GD severity.

## **MATERIALS AND METHODS**

This is an observational, cross-sectional study. All patients with GD type 1 seen at the Reference Center for Gaucher Disease in Rio Grande do Sul, Brazil, were invited to participate during their routine follow-up visits from March to August 2018. Patients were required to meet the following inclusion criteria: a) GD diagnosis confirmed by low GCase activity in leukocytes or fibroblasts and/or genetic analysis; and b) age 18 years or older. The exclusion criteria were: a) history of parkinsonian manifestations, as previously reported in medical records; b) known diagnosis of PD; and c) pregnancy. Figure 1 shows a flow diagram of patient enrollment.

Patients who agreed to participate in the study were evaluated by a single doctor (MW) who collected clinical data, such as family history of PD and the presence of parkinsonian manifestations. Motor symptoms of PD were assessed with part III of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS III). All patients who scored

higher than 0 were referred to a neurologist for further evaluation. Patients were also asked to complete self-report questionnaires to evaluate the following NMS of PD: cognition, daytime sleepiness, depression, constipation, and REM sleep behavior disorder, evaluated respectively by the Montreal Cognitive assessment (MoCa, cutoff for cognitive impairment  $<26$ ), the Epworth Sleepiness Scale (ESS, cutoff point  $>10$ ), the Beck Depression Inventory (BDI) (cutoff for depression  $>14$ ), the subscale of the Unified Multiple System Atrophy Rating Scale (UMSARS, cutoff for constipation  $\geq 2$ ) and the validated Single-Question Screen (RBD-1Q). If the patient answered “yes” to the RBD-1Q question, further investigation with polysomnography (PSG) was offered.

Hyposmia was assessed with the 12-item Sniffin’ Sticks smell identification test (cut off for hyposmia  $<9/12$ ). Patients who scored below the cutoff were referred to an otorhinolaryngologist to rule out anatomic defects of the airway.

Data on duration of treatment, GD severity, demographic and epidemiological variables, physical and neurologic examination, and laboratory parameters were obtained by a review of medical records. All patients seen at the Reference Center for Gaucher Disease have the *GBA1* gene genotyped through next-generation sequencing (NGS); presence of the 3'-UTR SNP (rs708606), already described in the literature, was assessed in the Integrative Genomics Viewer (IGV) software. Patients with the genotype C/T were considered heterozygous for the single nucleotide polymorphism and patients with C/C were considered as having both alleles wild type.

This study was approved by the relevant institutional ethics committee.

## **Statistical analysis**

Numerical variables with normal distribution were expressed as means and standard deviations. For tests where at least 15% of patients had abnormal results, both groups of patients were compared regarding clinical and laboratory findings (hemoglobin, platelet, chitotriosidase, GD severity scores, duration of treatment, current age, age at diagnosis).

The difference between groups was assessed with the Mann–Whitney *U* test for independent variables. The level of statistical significance was set at 5% for all analyses. Statistical calculations were carried out in PASW Statistics for Windows, Version 18.0.

## RESULTS

Twenty-three patients were included in this study (Table 1). The mean age of the sample was  $41.4 \pm 15.3$  years (range, 22–67 years) with a mean treatment duration of  $11.5 \pm 6.0$  years (range, 3–24 years). The mean age at onset of GD symptoms was  $16.7 \pm 14.1$  (range, 2–48 years). A family history of PD was reported by two patients, in second-degree relatives, but these individuals were not available for clinical evaluation. The majority of patients ( $n=22/23$ ) had at least one N370S allele, with the most common genotype being N370S/RecNciI ( $n=10/23$ ), followed by N370S/L444P ( $n=7/23$ ). Eight patients were heterozygous for the 3'-UTR SNP in *GBA1* (rs708606); of these, six had at least one NMS of PD. There was no significant association between this finding and clinical or laboratory parameters.

Eight patients did not have any NMS (mean age=35.6 years), five had one NMS (mean age=42.6 years), six had two NMS (mean age=42.8 years), and four patients presented with three or more NMS (mean age=59.3 years). REM sleep behavior disorder was detected in four patients. The only patient (patient #8 ) we had the result of the PSG by the end of this article presented cervical myoclonus in REM sleep which was considered as a variant of normality. Depression was identified in five others, only one

of whom was on antidepressants. Seven patients had a MoCa score <26; these had a mean educational attainment of  $5.0 \pm 1.2$  years, versus  $10.5 \pm 3.6$  years in the group with MoCa  $\geq 26$ .

A lower MoCa score was associated with greater GD severity as measured by the SSI (Zimran Severity Score Index, mean score  $5.3 \pm 3.6$  in the MoCa <26 group vs.  $1.6 \pm 1.7$  in the MoCa  $\geq 26$  group,  $p=0.016$ ) and DS3 scores (mean score  $2.7 \pm 2.1$  in the MoCa <26 group vs.  $0.7 \pm 0.9$  in the MoCa  $\geq 26$  group,  $p=0.013$ ), as well as with older age at diagnosis (mean age,  $42 \pm 17$  years in the MoCa <26 group vs.  $24 \pm 16$  years in the MoCa  $\geq 26$  group,  $p=0.028$ ). Constipation was identified in three patients, and daytime sleepiness in 10 (only one patient in this group had a BDI score >14). Neither daytime sleepiness nor constipation correlated significantly with any clinical or laboratory parameters (data not shown).

Two patients (#20 and #21) exhibited motor symptoms, and were also evaluated by a neurologist. Patient #21 had bradykinesia and loss of automatic movements, confirmed by the specialist, but no NMS. Patient #20 had bradykinesia and altered cognition and daytime sleepiness scores. However, both patients were on amlodipine, a calcium channel blocker that can jeopardize assessment of these motor symptoms, and will receive further evaluation.

The Sniffin' Sticks smell identification test was abnormal in two patients (scores 6/12 and 4/12). Both clinical examination and fiberoptic nasopharyngoscopy were performed by an otorhinolaryngologist. Chronic sinusitis and atopic epithelium were identified on physical examination of patient #19, and neither patient complained of reduced smell perception. The complete results of evaluation are provided in Table 2.

## **DISCUSSION**

In this study, it was found a high prevalence of NMS of PD among adult treated GD type 1 patients. The most common NMS was daytime sleepiness, followed by cognitive impairment.

In a series of five patients with concurrent GD and PD (GD-PD), the average age of PD onset was 53.8 years, and three patients presented with PD before the age of 50, which is earlier than what was found in other studies.<sup>14</sup> Some of our patients exhibited NMS, which could represent the beginning of the parkinsonian pathological process. There is no consensus as to whether the presence of these symptoms alone, especially when detected on cross-sectional evaluation, could indicate the start of a neurodegenerative disease. According to a 2-year follow-up study of GD patients and controls, many NMS worsened in the GD group at 2 years from baseline, demonstrating the importance of longitudinal follow-up.<sup>10</sup>

Cognition was altered in 7 of 23 patients in our sample, and we found a negative correlation between MoCa <26 and older age at diagnosis. Low-normal range of vitamin B12 was already associated PD and decreased cognition but only 1/7 patients with Moca <26 had low vitamin B12 levels.<sup>15</sup>

GD-PD is characterized by a greater severity of cognitive deficits than in iPD.<sup>16</sup> In one study (n=355) which compared patients with iPD, GD-PD, and PD with mutated *GBA1*, cognitive, motor, olfactory, and psychiatric symptoms were more severe in those with GD-PD and those with severe *GBA1* mutations than in those with iPD.<sup>17</sup> Our study, however, was not designed for statistical power, but rather to generate a hypothesis. A study with the objective to characterize the cognitive profile of GD type 1 patients (n=86) using computerised cognitive tests showed mild cognitive deficits when compared to healthy age-matched subjects.<sup>18</sup> In this study, older patients scored worse on these scores

than younger patients and we also regard the findings that our patients with MoCa < 26 were older at diagnosis as confounding factor.

Hyposmia was found in two of our patients, and both were referred to an otorhinolaryngologist for further assessment. In one of the patients, hyposmia was probably due to untreated chronic rhinitis. In a study with 84 participants (among patients with GD, controls and heterozygous for *GBA1* mutation) that evaluated NMS, hyposmia was considered the most early and sensitive prodromal marker of PD.<sup>6, 10</sup> There are no reports of hyposmia in patients with GD without PD, nor as a side effect of GD treatment.<sup>8</sup> Evaluation of the sense of smell, whether through a directed history-taking or through specific smell identification tests, is not performed routinely in clinical practice. We believe patients should be assessed for hyposmia more regularly, not only because smell identification allows better perception of taste and even identification of dangerous substances but also for its importance as a biomarker of PD.

The RBQ-1 for REM sleep disorder has a sensitivity and specificity of 92.2% and 87.7%, respectively.<sup>19</sup> One prospective cohort study performed in individuals with REM sleep behavior disorder showed that this prodromal criterion alone had 81.3% sensitivity and 67.9% specificity for conversion to PD/dementia with Lewy bodies at 4-year follow-up.<sup>20</sup> The BDI and UMSARS have also been validated to evaluate depression and constipation, respectively, and are widely used in clinical practice. In an Argentine cohort of 26 GD type 1 patients (mean age  $22.3 \pm 13.1$ , range 6-52 years), with the objective to analyze the occurrence of prodromal markers of PD using questionnaires performed ad hoc, depression and constipation were found in three and two cases respectively, a rate similar to that of our sample.<sup>7</sup> No patient of the Argentinean cohort presented motor symptoms perhaps due to the fact that this cohort was younger than ours.

All patients in our cohort were tested for the 3'-UTR SNP (rs708606), which was associated with cognitive decline in a study of 426 patients with PD which compared mutation status with Brief Test of Attention scores.<sup>11</sup> Eight of our 23 patients were heterozygous for this SNP, with no significant association with clinical or laboratory parameters.

Two of 23 patients in our sample were also heterozygous for the complex allele L444P+E326K. There is evidence to consider the E326K variant as a risk factor for PD: it is significantly more frequent in PD patients compared to controls and has also been found to predict a more rapid progression of both cognitive dysfunction and motor symptoms in patients with PD when present.<sup>12,13</sup> Neither carrier of this variant had any abnormalities on cognitive assessment in our study. As more and more studies are showing that *GBA1* variants influence heterogeneity in PD symptom progression, close follow-up is very important in this setting, especially for patients who harbor more than one pathogenic mutation.

Currently, there is no treatment that can stop the progression of PD. Diagnosis of this disease can represent a major burden to both patients and their families. There is little information in the literature about genetic counseling in populations at risk of PD; in one study of patients' opinions concerning genetic counseling, 86.7% of the population at risk for PD believed that patients should be informed of this risk prior to screening for *GBA1* mutation carriers. Of these, 93.3% answered that prior knowledge of this risk would not have affected the decision to undergo screening.<sup>21</sup>

In this context, we recommend periodic complete neurological evaluation and assessment for NMS and their progression in GD patients over age 40 years. In the absence of any validated instruments to test for NMS, a targeted history focused on neurological symptoms and signs should be taken. Questions about personal or family



history of PD should also be part of the baseline assessment of patients with GD. A comprehensive approach with a multidisciplinary team should be preferred, and patients should be referred to a specialist for evaluation whenever neurological complaints arise.

## **CONCLUSIONS**

Many NMS of PD are known. However, the sensitivity and specificity of screening for these symptoms varies widely, and there is no single biomarker of PD that can predict outcomes. We believe that both patients with GD and heterozygous carriers of *GBA1* mutations should be aware of the increased risk of PD, and that patients over the age of 40 should be offered a multidisciplinary follow-up strategy. Such follow-up should include neurological examination and administration of multiple validated instruments to screen for NMS of PD, thus increasing sensitivity and allowing earlier detection of these manifestations.

## **ACKNOWLEDGMENTS**

We are grateful to the Graduate Program in Medicine: Medical Sciences at the School of Medicine, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS); the staff at the State Referral Center for Diagnosis, Monitoring, and Treatment of Patients with Gaucher Disease in Rio Grande do Sul, Brazil; and the Hospital de Clínicas de Porto Alegre Research and Event Incentive Fund (FIPE/HCPA) for financial support.

## REFERENCES

1. Vairo, F., Sperb-Ludwig, F., Wilke, M., Michellin-Tirelli, K., Netto, C., Neto, E. C., et al. (2015). Brain-derived neurotrophic factor expression increases after enzyme replacement therapy in Gaucher disease. *Journal of Neuroimmunology*, 278, 190-193. doi:10.1016/j.jneuroim.2014.11.005 [doi]
2. Pastores GM, Hughes DA. Gaucher Disease. 2000 Jul 27 [Updated 2018 Jun 21]. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2018.
3. Cox, T. M., Rosenbloom, B. E., & Barker, R. A. (2015). Gaucher disease and comorbidities: B-cell malignancy and parkinsonism. *American Journal of Hematology*, 90 Suppl 1, S25-8.
4. Beccari T et al. (2011). Role of Lysosomal Enzymes in Parkinson's Disease: Lessons from Gaucher Disease. In: Rana AQ (ed.). *Etiology and Pathophysiology of Parkinson's Disease*. London: IntechOpen.
5. Elstein, D., Alcalay, R., & Zimran, A. (2015). The emergence of Parkinson disease among patients with Gaucher disease. *Best Practice & Research. Clinical Endocrinology & Metabolism*, 29(2), 249-259. doi:10.1016/j.beem.2014.08.007
6. Sauerbier, A., Qamar, M. A., Rajah, T., & Chaudhuri, K. R. (2016). New concepts in the pathogenesis and presentation of Parkinson's disease. *Clinical Medicine (London, England)*, 16(4), 365-370. doi:10.7861/clinmedicine.16-4-365
7. Gatto, E. M., Etcheverry, J. L., Sanguinetti, A., Cesarini, M., Fernandez Escobar, N., & Drelichman, G. (2016). Prodromal clinical markers of Parkinson disease in Gaucher disease individuals. *European Neurology*, 76(1-2), 19-21. doi:10.1159/000447510
8. McNeill, A., Duran, R., Proukakis, C., Bras, J., Hughes, D., Mehta, A., et al. (2012). Hyposmia and cognitive impairment in Gaucher disease patients and carriers. *Movement Disorders : Official Journal of the Movement Disorder Society*, 27(4), 526-532.
9. Schapira, A. H. (2015). Glucocerebrosidase and Parkinson disease: Recent advances. *Molecular and Cellular Neurosciences*, 66(Pt A), 37-42. doi:10.1016/j.mcn.2015.03.013
10. Beavan, M., McNeill, A., Proukakis, C., Hughes, D. A., Mehta, A., & Schapira, A. H. (2015). Evolution of prodromal clinical markers of Parkinson disease in a GBA mutation-positive cohort. *JAMA Neurology*, 72(2), 201-208
11. C.Schulte, I. Liepelt-Scarfone, C.E Hagen, A.K Hauser, K. Brockmann, et al. (2016). Coding and non-coding glucocerebrosidase variants have an impact on cognitive decline in Parkinson's disease [abstract]. *Mov Disord*. 2016; 31 (suppl 2).
12. Choi, J. M., Kim, W. C., Lyoo, C. H., Kang, S. Y., Lee, P. H., Baik, J. S., et al. (2012). Association of mutations in the glucocerebrosidase gene with Parkinson disease in a Korean population. doi:10.1016/j.neulet.2012.02.035

13. Horowitz, M., Pasmanik-Chor, M., Ron, I., & Kolodny, E. H. (2011). The enigma of the E326K mutation in acid  $\beta$ -glucocerebrosidase  
doi:10.1016/j.ymgme.2011.07.002
14. Collins, L. M., Williams-Gray, C. H., Morris, E., Deegan, P., Cox, T. M., & Barker, R. A. (2018). The motor and cognitive features of Parkinson's disease in patients with concurrent Gaucher disease over 2 years: A case series. *Journal of Neurology*, 265(8), 1789-1794. doi:10.1007/s00415-018-8908-6 [doi]
15. Moore, E., Mander, A., Ames, D., Carne, R., Sanders, K., & Watters, D. (2012). Cognitive impairment and vitamin B12: A review. *International Psychogeriatrics*, 24(4), 541-556. doi:10.1017/S1041610211002511
16. Lopez, G., Kim, J., Wiggs, E., Cintron, D., Groden, C., Tayebi, N., et al. (2016). Clinical course and prognosis in patients with Gaucher disease and parkinsonism. *Neurology Genetics*, 2(2), e57.  
doi:10.1212/NXG.0000000000000057
17. Thaler, A., Bregman, N., Gurevich, T., Shiner, T., Dror, Y., Zmira, O., et al. (2018). Parkinson's disease phenotype is influenced by the severity of the mutations in the GBA gene. *Parkinsonism & Related Disorders*, doi:S1353-8020(18)30239-6
18. Biegstraaten, M., Wesnes, K. A., Luzy, C., Petakov, M., Mrcic, M., Niederau, C., et al. (2012). The cognitive profile of type 1 gaucher disease patients. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 35(6), 1093-1099. doi:10.1007/s10545-012-9460-7 [doi]
19. Ronald B. Postuma, Isabelle Arnulf, Birgit Hogg, Alex Iranzo, Tomoyuki Miyamoto, et al. (2012). A Single-Question Screen for Rapid Eye Movement Sleep Behavior Disorder: A Multicenter Validation Study. *Mov Disord.* 2012 Jun; 27(7): 913–916.
20. Fereshtehnejad, S. M., Montplaisir, J. Y., Pelletier, A., Gagnon, J. F., Berg, D., & Postuma, R. B. (2017). Validation of the MDS research criteria for prodromal Parkinson's disease: Longitudinal assessment in a REM sleep behavior disorder (RBD) cohort. *Mov Disord.* 32(6), 865-873.
21. Mulhern, M., Bier, L., Alcalay, R. N., & Balwani, M. (2018). Patients' opinions on genetic counseling on the increased risk of Parkinson disease among Gaucher disease carriers. *Journal of Genetic Counseling*, 27(3), 675-680.  
doi:10.1007/s10897-017-0161-0

**Table 1** : Demographic and clinical characteristics of patients with Gaucher disease type 1 (n=23).

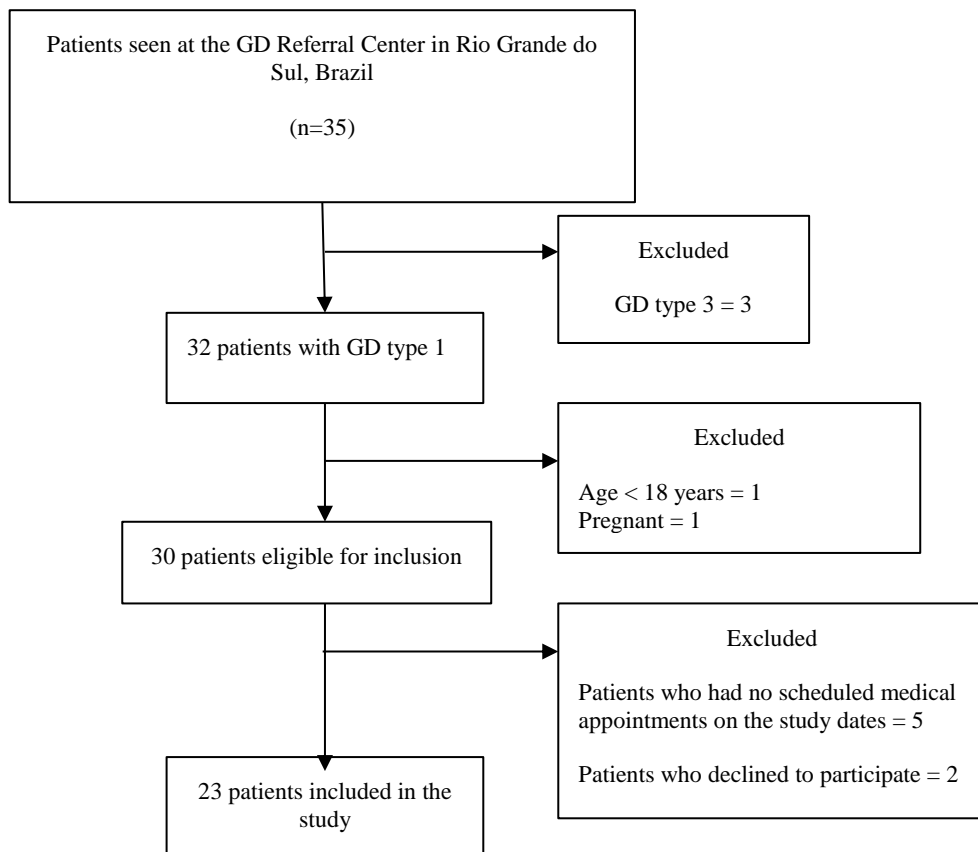
Patient	Gender	Age (years)	Genotype	3'-UTR SNP (rs708606)		Age at diagnosis (years)	Treatment duration (years)	Current treatment	Severity Scores		Hb (g/dL)	Plat (x 10 <sup>9</sup> /L)	Current ChT activity (nmol/hr/mL)
				Allele1/Allele2	SPX				SSI	DS3			
1	M	22	N370S/G202R	C/C	N	8	14	ERT	0	0	14.7	181	3338
2	F	23	N370S/L444P	C/T	N	20	3	ERT	2	0.7	13.2	191	4943
3	F	23	N370S/RecNciI	C/C	N	7	15	ERT	0	0	11.8	277	399
4	F	25	N370S/L444P	C/C	N	15	10	ERT	0	0	13.2	152	389
5	M	26	N370S/IVS9+1G>A	C/T	N	10	15	ERT	4	1.7	16.2	134	4521
6*	F	27	N370S/RecNciI	C/C	N	10	17	SRT	5	1.6	11.6	157	6314
7	F	28	N370S/L461P+IVS10+1G>T	C/C	N	4	24	ERT	1	0.7	12.9	122	3665
8	M	31	N370S/RecNciI	C/C	N	14	16	ERT	1	2.7	15.1	203	1463
9*	F	32	N370S/L444P	C/C	N	11	21	ERT	0	0	13.6	202	2847
10	M	37	N370S/ L444P+E326K	C/T	N	27	6	ERT	1	0	16.0	179	629
11	F	38	N370S/RecNciI	C/T	N	35	3	ERT	0	0	13.4	235	983
12	F	39	N370S/ L444P+E326K	C/T	N	29	9	SRT	0	0	12.5	167	2242
13	M	41	N370S/L444P	C/T	Y	26	16	ERT	5	1.7	14.2	328	1854
14	M	45	N370S/L444P	C/T	N	37	6	ERT	3	0.5	15.0	205	306
15	F	49	E349K/S366N	C/T	N	42	6	ERT	5	2.6	15.5	291	616
16	F	51	N370S/RecNciI	C/C	Y	34	17	ERT	11	2.9	14.2	434	1055
17	M	52	N370S/RecNciI	C/C	N	44	6	ERT	2	2.2	15.4	120	1451
18	M	57	N370S/RecNciI	C/C	N	50	7	ERT	3	0	16.4	170	1085
19	F	62	N370S/RecNciI	C/C	N	42	20	ERT	3	2.5	13.6	149	265
20	M	63	N370S/RecNciI	C/C	Y	49	11	ERT	9	7	15.3	222	440
21	M	64	N370S/N370S	C/C	N	54	9	ERT	2	1.1	13.3	143	1860
22	F	67	N370S/L444R	C/C	Y	60	7	ERT	4	2.6	14.4	268	240
23	F	67	N370S/RecNciI	C/T	N	57	6	ERT	4	1.9	14.0	161	223

3'-UTR SNP (rs708606), C/T, patients heterozygous for the single nucleotide polymorphism in the three-prime untranslated region (rs708606). C/C, both alleles normal; SPX, splenectomy; N, no; Y, yes; ERT, enzyme replacement therapy; SRT, substrate reduction therapy; SSI, Zimran Severity Score Index (mild = 0-10; moderate = 11-19; severe ≥20); DS3, Disease Severity Score (mild = < 3.00; moderate = 3.00-5.99; marked = 6.00-19); Hb, hemoglobin; Plat, platelet count; ChT, chitotriosidase activity (normal range: < 78.5 nmol/hr/mL). \*Patients with reported family history of Parkinson's disease.

**Table 2.** Scores of the scales used to evaluate non-motor symptoms of Parkinson's disease in patients with Gaucher disease type 1 and comorbidities found (n=23).

Patient	BDI	ESS	UMSARS	SST	MoCa	RBD-1Q	Motor	Comorbidities
1	4	6	0	10	30	N	N	Hyperparathyroidism
<b>2</b>	<u>16</u>	<u>11</u>	1	10	26	N	N	Lactating, low vitamin B12 level
3	4	9	0	11	28	N	N	Ulcerative colitis (treated with aminosalicylate), low vitamin B12 level
4	5	8	1	12	29	N	N	None
<b>5</b>	3	<u>17</u>	0	11	<u>23</u>	<u>Y</u>	N	Smoking
6	4	9	1	11	26	N	N	None
7	3	<u>11</u>	1	10	26	N	N	Pulmonary hypertension
8	2	8	1	9	26	<u>Y</u>	N	None
9	12	<u>11</u>	1	12	27	N	N	High blood pressure (treated with angiotensin receptor blockers and diuretics), low vitamin B12 level
<b>10</b>	0	<u>18</u>	0	12	26	<u>Y</u>	N	Smoking
11	6	<u>13</u>	1	12	26	N	N	Asthma, irritable bowel syndrome (treated with antidepressants, spasmolytics, and a beta blocker)
12	7	3	1	12	30	N	N	Smoking; hypertension (treated with beta blocker)
13	2	10	0	10	29	N	N	None
14	4	<u>15</u>	0	12	29	N	N	Cardiomyopathy (treated with beta blockers)
<b>15</b>	<u>25</u>	1	<u>2</u>	10	<u>22</u>	N	N	Smoking, depression (treated with tricyclic antidepressants)
<b>16</b>	<u>33</u>	7	0	11	<u>22</u>	N	N	None
17	6	NP	0	12	26	N	N	Insomnia, anxiety (treated with nonbenzodiazepine hypnotics and selective serotonin reuptake inhibitor), low vitamin B12 level
<b>18*</b>	14	<u>12</u>	0	<u>6</u>	26	N	N	Hypertension (treated with angiotensin-converting enzyme inhibitors).
<b>19*</b>	<u>17</u>	4	<u>2</u>	<u>4</u>	<u>22</u>	N	N	Hypertension (treated with calcium channel blockers and beta blocker), osteoporosis, rhinitis
<b>20</b>	13	<u>12</u>	1	10	<u>20</u>	N	<u>Y</u>	Hepatocellular carcinoma, hypertension (treated with calcium channel blockers and beta blocker)
21	3	7	0	11	26	N	<u>Y</u>	Stroke at age 55; hypertension (treated with calcium channel blockers, angiotensin receptor blockers, and beta blocker)
<b>22</b>	4	<u>13</u>	<u>2</u>	9	<u>19</u>	<u>Y</u>	N	Obesity, osteoporosis, arrhythmia, low vitamin B12 level
<b>23</b>	<u>16</u>	3	1	10	<u>23</u>	N	N	Depression (treated with selective serotonin reuptake inhibitor), hypertension (treated with angiotensin-converting enzyme inhibitor)

Altered results are presented underlined. Bold type denotes patients who screened positive for more than one non-motor symptom of Parkinson's disease. *BDI*, Beck Depression Inventory (cutoff for depression >14); *ESS*, Epworth Sleepiness Scale (cutoff for increased daytime sleepiness > 10); *UMSARS*, Unified Multiple System Atrophy Rating Scale (cutoff for constipation ≥2); *SST*, Sniffin' Sticks Test (cutoff for hyposmia < 9/12); *MoCa*, Montreal Cognitive assessment (cutoff for cognitive impairment <26); *RBD-1Q*, Single-Question Screen for REM Sleep Behavior Disorder (cutoff being a positive answer to the single question); *NP*, not performed. *Motor*, motor symptoms of PD assessed with part III of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS III). Low vitamin B12 level <400. \*These patients underwent clinical examination and fiberoptic nasopharyngoscopy by an otorhinolaryngologist.



**Figure 1.** Flow diagram of patient enrollment

## 8. CONCLUSÕES

As conclusões da presente dissertação serão apresentadas abaixo de acordo com os objetivos específicos.

*1) Avaliar a prevalência de sinais e sintomas pré-motores da DP em pacientes com DG sem diagnóstico prévio de DP ou demência.*

Dos pacientes da nossa coorte 15 tinham pelo menos um SPM: cinco apresentaram um SPM, seis apresentaram dois SPM e 4 pacientes apresentaram mais de três SPM. Sonolência diurna foi identificada em 10 pacientes, distúrbio comportamental do sono REM em 4 pacientes. Depressão foi identificada em 5 pacientes deste grupo. Sete pacientes apresentaram MoCa <26 (valor médio  $22 \pm 1,5$ ). Constipação foi identificada em apenas 3 e hiposmia em 2 pacientes.

*2) Correlacionar a frequência dos sinais e sintomas pré-motores da DP com:*

*a) Exames laboratoriais de controle atuais (hemoglobina, plaquetas e quitotriosidase);* Não foi encontrado correlação entre a frequência dos SPM e os exames laboratoriais atuais.

*b) Escores de gravidade da DG usados de rotina nas consultas como o SSI (Zimran Severity Score Index) e o DS3 (Disease Severity Score).*

O menor escore MoCa foi associado com maior gravidade nos escores de DG: SSI ( $p = 0,016$ ), DS3 ( $p = 0,013$ ) quando comparado com o grupo de pacientes que pontuou MoCa  $\geq 26$ . Não houve correlação estatística significativa entre os níveis dos escores de gravidade ou dos exames laboratoriais com os demais escores dos SPM avaliados no presente estudo.



*c) Dados clínicos de tempo de tratamento, idade e idade ao diagnóstico.*

O menor escore MoCa foi associado com maior idade ao diagnóstico ( $p = 0,028$ ) quando comparado com o grupo de pacientes que pontuou MoCa  $\geq 26$ . Não foram encontradas outras associações.

*d) A presença da variante 3'-UTR SNP (rs708606)*

Oito pacientes eram heterozigotos para esse polimorfismo e destes seis tinham, pelo menos, um SPM de DP. Tal associação não foi significativa. Não houve associação entre a presença da mutação e os escores de SPM.

## 9. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

Os pacientes com DG e seus familiares, pela mutação em *GBA1*, possuem um fator de risco para DP já estabelecido. A avaliação ambulatorial dos SPM de DP, assim como da escala motora mostrou-se de fácil uso no presente estudo podendo facilmente ser transposto para uma avaliação de rotina.

Notou-se também que muitas vezes em consultas ambulatoriais não é indagado ao paciente informações sobre seu sono, sua percepção de cheiros e sua sonolência. Essas perguntas podem direcionar a investigação de SPM já estabelecidos na literatura como tendo correlação com o início de doença neurodegenerativas.

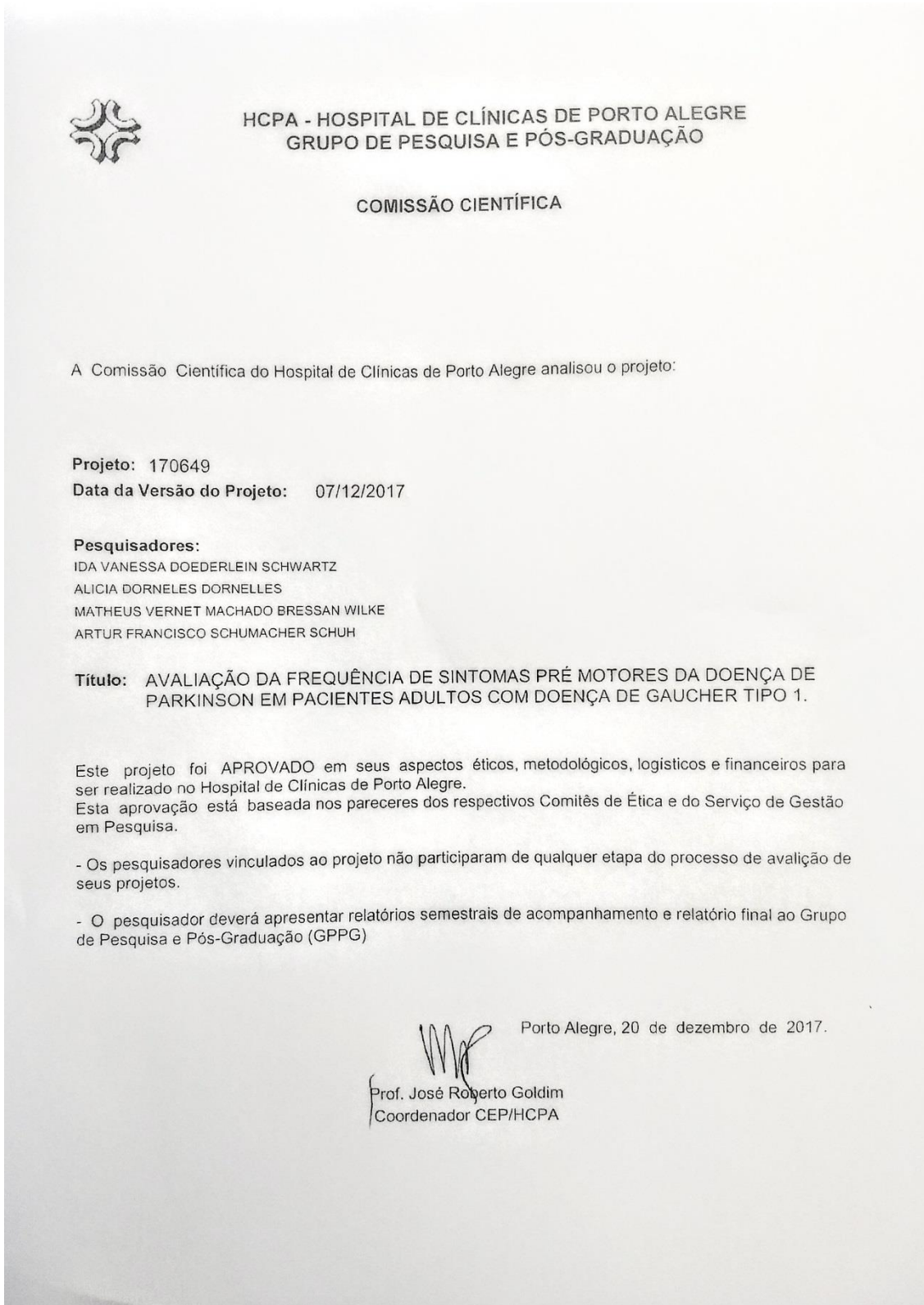
Estudos sobre o seguimento de pacientes com DG com alterações nos escores de SPM já foram realizados demonstrando um início mais precoce da DP nesse tipo de coorte. (Beavan et al 2015) Cabe a aliança entre pesquisa e assistência possibilitar a descoberta de novas abordagens terapêuticas que possam atuar principalmente nesses pacientes de maior risco.

Dentre as limitações do presente estudo apontamos a ausência de indivíduos controle para os testes apresentados. Optou-se por não utilizar controle haja vista tais testes já possuem validação na prática clínica Temos como objetivo futuro utilizar tais testes em indivíduos controle e também aplica-los em familiares de pacientes com DG.

Estudos futuros podem ser realizados tanto para avaliar a progressão dos SPM, quanto para documentar o aparecimento de doenças neurodegenerativas no futuro dessa coorte podendo ambos serem correlacionados com os dados já coletados transversalmente no presente estudo.

## 10. ANEXOS E APÊNDICES

### APÊNDICE 1: APROVAÇÃO DO GPPG do Hospital de Clínicas de Porto Alegre



## **APÊNDICE 2: TERMO DE CONCENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.**

### **TERMO DE CONCENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO. (INDIVÍDUOS COM DOENÇA DE GAUCHER)**

CAAE: 78018217800005327

#### **PROJETO**

Avaliação da Frequência de Sintomas pré-motores da Doença de Parkinson em pacientes com Doença de Gaucher.

#### **PESQUISADOR RESPONSÁVEL**

Dra. Ida Vanessa Doederlein Schwartz. Serviço de Genética Médica, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Rua Ramiro Barcelos, 2350. Porto Alegre-RS. Telefone (51)3359.8011.

**NOME DO PARTICIPANTE:** \_\_\_\_\_

Prezado paciente (ou responsável),

Gostaríamos de convidá-lo para participar de um estudo que avaliará sintomas precoces da Doença de Parkinson em pacientes com Doença de Gaucher. A Doença de Gaucher é uma doença genética ligada ao Gene *GBA1* que causa o mau funcionamento da enzima beta-glucocerebrosidase.

A mutação no Gene *GBA1* pode estar ligada à Doença de Parkinson. A Doença de Parkinson é a segunda doença neurodegenerativa mais comum, depois da doença de Alzheimer. A origem da Doença de Parkinson é pouco conhecida, pois pode envolver diferentes causas como o envelhecimento do cérebro, causas genéticas ou causas ambientais. Os achados principais dessa doença podem envolver rigidez e tremores em sua forma mais avançada. Muitos sinais iniciais da Doença de Parkinson podem ser avaliados em ambulatório e podem representar uma abordagem inicial dessa doença

Nosso estudo pretende avaliar 5 dos sintomas iniciais da Doença de Parkinson (prisão de ventre, depressão, alterações no sono, alterações na atenção e diminuição na capacidade de sentir cheiro) em pacientes com Doença de Gaucher.

Se você concorda, serão coletados dados de prontuário, como por exemplo, idade, tipo de Doença de Gaucher, escolaridade e outras informações sobre sua saúde. Realizaremos uma avaliação de como você sente cheiros, através da inspiração dos aromas contidos em canetas específicas para essa finalidade. Serão também aplicados 4 questionários que avaliam os sintomas iniciais da Doença de Parkinson (prisão de ventre, depressão, alterações no sono, alterações na atenção). Todos os exames e testes citados não causam dor e não são invasivos.

Rubrica do participante \_\_\_\_\_  
Página 1 de 3

Rubrica do pesquisador \_\_\_\_\_

A avaliação terá a duração de aproximadamente 50 minutos, sendo que você poderá fazer essas avaliações em um ou dois encontros, se assim achar conveniente

Se, por acaso, for encontrada alguma alteração nos questionários, você irá seguir para avaliação com um neurologista vinculado ao Centro de Pesquisa Clínica.

### **RISCOS E BENEFÍCIOS**

Não são conhecidos riscos à sua saúde relacionados aos procedimentos do estudo, ficando apenas o desconforto mínimo por responder aos testes e questionamentos, bem como o tempo despendido para fazer estes procedimentos. Os benefícios consistem em uma avaliação ampla de sintomas, que podem indicar doenças ou situações a serem melhor investigadas, para otimizar sua qualidade de vida. Você (participante ou responsável) poderá ter acesso aos resultados dos seus testes (ou dos testes do seu filho) e esclarecer dúvidas sobre os procedimentos, ou sobre a pesquisa, a qualquer momento.

### **DÚVIDAS**

Se você tiver alguma dúvida em relação à pesquisa, deve contatar a Dra. Ida Vanessa Doederlein Schwartz, telefone (51) 33598011, no Serviço de Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Além disso, você pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA, que aprovou este projeto, através do telefone (51) 33597640 ou localmente no segundo andar do HCPA, na rua Ramiro Barcelos, 2350, bairro Santa Cecília, Porto Alegre-RS, horário de funcionamento das 8h às 17h de segunda a sexta-feira.

### **RECUSA OU DESCONTINUAÇÃO NA PARTICIPAÇÃO DO ESTUDO**

Sua participação no estudo é voluntária. Se você decidir não participar do estudo, isto não afetará em nada o seu tratamento no HCPA. A sua participação pode ser interrompida a qualquer momento por você mesmo (a). Em qualquer caso, você não será penalizado e não haverá a necessidade de justificar a sua decisão. A concordância ou a não concordância em participar não irá alterar o tratamento já estabelecido para você ou para o seu familiar.

Rubrica do participante \_\_\_\_\_  
Página 2 de 3

Rubrica do pesquisador \_\_\_\_\_

## CONFIDENCIALIDADE DAS INFORMAÇÕES

As informações desta pesquisa serão mantidas em sigilo, sendo apenas utilizadas de forma científica, e sem identificação de seu nome. Caso alguma informação derivada deste estudo seja importante para você, todo esforço será realizado para informá-lo.

Pelo presente termo, você declara que foi informado(a), de forma clara e detalhada, sobre a presente pesquisa, e que teve suas dúvidas esclarecidas por \_\_\_\_\_ . Declara ter sido esclarecido que não receberá nenhuma remuneração financeira e que também não terá nenhum custo por participar do estudo. Declara que foi informado da garantia de receber resposta ou esclarecimento sobre a pesquisa a ser realizada, bem como da liberdade de não participar do estudo e da possibilidade de desistir, em qualquer momento, da participação. Além disso, declara que assinou duas vias deste consentimento e que uma delas ficou em seu poder.

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Nome do participante

\_\_\_\_\_  
Assinatura

\_\_\_\_\_  
Nome do responsável (se aplicável)

\_\_\_\_\_  
Assinatura

Eu expliquei a \_\_\_\_\_ os objetivos e procedimentos necessários para esta pesquisa, e entreguei a ele (a) cópia deste termo de consentimento para este (a) pessoa.

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Nome do pesquisador

\_\_\_\_\_  
Assinatura

Rubrica do participante \_\_\_\_\_  
Página 3 de 3

Rubrica do pesquisador \_\_\_\_\_

### APÊNDICE 3: ANÁLISE DA FUNÇÃO OLFATIVA

Indivíduo nº \_\_\_\_\_

Avaliador: \_\_\_\_\_

Data da Avaliação \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Desempenho(acertos totais): \_\_\_\_\_ Obs \_\_\_\_\_

1       correto  incorreto \_\_\_\_\_

2       correto  incorreto \_\_\_\_\_

3       correto  incorreto \_\_\_\_\_

4       correto  incorreto \_\_\_\_\_

5       correto  incorreto \_\_\_\_\_

6       correto  incorreto \_\_\_\_\_

7       correto  incorreto \_\_\_\_\_

8       correto  incorreto \_\_\_\_\_

9       correto  incorreto \_\_\_\_\_

10      correto  incorreto \_\_\_\_\_

11      correto  incorreto \_\_\_\_\_

12      correto  incorreto \_\_\_\_\_

#### **APÊNDICE 4: ESCALA DE SONOLÊNCIA DE EPWORTH**

Marque nas seguintes situações a chance de cochilar conforme pontuação abaixo:

- 0 - Nenhuma chance de cochilar
- 1- Pequena chance de cochilar
- 2- Moderada chance de cochilar
- 3- Alta chance de cochilar

Situação

- 1- Sentado e lendo ( )
- 2-Vendo TV ( )
- 3- Sentado em um lugar publico sem atividade ( )
- 4- Como passageiro de trem, carro ou ônibus andando uma hora sem parar ( )
- 5- Deitado para descansar à tarde quando as circunstancias permitem ( )
- 6- Sentado e conversando com alguém ( )
- 7- Sentado, calmamene, após o amoço sem álcool ( )
- 8- Se estiver no carro, enquanto para por alguns minutos no trânsito intenso.( )



## **APÊNDICE 5: AVALIAÇÃO DO SONO REM.**

Responda a seguinte questão com SIM ou NÃO.

Já lhe disseram, ou você já suspeitou que você parece "atuar nos sonhos enquanto você dorme (por exemplo, seus braços no ar, fazendo movimentos de corrida, etc.)?

- a.      SIM
- b.      NÃO

## APÊNDICE 6: AVALIAÇÃO DE CONSTIPAÇÃO

### UMSARS The Unified Multiple System Atrophy Rating Scale

Sobre seus hábitos intestinais marque a alternativa que mais se aplica dentre as abaixo:

- 0 - Não há mudanças no meu funcionamento intestinal quando comparado a padrões prévios.
- 1- Constipação ocasional, porém sem a necessidade do uso de medicação
- 2- Constipação frequente necessitando do uso de laxativos
- 3- Constipação crônica necessitando uso de laxativos e enemas
- 4- Não consigo ter movimento intestinal espontâneo.

## APÊNDICE 7: INVENTÁRIO DE DEPRESSÃO DE BECK

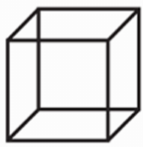
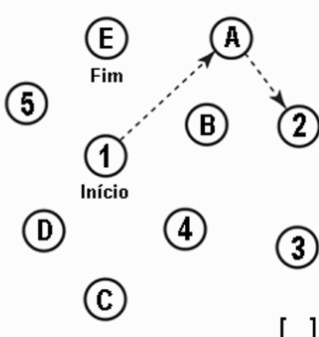

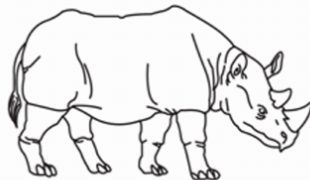
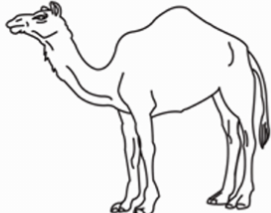
Este questionário consiste em 21 grupos de afirmações. Depois de ler cuidadosamente cada grupo, faça um círculo em torno do número (0, 1, 2 ou 3) próximo à afirmação, em cada grupo, que descreve **melhor** a maneira que você tem se sentido na **última semana, incluindo hoje**. Se várias afirmações num grupo parecerem se aplicar igualmente bem, faça um círculo em cada uma. **Tome cuidado de ler todas as afirmações, em cada grupo, antes de fazer sua escolha.**

<p><b>1</b></p> <p>0 Não me sinto triste</p> <p>1 Eu me sinto triste</p> <p>2 Estou sempre triste e não consigo sair disto</p> <p>3 Estou tão triste ou infeliz que não consigo suportar</p>	<p><b>7</b></p> <p>Não me sinto decepcionado comigo mesmo</p> <p>Estou decepcionado comigo mesmo</p> <p>Estou enojado de mim</p> <p>Eu me odeio</p>
<p><b>2</b></p> <p>Não estou especialmente desanimado quanto ao futuro</p> <p>1 Eu me sinto desanimado quanto ao futuro</p> <p>2 Acho que nada tenho a esperar</p> <p>Acho o futuro sem esperanças e tenho a impressão de que as coisas não podem melhorar</p>	<p><b>8</b></p> <p>0 Não me sinto de qualquer modo pior que os outros</p> <p>Sou crítico em relação a mim por minhas fraquezas ou erros</p> <p>Eu me culpo sempre por minhas falhas</p> <p>Eu me culpo por tudo de mal que acontece</p>
<p><b>3</b></p> <p>Não me sinto um fracasso</p> <p>Acho que fracassei mais do que uma pessoa comum</p> <p>Quando olho pra trás, na minha vida, tudo o que posso ver é um monte de fracassos</p> <p>Acho que, como pessoa, sou um completo fracasso</p>	<p><b>9</b></p> <p>0 Não tenho quaisquer idéias de me matar</p> <p>1 Tenho idéias de me matar, mas não as executaria</p> <p>2 Gostaria de me matar</p> <p>3 Eu me mataria se tivesse oportunidade</p>
<p><b>4</b></p> <p>Tenho tanto prazer em tudo como antes</p> <p>Não sinto mais prazer nas coisas como antes</p> <p>Não encontro um prazer real em mais nada</p> <p>Estou insatisfeito ou aborrecido com tudo</p>	<p><b>10</b></p> <p>0 Não choro mais que o habitual</p> <p>1 Choro mais agora do que costumava</p> <p>2 Agora, choro o tempo todo</p> <p>Costumava ser capaz de chorar, mas agora não consigo, mesmo que o queria</p>
<p><b>5</b></p> <p>Não me sinto especialmente culpado</p> <p>Eu me sinto culpado grande parte do tempo</p> <p>Eu me sinto culpado na maior parte do tempo</p> <p>Eu me sinto sempre culpado</p>	<p><b>11</b></p> <p>0 Não sou mais irritado agora do que já fui</p> <p>Fico aborrecido ou irritado mais facilmente do que costumava</p> <p>2 Agora, eu me sinto irritado o tempo todo</p> <p>Não me irrita mais com coisas que costumavam me irritar</p>
<p><b>6</b></p> <p>Não acho que esteja sendo punido</p> <p>Acho que posso ser punido</p> <p>Creio que vou ser punido</p> <p>Acho que estou sendo punido</p>	<p><b>12</b></p> <p>0 Não perdi o interesse pelas outras pessoas</p> <p>Estou menos interessado pelas outras pessoas do que costumava estar</p> <p>Perdi a maior parte do meu interesse pelas outras pessoas</p> <p>3 Perdi todo o interesse pelas outras pessoas</p>

13	<p>0 Tomo decisões tão bem quanto antes</p> <p>Adio as tomadas de decisões mais do que costumava</p> <p>Tenho mais dificuldades de tomar decisões do que antes</p> <p>Absolutamente não consigo mais tomar decisões</p>	18	<p>O meu apetite não está pior do que o habitual</p> <p>Meu apetite não é tão bom como costumava ser</p> <p>Meu apetite é muito pior agora</p> <p>Absolutamente não tenho mais apetite</p>
14	<p>Não acho que de qualquer modo pareço pior do que antes</p> <p>Estou preocupado em estar parecendo velho ou sem atrativo</p> <p>Acho que há mudanças permanentes na minha aparência, que me fazem parecer sem atrativo</p> <p>3 Acredito que pareço feio</p>	19	<p>Não tenho perdido muito peso se é que perdi algum recentemente</p> <p>1 Perdi mais do que 2 quilos e meio</p> <p>2 Perdi mais do que 5 quilos</p> <p>3 Perdi mais do que 7 quilos</p> <p>Estou tentando perder peso de propósito, comendo menos: Sim _____ Não _____</p>
15	<p>0 Posso trabalhar tão bem quanto antes</p> <p>É preciso algum esforço extra para fazer alguma coisa</p> <p>Tenho que me esforçar muito para fazer alguma coisa</p> <p>3 Não consigo mais fazer qualquer trabalho</p>	20	<p>Não estou mais preocupado com a minha saúde do que o habitual</p> <p>Estou preocupado com problemas físicos, tais como dores, indisposição do estômago ou constipação</p> <p>Estou muito preocupado com problemas físicos e é difícil pensar em outra coisa</p> <p>Estou tão preocupado com meus problemas físicos que não consigo pensar em qualquer outra coisa</p>
16	<p>0 Consigo dormir tão bem como o habitual</p> <p>1 Não durmo tão bem como costumava</p> <p>Acordo 1 a 2 horas mais cedo do que habitualmente e acho difícil voltar a dormir</p> <p>Acordo várias horas mais cedo do que costumava e não consigo voltar a dormir</p>	21	<p>Não notei qualquer mudança recente no meu interesse por sexo</p> <p>Estou menos interessado por sexo do que costumava</p> <p>2 Estou muito menos interessado por sexo agora</p> <p>3 Perdi completamente o interesse por sexo</p>
17	<p>Não fico mais cansado do que o habitual</p> <p>Fico cansado mais facilmente do que costumava</p> <p>Fico cansado em fazer qualquer coisa</p> <p>Estou cansado demais para fazer qualquer coisa</p>		

# APÊNDICE 8: MONTREAL COGNITIVE ASSESSMENT (MoCa)

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

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

(UNIFESP-SP 2007)

## APÊNDICE 9: PARTE III da UPDRS

### **III. EXAME MOTOR**

1. fala  
0= normal.  
  
1= perda discreta da expressão, volume ou dicção.  
  
2= comprometimento moderado. Arrastado, monótono mas compreensível.  
  
3= comprometimento grave, difícil de ser entendido.  
  
4= incompreensível.
2. expressão facial  
0= normal.  
  
1= hipomimia mínima.  
  
2= diminuição pequena, mas anormal, da expressão facial.  
  
3= hipomimia moderada, lábios caídos/afastados por algm tempo.  
  
4= fácies em máscara ou fixa, com perda grave ou total da expressão facial. Lábios afastados ¼ de polegada ou mais.
3. tremor de repouso  
0= ausente.  
  
1= presente mas infrequente ou leve.  
  
2= persistente mas de pouca amplitude, ou moderado em amplitude mas presente de maneira intermitente.  
  
3= moderado em amplitude mas presente a maior parte do tempo.  
  
4= com grande amplitude e presente a maior parte do tempo.
4. tremor postural ou de ação nas mãos  
0= ausente  
  
1= leve, presente com a ação.  
  
2= moderado em amplitude, presente com a ação.  
  
3= moderado em amplitude tanto na ação quanto mantendo a postura.  
  
4= grande amplitude, interferindo com a alimentação.
5. rigidez (movimento passivo das grandes articulações, com paciente sentado e relaxado, ignorar roda denteada)  
0= ausente  
  
1= pequena ou detectável somente quando ativado por movimentos em espelho de outros.

- 2= leve e moderado.
- 3= marcante, mas pode realizar o movimento completo da articulação.
- 4= grave e o movimento completo da articulação só ocorre com grande dificuldade.
6. bater dedos continuamente – polegar no indicador em seqüências rápidas com a maior amplitude possível, uma mão de cada vez.
- 0= normal
- 1= leve lentidão e/ou redução da amplitude.
- 2= comprometimento moderado. Fadiga precoce e bem clara. Pode apresentar parada ocasional durante o movimento.
- 3= comprometimento grave. Hesitação freqüente para iniciar o movimento ou paradas durante o movimento que está realizando.
- 4= realiza o teste com grande dificuldade, quase não conseguindo.
7. movimentos das mãos (abrir e fechar as mãos em movimentos rápidos e sucessivos e com a maior amplitude possível, uma mão de cada vez).
- 0= normal
- 1= leve lentidão e/ou redução da amplitude.
- 2= comprometimento moderado. Fadiga precoce e bem clara. Pode apresentar parada ocasional durante o movimento.
- 3= comprometimento grave. Hesitação freqüente para iniciar o movimento ou paradas durante o movimento que está realizando.
- 4= realiza o teste com grande dificuldade, quase não conseguindo.
8. movimentos rápidos alternados das mãos (pronação e supinação das mãos, horizontal ou verticalmente, com a maior amplitude possível, as duas mãos simultaneamente).
- 0= normal
- 1= leve lentidão e/ou redução da amplitude.
- 2= comprometimento moderado. Fadiga precoce e bem clara. Pode apresentar parada ocasional durante o movimento.
- 3= comprometimento grave. Hesitação freqüente para iniciar o movimento ou paradas durante o movimento que está realizando.
- 4= realiza o teste com grande dificuldade, quase não conseguindo.
9. agilidade da perna (bater o calcanhar no chão em sucessões rápidas, levantando toda a perna, a amplitude do movimento deve ser de cerca de 3 polegadas/  $\pm 7,5$  cm).

0= normal

1= leve lentidão e/ou redução da amplitude.

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

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

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

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

0= normal

1= lento ou pode precisar de mais de uma tentativa

2= levanta-se apoiando nos braços da cadeira.

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

4= incapaz de levantar-se sem ajuda.

11. postura

0= normal em posição ereta.

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

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

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

4= bem fletido com anormalidade acentuada da postura.

12. marcha

0= normal

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

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

3= comprometimento grave da marcha, necessitando de ajuda.

4= não consegue andar sozinho, mesmo com ajuda.



13. estabilidade postural (respostas ao deslocamento súbito para trás, puxando os ombros, com paciente ereto, de olhos abertos, pés separados, informado a respeito do teste)
- 0= normal
  - 1= retropulsão, mas se recupera sem ajuda.
  - 2= ausência de respostas posturais, cairia se não fosse auxiliado pelo examinador.
  - 3= muito instável, perde o equilíbrio espontaneamente.
  - 4= incapaz de ficar ereto sem ajuda.
14. bradicinesia e hipocinesia corporal (combinação de hesitação, diminuição do balançar dos braços, pobreza e pequena amplitude de movimentos em geral)
- 0= nenhum.
  - 1= lentidão mínima. Podia ser normal em algumas pessoas. Possível redução na amplitude.
  - 2= movimento definitivamente anormal. Pobreza de movimento e um certo grau de lentidão.
  - 3= lentidão moderada. Pobreza de movimento ou com pequena amplitude.
  - 4= lentidão acentuada. Pobreza de movimento ou com pequena amplitude.

## APÊNDICE 10: STROBE Statement – Checklist para estudos observacionais

STROBE Statement—Checklist of items that should be included in reports of *cross-sectional studies*

	<b>Item No</b>	<b>Recommendation</b>
<b>Title and abstract</b>	1	(a) Indicate the study's design with a commonly used term in the title or the abstract
		(b) Provide in the abstract an informative and balanced summary of what was done and what was found
<b>Introduction</b>		
Background/rationale	2	Explain the scientific background and rationale for the investigation being reported
Objectives	3	State specific objectives, including any prespecified hypotheses
<b>Methods</b>		
Study design	4	Present key elements of study design early in the paper
Setting	5	Describe the setting, locations, and relevant dates, including periods of recruitment, exposure, follow-up, and data collection
Participants	6	(a) Give the eligibility criteria, and the sources and methods of selection of participants
Variables	7	Clearly define all outcomes, exposures, predictors, potential confounders, and effect modifiers. Give diagnostic criteria, if applicable
Data sources/ measurement	8*	For each variable of interest, give sources of data and details of methods of assessment (measurement). Describe comparability of assessment methods if there is more than one group
Bias	9	Describe any efforts to address potential sources of bias
Study size	10	Explain how the study size was arrived at

Quantitative variables	11	Explain how quantitative variables were handled in the analyses. If applicable, describe which groupings were chosen and why
Statistical methods	12	(a) Describe all statistical methods, including those used to control for confounding
		(b) Describe any methods used to examine subgroups and interactions
		(c) Explain how missing data were addressed
		(d) If applicable, describe analytical methods taking account of sampling strategy
		(e) Describe any sensitivity analyses

---

**Results**

Participants	13*	(a) Report numbers of individuals at each stage of study—eg numbers potentially eligible, examined for eligibility, confirmed eligible, included in the study, completing follow-up, and analysed
		(b) Give reasons for non-participation at each stage
		(c) Consider use of a flow diagram
Descriptive data	14*	(a) Give characteristics of study participants (eg demographic, clinical, social) and information on exposures and potential confounders
		(b) Indicate number of participants with missing data for each variable of interest
Outcome data	15*	Report numbers of outcome events or summary measures
Main results	16	(a) Give unadjusted estimates and, if applicable, confounder-adjusted estimates and their precision (eg, 95% confidence interval). Make clear which confounders were adjusted for and why they were included

(b) Report category boundaries when continuous variables were categorized

(c) If relevant, consider translating estimates of relative risk into absolute risk for a meaningful time period

Other analyses	17	Report other analyses done—eg analyses of subgroups and interactions, and sensitivity analyses
<b>Discussion</b>		
Key results	18	Summarise key results with reference to study objectives
Limitations	19	Discuss limitations of the study, taking into account sources of potential bias or imprecision. Discuss both direction and magnitude of any potential bias
Interpretation	20	Give a cautious overall interpretation of results considering objectives, limitations, multiplicity of analyses, results from similar studies, and other relevant evidence
Generalisability	21	Discuss the generalisability (external validity) of the study results
<b>Other information</b>		
Funding	22	Give the source of funding and the role of the funders for the present study and, if applicable, for the original study on which the present article is based

\*Give information separately for exposed and unexposed groups.

**Note:** An Explanation and Elaboration article discusses each checklist item and gives methodological background and published examples of transparent reporting. The STROBE checklist is best used in conjunction with this article (freely available on the Web sites of PLoS Medicine at <http://www.plosmedicine.org/>, Annals of Internal Medicine at <http://www.annals.org/>, and Epidemiology at <http://www.epidem.com/>). Information on the STROBE Initiative is available at [www.strobe-statement.org](http://www.strobe-statement.org).

