

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FACULDADE DE CEILÂNDIA

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS
EM SAÚDE**

**AVALIAÇÃO DA EXCURSÃO DIAFRAGMÁTICA EM UM
MODELO EXPERIMENTAL DA DOENÇA DE PARKINSON**

Priscila Sales de Campos

Brasília
2014

**AVALIAÇÃO DA EXCURSÃO DIAFRAGMÁTICA EM UM
MODELO EXPERIMENTAL DA DOENÇA DE PARKINSON**

PRISCILA SALES DE CAMPOS

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ceilândia da Universidade de Brasília, como
requisito para obtenção do Grau de Mestre em
Ciências e Tecnologias em Saúde.

ORIENTADOR: PROF. DR. JORGE LUÍS LOPES ZEREDO

PRISCILA SALES DE CAMPOS

**AVALIAÇÃO DA EXCURSÃO DIAFRAGMÁTICA EM UM
MODELO EXPERIMENTAL DA DOENÇA DE PARKINSON**

Área de concentração: Mecanismos Básicos e
Processos Biológicos em Saúde
Linha de investigação: Mecanismos
Moleculares e Funcionais da Saúde Humana
Temática: Controle motor oral na fala,
respiração, mastigação e deglutição. Dor
orofacial

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Jorge Luís Lopes Zeredo
(Orientador - FCE/UNB)

Prof^ª. Dr^a. Rita de Cássia Marqueti Durigan

Prof. Dr. José Airton Jorge Alves

Prof. Dr. Alexis Fonseca Welker

Dedico este trabalho ao meu esposo, Fábio, e aos meus pais, Edson e Rita.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por minha vida, família e amigos; por todas as alegrias, pela saúde e pela força que me concedeu, para que conseguisse chegar até aqui.

Ao meu esposo e eterno companheiro, Fábio, pessoa com quem amo partilhar a vida, que sempre dividiu comigo as alegrias e as tristezas. Com você tenho me sentido mais viva de verdade. Obrigada pelo carinho, a paciência, apoio e por sua capacidade de me trazer força e me incentivar a ultrapassar todos os obstáculos que encontro. Te amo muito!

Aos meus pais, Edson e Rita, pelo amor, incentivo e apoio incondicional. Por sempre estarem ao meu lado, por tudo aquilo que me ensinaram, por terem sempre me guiado ao melhor caminho e por terem me transformado na pessoa que sou.

Às minhas irmãs, por terem sido minhas primeiras amigas e por serem exemplos na minha infância e para minha vida; Camila, por sempre apoiar as minhas escolhas, e Carla que do céu me ilumina, me orienta e me faz ter certeza que o reencontro é certo.

Ao meu orientador, professor Jorge Zeredo, pela orientação, apoio e confiança, e por me auxiliar no meu crescimento profissional.

À equipe de pesquisadores do Japão, que colaboraram para a realização desta pesquisa e que mesmo de tão longe puderam contribuir para o meu crescimento profissional.

Aos meus amigos de profissão, por terem me apoiado e auxiliado para que esta conquista acontecesse, principalmente à Mariana Borges, quem me incentivou a realizar este mestrado.

Aos animais utilizados no experimento.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigada!

“Ainda que eu falasse as línguas dos homens e dos anjos, e não tivesse amor, seria como o metal que soa ou como o sino que tine. E ainda que tivesse o dom da profecia e conhecesse todos os mistérios e toda a ciência, e ainda que tivesse toda a fé, de maneira tal que transportasse os montes, e não tivesse amor, nada seria.”

(1 Coríntios 13:1-2)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. OBJETIVOS.....	15
2.1 Objetivo Geral.....	15
2.2 Objetivos específicos.....	16
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	16
3.1 Doença de Parkinson.....	16
3.1.1 Epidemiologia.....	17
3.1.2 Etiologia.....	17
3.1.3 Fisiopatologia.....	20
3.1.4 Manifestações clínicas.....	24
3.1.5 Classificação.....	26
3.1.6 Estágios.....	27
3.1.7 Distúrbios respiratórios na Doença de Parkinson.....	28
3.2 Diafragma.....	30
3.3 Avaliação da mobilidade diafragmática - cineradiografia.....	34
3.4 Modelo Animal de Doença de Parkinson.....	34
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	36
4.1 Animais.....	36
4.2 Preparação Animal e cirurgia Esteriotóxica.....	37
4.3 Testes comportamentais.....	37
4.4 Registro da excursão diafragmática.....	39
4.4.1 Análise de dados.....	40
4.5 Análise estatística.....	44

5. RESULTADOS.....	44
5.1 Testes comportamentais.....	44
5.2 Avaliação respiratória.....	46
6. DISCUSSÃO.....	48
7. CONCLUSÃO.....	53
8. REFERÊNCIAS	54

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Efeito da doença de Parkinson sobre as vias dopaminérgicas que regulam o movimento.....	22
Figura 2 - Caracterização do seio costofrênico.....	32
Figura 3 - Caracterização da mobilidade toraco-abdominal.....	33
Figura 4 - Realização do "Pole test".....	38
Figura 5 - Realização do "Cylinder test".....	39
Figura 6 - Realização do "Nest-building test".....	39
Figura 7 - Imagem visualizada através do programa KINOVEA.....	40
Figura 8 - Marcação de pontos dos seios costofrênicos e do ponto mais alto da cúpula diafragmática.....	41
Figura 9 - Distância entre a aresta traçada entre os seios costofrênicos e a aresta traçada sobre a cúpula diafragmática durante a inspiração.....	42
Figura 10 - Distância entre a aresta traçada entre os seios costofrênicos e a aresta traçada sobre a cúpula diafragmática durante a expiração.....	42
Figura 11 - Ângulo do seio costofrênico direito durante a inspiração.....	43
Figura 12 - Ângulo do seio costofrênico direito durante a expiração.....	43
Figura 13 - Valores de tempo do "Pole test".....	44
Figura 14 - Valores do "Cylinder test".....	45
Figura 15 - Valores de tempo do "Nest-building test".....	45
Figura 16 - Valores do ângulo do seio costofrênico durante a inspiração e expiração.....	46
Figura 17 - Variação angular do seio costofrênico entre a inspiração e expiração.....	47
Figura 18 - Deslocamento diafragmático realizado entre a inspiração e expiração.....	47
Figura 19 - Valores de frequência respiratória média.....	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Distúrbios não-motores na Doença de Parkinson.....	26
Tabela 2 - Classificação Hoehn e Yahr.....	28

LISTA DE ABREVIATURAS

ATP - adenosina trifosfato

ATV - área tegmental ventral

CL - corpos ou corpúsculos de Lewy

CPT - capacidade pulmonar total

CRF - capacidade residual funcional

CV - capacidade vital

CVF - capacidade vital forçada

DA - dopamina

DP - Doença de Parkinson

FR - frequência respiratória

GABA - ácido g-aminobutírico

GC - grupo controle

GE - grupo experimental

HY - escala de Hoehn e Yahr

Hz - hertz

MAO-B - monoamino oxidase-B

MPDP+ - 1-metil-4-fenil-2,3-dihidropiridium

MPP+ -1-metil-4-fenilpiridina

MPTP - 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina

NB - núcleos da base

6 - OHDA - 6 – hidroxidopamina

SPF - Specific Patogen Free

SN - substância negra

SNA - sistema nervoso autônomo

SNC - sistema nervoso central

SNpc - substância negra parte compacta

VEF₁ - volume expiratório forçado no 1º segundo

VEF₁/CVF - relação volume expiratório forçado no 1º segundo x capacidade vital forçada

RESUMO

Introdução: A Doença de Parkinson (DP) é uma desordem neurodegenerativa progressiva que leva à degeneração dos neurônios dopaminérgicos da substância negra. As disfunções respiratórias ocorrem na maioria dos pacientes com DP, ocorrendo uma diminuição da complacência da caixa torácica pelo aumento da rigidez, diminuição do volume de ar e das taxas de fluxo de ar inspirado, fadiga e incoordenação dos músculos diafragmáticos e acessórios. Além disso, a restrição mecânica à mobilidade diafragmática promove um desequilíbrio na relação ventilação/perfusão, repercutindo em hipoventilação de áreas pulmonares ventilatório-dependentes. **Objetivo:** O propósito deste estudo é a concepção de um modelo experimental para descrever os sinais de desordem da excursão diafragmática na Doença de Parkinson na sua fase inicial da doença. Visa à investigação sistemática da anatomia e fisiologia da mobilidade diafragmática em uma imagem radiográfica dinâmica registrada em vídeo em dois planos (horizontal e vertical). **Material e métodos:** Esta pesquisa foi realizada com camundongos C57BL/6J SPF (“Specific Patogen Free”) do sexo masculino, adultos. Foram utilizados 22 animais, divididos de forma aleatória em grupos experimental (n = 14) e controle (n = 8). Os camundongos foram anestesiados, colocados em um dispositivo esterotáxico e cirurgicamente injetados unilateralmente no corpo estriado 2 µl de uma solução de 0,2% de ácido L-ascórbico no Grupo Controle (GC) e 10 µg 6-hydroxydopamine (6-OHDA) em 0,9% NaCl e 0,2% ácido L-ascórbico, no Grupo Experimental (GE). Duas semanas após as micro-injeções cerebrais, os animais foram avaliados quanto à função motora geral e presença de sinais de parkinsonismo, realizados os testes: “Pole test”, “Cylinder test”, “Nest-building test”. Como resultado, os testes comportamentais confirmaram deficiências motoras leves nos camundongos GE, em comparação aos GC. Confirmada a presença de parkinsonismo, foram então realizados os registros dos movimentos respiratórios através de vídeos de raios-X em dois planos (lateral e horizontal) sem qualquer restrição. Foram realizadas medidas do ângulo do seio costofrênico durante a inspiração e expiração, da frequência respiratória e da extensão da excursão diafragmática. **Resultados:** Não encontramos alterações significativas (p<0,5) nas medidas de frequência respiratória e excursão diafragmática, encontrando apenas alterações significativas (p<0,5) nas medidas dos ângulos dos seios costofrênicos. **Conclusão:** os valores encontrados refletem características de padrão respiratório do tipo restritivo sendo este o fator determinante das alterações respiratórias dos animais estudados.

Palavras-chave: Doença de Parkinson, modelo experimental, excursão diafragmática.

ABSTRACT

Introduction: Parkinson's disease (PD) is a progressive neurodegenerative disorder that leads to degeneration of dopaminergic neurons of the substantia nigra. Respiratory disorders occur in most patients with PD, causing a decrease in compliance of the rib cage by increased stiffness, reduced air volume and flow rates of inspired air, fatigue and incoordination of diaphragmatic and accessory muscles. Furthermore, the mechanical restriction of diaphragmatic mobility promotes an imbalance in the ventilation/perfusion ratio, causing hypoventilation in pulmonary ventilation-dependent areas. **Objective:** The purpose of this study is to design an experimental model to describe the signs of disorder diaphragmatic excursion in Parkinson's disease (PD) in initial stages. Visa to the systematic investigation of the anatomy and physiology of diaphragmatic motion in a dynamic radiographic image recorded on video in two planes (horizontal and vertical). **Methods:** This research was conducted with C57BL/6J SPF ("Specific Pathogen Free") male adults. 22 animals randomly divided into experimental (n = 14) and control groups (n = 8) were used. The mice were anesthetized, placed in a stereotaxic device and surgically injected unilaterally in the striatum 2 μ l of a 0.2% solution of L-ascorbic acid in the Control Group (CG) and 10 μ g 6-hydroxydopamine (6-OHDA) in 0.9% NaCl with 0.2% L-ascorbic acid in the Experimental Group (EG). Two weeks after the cerebral micro-injections, the animals were evaluated for gross motor function and signs of parkinsonism, performed the tests: "Pole test", "Cylinder test", "Nest-building test". As a result, the behavioral tests confirmed mild motor impairments in EG mice, compared to the CG. After confirmation of parkinsonism, were then recorded respiratory movements through X-ray movies in two planes (lateral and horizontal) in mice without any restriction. Measurements of the costophrenic angle during inspiration and expiration, respiratory rate and diaphragmatic excursion were performed. **Results:** We found significant difference ($p < 0.05$) in the measurements of the angles of the costophrenic sinuses between EG and CG. **Conclusion:** these results reflect characteristics of a restrictive respiratory pattern as the determinant of the respiratory changes observed in the experimental animals.

Keywords: Parkinson's disease, animal model, diaphragmatic excursion.

1 INTRODUÇÃO

A Doença de Parkinson (DP) é uma enfermidade neurológica progressiva e idiopática (Silberman *et al.*, 2002; Kandinov *et al.*, 2007), sendo a segunda maior desordem crônica neurodegenerativa na atualidade, com prevalência de 1% a 2% da população mundial com mais de 50 anos de idade, tornando-se crescentemente mais comum com o avanço da idade (Thomas, 2007). Estudo brasileiro, de Barbosa *et al.*, (2005) aponta que 3,4% dos brasileiros com idade superior a 64 anos apresentam DP.

A interação entre fatores endógenos e exógenos tem sido associada ao aumento da toxicidade na região da substância negra localizada no mesencéfalo. A morte seletiva de neurônios dopaminérgicos nessa região e a redução de dopamina no corpo estriado estão relacionadas às graves perturbações motoras que caracterizam a DP (Blaszczyk *et al.*, 2007).

Suas principais características clínicas são tremor em repouso, bradicinesia, rigidez, alterações posturais e de equilíbrio, depressão, disartrofonias hipocinéticas, e disautonomia (André, 2004; Sanchez *et al.*, 2005). Afeta tanto homens como mulheres, na maioria das vezes após os 50 anos de idade (Schulz e Grant, 2000), ocorrendo em todos os países, grupos étnicos, e classes socioeconômicas (Schulz e Grant, 2000; Silberman *et al.*, 2002).

Suas repercussões ocorrem em todos os sistemas, incluindo o respiratório, o musculoesquelético, e o estomatognático. As disfunções respiratórias, de etiologia multifatorial, ocorrem na maioria dos pacientes com DP em estágios avançados (Alves *et al.*, 2005).

A capacidade vital sofre redução devido à queda na expansão torácica, em decorrência de rigidez dos intercostais e das posições de flexão do tronco com adução membros superiores. A complacência pulmonar e a complacência da parede torácica estão alteradas na DP. A capacidade pulmonar total (CPT), a capacidade residual funcional (CRF), bem como a capacidade vital (CV) ficam diminuídas (Slutzky, 1997). Para Slutzky (1997), essas alterações podem ser devidas à hipercifose torácica e a calcificação das cartilagens costais, que geram uma limitação da expansão do tórax com diminuição da capacidade respiratória máxima. Não é raro ocorrer infecções respiratórias em parkinsonianos, pela fraqueza e fadiga muscular e pelo quadro de inatividade física, ficando o paciente com uma maior predisposição a elas.

Conhecendo-se os efeitos da Doença de Parkinson (DP) no sistema respiratório e identificando a existência de alterações já durante as fases iniciais da doença, será possível minimizá-los, trazendo melhor qualidade de vida aos pacientes. Desta maneira, poderemos

evitar complicações do sistema respiratório, tais como infecções respiratórias e até mesmo pneumonias, que são a maior causa de mortalidades desses pacientes, iniciando-se precocemente medidas terapêuticas com o objetivo de se evitar que tais complicações ocorram.

Atualmente não há nenhuma droga ou abordagem cirúrgica que impede a progressão da doença, mas sabe-se que o tratamento medicamentoso, aliado às terapias, ameniza e retarda o curso da patologia.

A escolha para o tema proposto surgiu da experiência direta com pacientes portadores de DP e durante o levantamento bibliográfico sobre o tema. O número de relatos sobre os efeitos da mobilidade diafragmática nas terapias pulmonares na doença de Parkinson ainda é bastante restrito. Percebe-se que os estudos incluem populações sujeitas pequenas, deficiências metodológicas e não fornecem evidências de eficácia devido à falta de aferições pós terapêuticas. Assim como a maioria dos estudos encontrados em seres humanos, são em fases intermediárias da doença e com populações não homogêneas. A experimentação em seres humanos exige uma série de requisitos para resguardar a integridade física e psicoemocional dos investigados. A agressividade da doença pode não dar espaço para investigação de tratamentos alternativos sem grandes riscos para os investigados. Assim, a descrição de um modelo experimental contribuirá para a produção de pesquisas mais controladas e efetivas para o manejo das doenças respiratórias nos pacientes portadores da DP.

Assim, o objetivo do presente trabalho, foi concepção de um modelo experimental para descrever os sinais de desordem da excursão diafragmática na Doença de Parkinson na sua fase inicial da doença e que permita a produção de pesquisas efetivas para o estudo das funções do diafragma na Doença de Parkinson.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Concepção de um modelo experimental para descrever os sinais de desordem da excursão diafragmática na Doença de Parkinson na sua fase inicial da doença.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Testar e analisar os aspectos anatômicos e fisiológicos que marcam a mobilidade diafragmática durante a ventilação;
- Avaliar a influência da Doença de Parkinson, fase inicial, nas funções diafragmáticas e respiratórias durante a ventilação;
- Analisar, radiologicamente, parâmetros de mobilidade do diafragma e da ventilação pulmonar regional;
- Definir os aspectos que marcam as características típicas da diminuição da mobilidade diafragmática na Doença de Parkinson em suas fases iniciais;

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 DOENÇA DE PARKINSON

A Doença de Parkinson (DP) tem sido conhecida desde os tempos bíblicos, porém somente no século dezanove a síndrome foi descrita, pela primeira vez em 1817, pelo médico inglês James Parkinson, com o nome de “paralisia agitante” (Pereira *et al.*, 2000; Nicholson *et al.*, 2002).

Em 1879, Charcot observou características adicionais incluindo a disfunção autonômica. A associação entre a DP e a substância negra foi descoberta em 1893, porém somente no final da metade do século vinte que as características neuropatológicas e neuroquímicas foram elucidadas e novas estratégias de tratamento desenvolvidas (Nicholson *et al.*, 2002; Barbeau, 1962).

A DP é uma desordem neurodegenerativa caracterizada pela presença de corpos de Lewy e progressiva degeneração dos neurônios dopaminérgicos da substância negra, parte compacta, com perda de seus terminais nervosos nas estruturas dos núcleos da base (Gelb *et al.*, 1999).

Ao aparecerem os primeiros sintomas, a substância negra já perdeu cerca de 60% dos neurônios dopaminérgicos e o conteúdo de dopamina no estriado está aproximadamente 80% abaixo do normal (Duthie e Katz, 2002; Rowland, 2002).

3.1.1 Epidemiologia

A Doença de Parkinson é considerada cosmopolita, não apresentando distinção entre as classes sociais, ou entre raças; acometendo homens e mulheres, porém tende a ocorrer com maior frequência nos homens (Limongi, 2001). Em alguns casos, a DP pode manifestar-se também em indivíduos com menos de 40 anos, caracterizando a DP Precoce (Barbosa e Sallem, 2005).

A prevalência global da DP é estimada 0,2%, mas aumenta com o avançar da idade, afetando 0,5-1% dos indivíduos com idade entre 65-69 anos e 1-3% dos indivíduos com idade superior a 80 anos (Tanner e Goldman, 1996). Sua incidência é menor entre asiáticos e negros africanos, sendo maior entre brancos (Nicholson *et al.*, 2002).

Atualmente, nos Estados Unidos, estima-se que existam 800.000 pessoas com essa doença; a incidência é de 4,5 a 20,5 e a prevalência é de 31 a 347 por cada 100.000 indivíduos. A incidência aumenta com a idade avançada, e estima-se que um, em cada três adultos acima dos 85 anos, terá essa doença (Umphred, 2004).

A quantidade de idosos com mais de 60 anos vem aumentando, bem como a expectativa de vida dos brasileiros. Assim, é possível teorizar que a DP pode provocar um impacto nas estruturas econômicas, sociais e de saúde, o que necessitará de um maior conhecimento acerca da DP e um melhoramento do planejamento de saúde pública. Além disso, estima-se que em 2020 aproximadamente 40 milhões de pessoas no mundo terão desordens motoras secundárias à DP (Silberman *et al.*, 2002).

3.1.2 Etiologia

O parkinsonismo corresponde a uma série de alterações funcionais, decorrentes de disfunções nos núcleos da base, relacionadas ao controle motor, repercutindo por meio de sinais e sintomas como tremor de repouso, rigidez, bradicinesia, acinesia, alterações e instabilidade posturais, e *freezing* (bloqueio motor) (Yarnall *et al.*, 2012), com repercussões nos sistemas respiratório, musculoesquelético e estomatognático (Olanow *et al.*, 2009).

Embora a etiologia da doença permaneça obscura, fatores de risco como a herança genética e a exposição a toxinas já são descritos na literatura (Hughes *et al.*, 1992; Blum *et al.*, 2001). A idade, porém, é o fator de risco mais consistente.

A perda das células da substância negra é o achado mais consistente na DP e normalmente a quantidade de células diminuem de 425.000 para 200.000 aos 80 anos. Na DP

a substância negra demonstra uma perda de células maior, diminuindo para valores menores que 100.000 com substituição de gliose (Fearnley e Lees, 1991). Além disso, a tirosine beta-hidroxilase, responsável pela síntese da dopamina, também diminui. Entretanto, o padrão da perda de células negras na DP difere da perda natural com a idade. Na DP, a perda de células é predominantemente da camada ventrolateral e caudal da substância negra, porém essa região é relativamente poupada em idosos normais (Nicholson *et al.*, 2002; Fearnley e Lees, 1991). O grau de perda de terminais no estriado parece ser mais pronunciada do que a magnitude da perda de neurônios dopaminérgicos na substância negra, sugerindo que os terminais nervosos dopaminérgicos do estriado são o alvo primário do processo degenerativo e que a morte neuronal na DP pode ser resultado de um processo "dying back" (morte retrógrada) (Nicholson *et al.*, 2002).

Depois da idade, a história familiar é o preditor mais consistente no aumento do risco de desenvolvimento da doença. Vários genes são implicados na patogênese da DP como alfa-sinucleína, PARKIN, PINK1, DJ-1. Os genes PARKIN, PINK1, DJ-1 são responsáveis por ajudar a manter a integridade da mitocôndria e conseqüentemente da célula. A maioria das evidências existentes apóia a herança autossômica dominante da doença, porém muitos pacientes não apresentam este padrão de herança genética. Isso demonstra o fato de que os genes têm baixa penetração ou que a doença é multifatorial. A descoberta de duas mutações no gene alfa-sinucleína parecem ser o maior avanço nos estudos sobre a doença. (Nicholson *et al.*, 2002). A acumulação de alfa-sinucleína é uma das características patológicas das doenças neurodegenerativas designadas por sinucleinopatias, nas quais se inclui a DP. Nesta patologia, a proteína alfa-sinucleína na forma fibrilar é a principal componente dos Corpos de Lewy (CL) (Goedert, 2001).

A alfa-sinucleína é uma proteína que está primariamente presente nos terminais pré-sinápticos, mas que apresenta também uma localização nuclear e, mais recentemente, foi detectada na mitocôndria. O gene que codifica para a alfa-sinucleína, designado por SNCA ou PARK1, está localizado no cromossoma 4q21 (Liu *et al.*, 2009; Yu *et al.*, 2007). Em condições patológicas, a alfa-sinucleína desordenada pode sofrer alterações conformacionais, depositar-se e agregar-se. Tal como referido anteriormente, fibrilas de alfa-sinucleína são encontradas nos corpos de Lewy, que estão descritos como uma possível base da neurodegenerescência associada à DP (Sidhu *et al.*, 2004). A deleção do gene da alfa-sinucleína conduz a um aumento da libertação de dopamina nos terminais nigroestriatais, sugerindo que a alfa-sinucleína pode participar como modulador negativo da neurotransmissão da dopamina. A expressão da alfa-sinucleína também altera a captação de dopamina

pelo transportador da membrana, enfatizando deste modo um papel importante na neurotransmissão da dopamina (Sidhu *et al.*, 2004). A atividade catalítica da tirosina hidroxilase, a principal enzima envolvida na síntese da dopamina, é também regulada pela alfa-sinucleína, e parece desempenhar um papel chave na fosforilação da enzima tirosina hidroxilase e, conseqüentemente, na síntese da dopamina nos neurônios dopaminérgicos (Drolet *et al.*, 2006). A alfa-sinucleína está ainda diretamente envolvida no recrutamento da dopamina e na compartimentalização pré-sináptica da mesma. Mais ainda, pensa-se que a interação da alfa-sinucleína com as vesículas sinápticas poderá ser crítica para a sua função normal e influenciar o seu papel patológico na DP (Perfeito e Rego, 2011).

Além dos fatores genéticos monogênicos, existe uma hipótese que propõe que doenças neurológicas mais frequentes, como a DP, podem ser determinadas pelo efeito de variantes genéticas comuns na população. Essas variantes genéticas comuns podem apresentar fatores de suscetibilidade ou modificadores da enfermidade, afetando a penetrância, a idade de manifestação, a severidade e a progressão da doença. Essas variantes foram, recentemente, identificadas como sendo fatores de risco genético para o desenvolvimento da DP (Bonifati, 2010).

A DP teve sua primeira definição durante a revolução industrial, o que sugere que toxinas ambientais podem desempenhar papel na sua patogênese (Fornai *et al.*, 2005). A descoberta de que o MPTP (1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetraidropiridina) induz ao parkinsonismo reforçam esta teoria. O ambiente rural tem sido associado a um aumento no risco de desenvolvimento da DP, sugerindo que certos pesticidas e herbicidas podem ter um papel etiológico, devido a presença de MPTP e MPP⁺ (1-metil-4-fenilpiridínio) em suas composições, embora isto seja limitado a aproximadamente 10% dos pacientes com DP (Semchuck *et al.*, 1992).

As primeiras evidências de disfunção mitocondrial apareceram após observação de um grupo de toxicodependentes expostos acidentalmente ao MPTP. Uma vez no cérebro, o MPTP é metabolizado em 1-metil-4-fenil-2,3-dihidropiridínio (MPDP⁺) pela monoamina oxidase B (MAO B), que está localizada na membrana externa da mitocôndria. O MPDP⁺ é depois espontaneamente oxidado em 1-metil-4-fenilpiridínio (MPP⁺), a neurotoxina ativa. O MPP⁺ é internalizado pelos neurônios dopaminérgicos nigroestriatais através dos transportadores da dopamina (para os quais o MPP⁺ tem uma grande afinidade), localizados nos terminais nervosos do estriado. Este processo tem várias conseqüências prejudiciais para a célula: um aumento da produção de espécies reativas de oxigênio, levando ao estresse oxidativo; um decréscimo da produção de adenosina trifosfato (ATP); um aumento

intracelular da concentração de cálcio; excitotoxicidade e danos celulares relacionados com o aumento de óxido nítrico (Abou-Sleiman *et al.*, 2006). O MPP+ decresce igualmente os níveis de dopamina no estriado, levando ao aparecimento dos sintomas característicos da DP (Fornai *et al.*, 2005).

Os possíveis mecanismos que levam a morte neuronal envolvem: estresse oxidativo, disfunção mitocondrial, agregação de proteínas, alterações inflamatórias e excitotoxicidade (Schapira e Jenner, 2011).

A mitocôndria tem a chave reguladora da sobrevivência e da morte celular. Na DP existe uma deficiência do complexo 1 da mitocôndria na substância negra. Tanto a neurotoxina MPTP age como inibidora do complexo 1 da mitocôndria levando à degeneração dopaminérgica, como também o gene PARKIN produz alterações mitocondriais e suas mutações causam disfunção mitocondrial com declínio da produção de ATP e aumento da geração de radicais livres resultando em estresse oxidativo e morte neuronal (Ali *et al.*, 2011).

O achado de neuroinflamação com ativação microglial na substância negra em pacientes com DP inferem que a mesma pode contribuir para a progressão da doença, porém não se sabe se a ativação da micróglia é a causa primária da morte celular dopaminérgica ou é uma resposta do organismo à perda neuronal (Schapira e Jenner, 2011).

Evidências vinculando a DP a fatores alimentares são inconclusivos, embora um estudo encontrou baixos níveis de vitamina E em pacientes com Parkinson quando comparados ao grupo controle (Derijk *et al.*, 1997).

Em geral, a maioria dos casos de DP são o resultado de uma combinação de fatores genéticos e ambientais e isso difere entre indivíduos. Mutações genéticas podem predispor ao desenvolvimento da DP se combinada com outras mutações genéticas ou fatores ambientais (Nicholson *et al.*, 2002).

3.1.3 Fisiopatologia

A doença é degenerativa e progressiva do sistema nervoso central e se inicia nos núcleos motores dorsais dos nervos glossofaríngeo e vago e no núcleo olfativo anterior. A degeneração segue um trajeto ascendente a partir do tronco encefálico. A primeira estrutura a ser afetada seria o núcleo do décimo nervo craniano, que dá origem ao nervo vago. Em seguida seriam afetados o *locus coeruleus*, os núcleos da Rafe e o pedúnculo pontino. Por fim, o avanço da doença chegaria a atingir a substância negra, e portanto os núcleos da base, e outras estruturas próximas (Braak *et al.*, 2004). Estes achados levantam a possibilidade de que

os mecanismos do controle ventilatório presentes no tronco encefálico, também podem ser afetadas na DP, e devem ser mais evidentes em pacientes que estejam, nos estágios da doença considerados leve a moderado (Seccombe *et al.*, 2011).

Os núcleos da base (NB) são uma coleção de massas nucleares de substância cinzenta interligadas, localizadas profundamente na base do cérebro. Considera-se atualmente que sejam compostos do caudado e do putâmen (coletivamente denominados *striatum* ou corpo estriado) mais o globo pálido, núcleo subtalâmico e a substância negra. O corpo estriado é a porta de entrada aos NB, uma vez que recebe o influxo de informação que vem de inúmeras regiões do córtex cerebral. Do estriado emergem axônios que se projetam aos demais NB, para possibilitar o controle do movimento e outras funções. O globo pálido recebe fibras aferentes do estriado e do núcleo subtalâmico, seu núcleo externo se projeta ao núcleo subtalâmico e o interno ao tálamo, que por sua vez, envia fibras para as áreas motoras do lobo frontal. Portanto, o globo pálido representa o estágio final do processamento da informação que os NB realizam (Lent, 2010).

Os NB têm um papel importante na produção dos movimentos voluntários e controle dos ajustes posturais associados aos mesmos. Sua ação ocorre através de duas vias principais, que se diferenciam quanto à expressão de neurorreceptores, além da dopamina presente em ambas. Uma via direta, excitatória, que facilita o movimento; e outra indireta, inibitória, que promove sua inibição (O'sullivan e Schmitz, 2004; Lent, 2010).

Os NB não possuem conexão direta com os neurônios motores espinhais e, por conseguinte, não controlam diretamente os movimentos individuais dos músculos. Sua função consiste em auxiliar a aprendizagem dos padrões coordenados de movimento e facilitar a execução dos padrões motores aprendidos. A dopamina (DA) desempenha um papel central na operação desse sistema ao sinalizar quando movimentos desejados são executados com sucesso e impulsionando o processo de aprendizagem. O equilíbrio de atividade entre as vias direta e indireta regula o movimento (Figura 1). A via direta, formada por neurônios estriatais que expressam receptores D1 de dopamina, projeta-se diretamente para a saída dos núcleos basais, o segmento interno do globo pálido. Estes últimos neurônios inibem tonicamente o tálamo, que, por sua vez, envia projeções excitatórias ao córtex que dão início ao movimento. A ativação da via direta, dessa forma, desinibe o tálamo, isto é, a via direta estimula o movimento. A via indireta, formada por neurônios estriatais que expressam predominantemente receptores D2, projeta-se para o segmento externo do globo pálido, que, por sua vez, inibe neurônios no núcleo subtalâmico. Os neurônios no núcleo subtalâmico são neurônios glutamatérgicos excitatórios que se projetam para o segmento interno do globo

pálido. Em consequência dessa via em múltiplas etapas, a ativação da via indireta desinibe os neurônios do núcleo subtalâmico, que, estimulam neurônios no segmento interno do globo pálido a inibir o tálamo, isto é, a via indireta inibe o movimento (Standaert e Galanter, 2012).

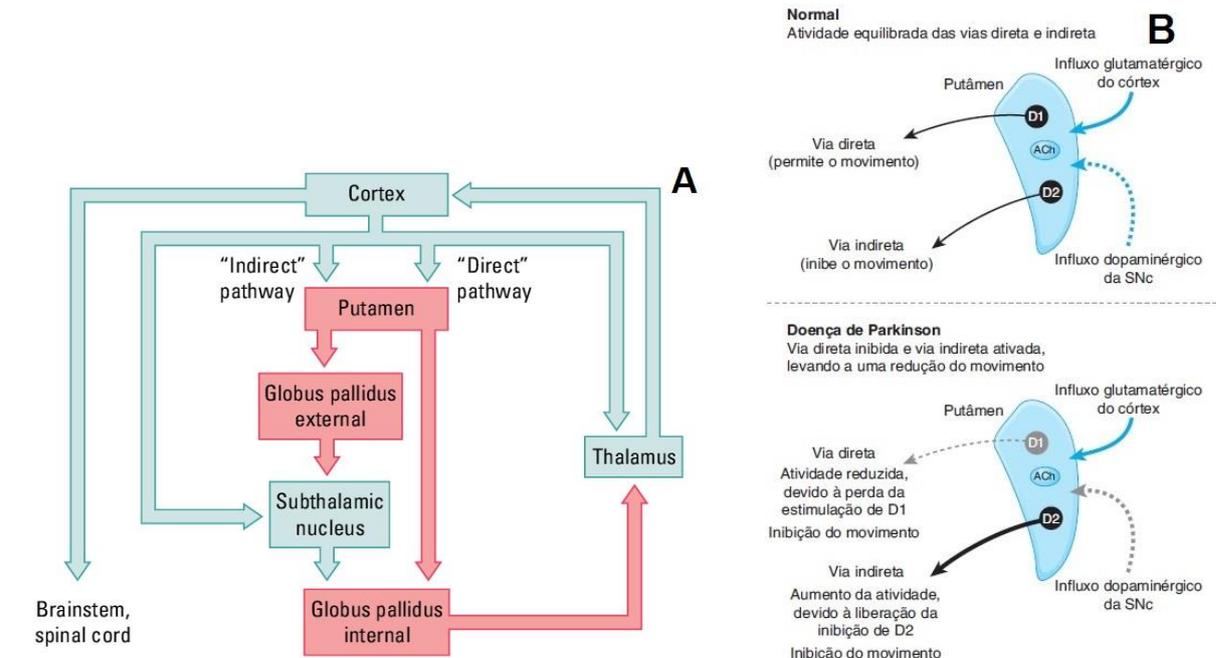


Figura 1: Efeito da doença de Parkinson sobre as vias dopaminérgicas que regulam o movimento. **A)** Duas vias principais nos núcleos da base regulam o movimento: a via indireta ("Indirect pathway"), que inibe o movimento, e a via direta ("Direct pathway"), que permite a realização de movimento. A dopamina inibe a via indireta e estimula a via direta, resultando em uma tendenciosidade efetiva que permite o movimento voluntário. Os neurônios das vias tanto direta quanto indireta no putâmen recebem influxos do sistema dopaminérgico nigroestriatal e dos sistemas glutamatérgicos corticais, processam esses influxos no contexto de influências colinérgicas locais (ACh) e transmitem um efluxo GABAérgico. **B)** A degeneração dos neurônios dopaminérgicos na substância negra parte compacta (SNc) resulta em estimulação deficiente da via direta (que permite o movimento) e inibição insuficiente da via indireta (que inibe o movimento). O resultado final consiste em escassez de movimento. A seta cinza pontilhada indica uma atividade diminuída causada pela estimulação deficiente, enquanto a seta preta espessa indica aumento de atividade produzido pela inibição insuficiente. Fonte: adaptado de Standaert e Galanter, 2012; Kolb e Whishaw, 2013.

A DP decorre da destruição generalizada da parte da substância negra, parte compacta, que envia fibras nervosas secretoras de dopamina para o núcleo caudado e para o putâmen. Com a degeneração desses neurônios dopaminérgicos, ocorre um desequilíbrio entre as vias direta e indireta, o caudado e o putâmen ficam excessivamente ativos, causando assim, saída contínua de sinais excitatórios para o sistema de controle motor corticoespinal. (Guyton e Hall, 2002).

Um dos achados fisiopatológicos mais freqüentes na DP é a presença de inclusões citoplasmáticas nucleares chamadas de corpúsculos de Lewy (CL) (Togo *et al.*, 2001; Dauer e Przedborski, 2003), formados principalmente pela proteína neural chamada alfa-sinucleína.

Esses agregados protéicos acumulam-se nos neurônios, onde ao ultrapassar um determinado limiar acarretam neurotoxicidade com conseqüente morte neuronal e concomitante redução da aferência dopaminérgica para o estriado (Koo *et al.*, 2008). A deposição de alfa-sinucleína tem início em regiões olfatórias e segue uma via ascendente progredindo para a região anterior do córtex e, posteriormente, para os NB. Na realidade acredita-se que as formações dos CL ocorrem como resposta citoprotetora responsável por sequestrar e degradar níveis excessivos de proteínas anormais potencialmente tóxicas dentro das células neuronais. Na verdade formam-se primeiramente os chamados agressomas, inclusões citoplasmáticas formadas ao nível dos centrossomas, que tem uma estreita relação com os CL. Dessa forma, tem-se definido que os CL não seriam marcadores neuropatológicos da DP, e sim uma resposta citoprotetora dos neurônios dopaminérgicos (Dauer e Przedborski, 2003).

Na DP o neurotransmissor dopamina (DA) influencia o funcionamento da via direta ativada através da projeção córtico-estriatal, que é inibitória, ocorrendo uma pausa no globo pálido interno, que libera o tálamo excitando o córtex cerebral. Por sua vez, a ativação da via indireta inibe o globo pálido interno, resultando a inibição do tálamo com projeção tálamo cortical. Em conseqüência ao exposto, os dois sistemas, direto e indireto, apresentam efeitos antagônicos nas células do tálamo (o direto facilitando o movimento e o indireto suprimindo movimentos involuntários indesejados). A DA influencia o funcionamento desse circuito, mas com o seu déficit a via direta que facilita o movimento fica inibida e a via indireta que é normalmente inibitória encontra-se ativada (Limongi, 2001). Dessa forma, as ordens para o movimento acontecer são passadas de forma distorcida.

Em pacientes parkinsonianos, além do decréscimo de DA na via nigroestriatal, também pode ocorrer degeneração de neurônios dopaminérgicos na área tegmental ventral (ATV), redução da noradrenalina nos neurônios do *locus coeruleus*, perda de serotonina no núcleo da rafe e redução de acetilcolina no núcleo basal de Meynert. Ocorre também uma diminuição na atividade da enzima glutamato descarboxilase, enzima responsável pela biossíntese do ácido gama-aminobutírico (GABA), que pode ser conseqüência da neurodegeneração dos neurônios dopaminérgicos da via nigroestriatal (Gerlach e Riederer, 1996). A neurodegeneração e formação de CL também ocorrem no córtex cerebral, bulbo olfatório e sistema nervoso autônomo e a degeneração das estruturas do hipocampo e dos estímulos corticais colinérgicos contribuem para elevada taxa de demência que acompanha a DP (Dauer e Przedborski, 2003).

3.1.4 Manifestações Clínicas

Os sinais clássicos da doença de Parkinson compreendem rigidez, tremor, bradicinesia, fácies amímica e, em alguns casos, disfunção cognitiva e evolução para quadros demenciais. A esse conjunto de sinais e sintomas denomina-se “síndrome parkinsoniana” ou “parkinsonismo” (Stefani e Barros, 2002).

Tremor em repouso: é o sintoma inicial em cerca de 50% dos pacientes, ocorre a uma frequência de 4-5 Hz e está presente nas extremidades, quase sempre distalmente. Descrita como de repouso que se exacerba durante a marcha, no esforço mental e em situações de tensão emocional. Desaparece à ação, mas ressurgir quando os membros mantêm uma postura (Rowland, 2002; Duthie e Katz, 2002).

Rigidez: caracterizada por uma resistência aumentada ao movimento passivo por toda a amplitude de movimento, é global e plástica, caracterizada pela permanência dos membros nas atitudes posturais que lhe são impostas. O tônus muscular é aumentado, mas a resistência ao movimento passivo em uma determinada articulação é uniforme através de todo o curso do movimento. Dois tipos de rigidez parkinsoniana são descritos: o de “cano de chumbo”, onde a resistência é suave e plástica, e o da “roda dentada”, onde a resistência ao movimento é intermitente, revelando movimentos fragmentados (André, 2004; Haase, Machado e Oliveira, 2008). Da mesma forma que a rigidez se apresenta nos músculos, apresenta-se nos órgãos internos, como fígado, estômago e intestino, tornando-os mais lentos (Braga *et al.*, 2002)

Bradicinesia e acinesia: A acinesia pode ser definida como incapacidade na iniciação do movimento ou demora no tempo de reação, enquanto bradicinesia se refere à lentidão no movimento e tem muitas facetas, dependendo das regiões corporais comprometidas. A face perde a expressão espontânea (hipomímia), com diminuição da frequência do piscar. A fala torna-se baixa (hipofonia) e a voz tem um tom monótono (Ferreira *et al.*, 2007; Rowland, 2002). A bradicinesia da mão dominante acarreta uma escrita à mão com letra pequena e lenta (micrografia) e dificuldade em atividades da vida diária. O andar se torna lento, com um passo mais curto e uma tendência a arrastar os pés; a oscilação dos braços diminui e acaba por desaparecer. Apresentam incapacidade de deglutir espontaneamente. O paciente consegue deglutir de maneira apropriada quando solicitado a fazê-lo (André, 2004; Rowland, 2002)

Perda de reflexos posturais: é a postura em flexão, resulta na dificuldade de endireitar o tronco, que se inicia nos braços e se dissemina até comprometer todo o corpo (Rowland, 2002). A cabeça inclina-se, o corpo dobra-se para frente, as costas entram em

cifose, os braços são mantidos à frente do corpo e cotovelos, quadris e joelhos fletidos (Haase, Machado e Oliveira, 2008; Ferreira *et al.*, 2007). Isso acaba ocasionando quedas e finalmente uma incapacidade de ficar de pé sem o auxílio. Na posição ortostática, há uma ligeira flexão em todas as articulações, levando a uma “postura simiesca”, com joelhos e quadris um pouco flexionados, ombros arqueados e a cabeça para frente. Na posição sentada, o paciente tende a afundar na cadeira, deslizando para os lados e com a cabeça pendendo para frente (Stokes, 2000). O andar é marcado por festinação, aceleração involuntária da marcha, tentando mover os pés para frente para ficar sob o centro de gravidade do corpo flexionado, evitando assim a queda (Ferreira *et al.*, 2007).

Fenômeno do congelamento: é uma incapacidade transitória de executar movimentos ativos. O congelamento ocorre tipicamente quando o paciente começa a caminhar (“hesitação de partida”), e tem medo devido a sua incapacidade de lidar com barreiras percebidas ou atividades com tempo limitado. A combinação de congelamento e perda de reflexos posturais é particularmente devastadora (Rowland, 2002).

Disfunções autonômicas: Acredita-se que o envolvimento do sistema nervoso autônomo (SNA) na DP possa decorrer da própria doença, da medicação em uso ou de uma combinação destes fatores. Sabe-se, também, que o desempenho do SNA é comprometido com o envelhecimento. Entretanto, a verdadeira conexão entre a DP e as alterações do SNA permanece obscura, assim como não existe unanimidade quanto à exata correlação entre os distúrbios autonômicos, a duração, a gravidade e a terapêutica utilizada no tratamento da doença. Dentre essas manifestações, podemos citar: livedo reticular, oleosidade, distúrbios da termorregulação - intolerância ao calor ou sudorese excessiva, distúrbios vasomotores, hipotensão ortostática, hipotensão pós-prandial, arritmias cardíacas, dispnéia, disfagia, sialorréia, constipação intestinal, disfunção vesical e impotência sexual (Nicaretta *et al.*, 1998). Há evidências de denervação simpática do coração e envolvimento do sistema nervoso simpático periférico nesses pacientes, fato que explicaria a queixa de fadiga crônica (Moreira *et al.*, 2007).

A cognição também é afetada, mas geralmente não de maneira grave como visto na doença de Alzheimer. Aos sintomas comumente se associam alterações cognitivas e de comportamento, como tendência ao isolamento, ansiedade, distúrbios do sono, fadiga, problemas de memória e depressão, favorecendo o sedentarismo e a dependência e interferindo na percepção de sua qualidade de vida (Goulart *et al.*, 2005).

Tabela 1: Distúrbios não-motores na Doença de Parkinson

Anormalidades Neurocomportamentais
Alterações na personalidade (apatia, falta de confiança, medo excessivo, ansiedade, labilidade e inflexibilidade emocionais, abstinência social, dependência)
Demência (anomia parcial, desorientação espacial, paranóia, psicose, alucinações)
Bradifrenia (lento processo de pensamento, perda de concentração, dificuldade na formação de conceitos)
Depressão
Distúrbios do sono
Disfunção sexual
Efeitos colaterais psiquiátricos do tratamento
Outras Manifestações
Disfunção autonômica (hipotensão ortostática, desregulação respiratória, vermelhidão, "suores encharcantes", conspitação, disfunções esfinteriana e sexual).
Sintomas sensoriais (parestesias, dores, acatisia, disfunção visual, olfativa e vestibular)
Seborréia, edema podal, fadiga, perda de peso

Fonte: adaptado de Jankovic J. Parkinsonismo. In: Cecil Tratado de Medicina Interna, 22ª Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005 p.2697

3.1.5 Classificação

Define-se parkinsonismo como uma ampla categoria de doenças que apresentam uma síndrome clínica semelhante à doença de Parkinson, com a presença de tremor em repouso, rigidez muscular plástica, bradicinesia e instabilidade postural. Associados a esses podem ser encontrados sinais piramidais, alterações da motilidade ocular extrínseca, sinais cerebelares, disfunção autonômica, neuropatia periférica e disfunção cognitiva. (Meneses e Teive, 2003).

O parkinsonismo pode ser dividido em primário ou idiopático, secundário, familiar e *plus* (Pereira *et al.*, 2003; André, 2004).

O parkinsonismo idiopático corresponde a 75% dos casos, é a DP em si. Evidenciam-se com frequência sintomas em apenas um lado do corpo (Rowland, 2002). O parkinsonismo primário divide-se ainda em dois subgrupos clínicos distintos: parkinsonismo juvenil, de início precoce (entre 21 e 40 anos de idade), inclui indivíduos cujos sintomas dominantes são instabilidade postural e distúrbios da marcha; outro, indivíduos nos quais o tremor é a principal característica (tremor predominante) (O'sullivan e Schmitz, 2004), DP com tremor predominante (DP benigna) e DP com instabilidade postural e distúrbios de marcha (DP maligna) (Pereira *et al.*, 2000).

No parkinsonismo secundário há uma causa específica ou reconhecida por condições suspeitas, como infecções, medicamentos, hidrocefalia, doença vascular cerebral, traumatismo

cranioencefálico, processos expansivos do SNC, acidentes traumáticos, neoplasias e condições hereditárias (Pereira *et al.*, 2000).

As drogas que bloqueiam os receptores dopaminérgicos, como os neurolépticos, e os antivertiginosos (bloqueadores de canais de cálcio), como a funarizina e a cinarizina, são as que mais se destacam (Nitrini e Bacheschi, 2003). Altas doses desses medicamentos são problemáticas nos idosos e a gravidade dos efeitos observados pode estar relacionada com doença de Parkinson subclínica. A retirada desses agentes geralmente reverte os sintomas após poucas semanas, embora em alguns casos os efeitos possam perdurar (O'Sullivan e Schmitz, 2004).

Parkinsonismo plus ou sintomático ou degeneração de múltiplos sistemas é a denominação empregada para caracterizar quadros neurológicos em que uma síndrome parkinsoniana está associada a distúrbios autonômicos, cerebelares, piramidais, de neurônio motor inferior, ou, ainda, de motricidade ocular extrínseca (Nitrini e Bacheschi, 2003). Ocorre em associação com sinais e sintomas de outros distúrbios neurológicos (Greenberg *et al.*, 2003). Causado por atrofia de múltiplos sistemas (degeneração estriatonigral, atrofia olivopontocerebelar e síndrome de Shy-Drager), paralisia supranuclear progressiva, degeneração córtico-basal, demência dos corpos de Lewy (Nitrini e Bacheschi; Rowland, 2003), Lytico-Bodig, doença do neurônio motor, atrofia palidal progressiva, demência frontotemporal e doença de Alzheimer. Normalmente não apresenta melhora mensurável com a administração de medicamentos anti-Parkinson, como a levodopa (O'Sullivan e Schmitz, 2004).

O Parkinsonismo erodegenerativo ou familiar é causado por doença de Hallervorden- Spatz, doença de Huntington, Lubag (distonia-parkinsonismo ligada ao X), citopatias mitocôndrias com necrose estriada, neuroacantocitose e doença de Wilson (Rowland, 2002). Raramente o parkinsonismo ocorre em base familiar. As mutações no gene parkina (6q25.2-q27) são a principal causa de parkinsonismo familiar autossômico recessivo de início precoce e de doença de Parkinson juvenil esporádica (Greenberg *et al.*, 2003).

3.1.6 Estágios

A DP possui evolução progressiva, tendendo a acentuar os déficits motores; conseqüentemente, a doença pode ser classificada em estágios, pela sua complexidade utilizando-se a descrição dos Estágios de Função Motora de Hohen e Yahr: I e II leves, III moderado, e IV e V severos (Goulart *et al.*, 2004).

A escala de Hoehn e Yahr (HY – *Degree of Disability Scale*) foi criada em 1967 e indica o estado geral do paciente. Essas escalas avaliam desde a condição geral, incapacidade, função motora e mental até a qualidade de vida dos pacientes. Em sua forma original, compreende cinco estágios de classificação para avaliar a severidade da DP e abrange, essencialmente, medidas globais de sinais e sintomas que permitem classificar o indivíduo quanto ao nível de incapacidade. Os sinais e sintomas incluem instabilidade postural, rigidez, tremor e bradicinesia (Goulart *et al.*, 2004; Ferreira *et al.*, 2007).

Uma versão modificada da HY foi desenvolvida mais recentemente e inclui estágios intermediários. Para avaliar a instabilidade postural, empurra-se bruscamente o paciente para trás a partir dos ombros (teste do empurrão). O paciente com resposta normal recupera o equilíbrio dando três passos para trás ou menos. O paciente que “se recupera na prova do empurrão” (estágio 2,5) dá mais do que três passos, mas recupera o equilíbrio sem ajuda. Pacientes com instabilidade podem cair se não forem amparados pelo examinador (Goulart *et al.*, 2005).

Tabela 2: Classificação de Hoehn e Yahr (Modificada)

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

Fonte: Haase, Machado e Oliveira (2008).

3.1.7 Distúrbios respiratórios na Doença de Parkinson

Os distúrbios respiratórios na DP têm sido evidenciados desde as descrições iniciais da doença em 1817 e as complicações respiratórias, principalmente a pneumonia aspirativa e a embolia pulmonar, são as causas mais comuns de óbito nesses pacientes (Nicholson *et al.*, 2002). Entretanto, muitas vezes os sintomas respiratórios podem não serem relatados pelos pacientes uma vez que esses pacientes acabam por reduzir seus níveis de atividade, levando

uma vida muito sedentária, não realizando atividades físicas que solicitem esforço físico suficiente para desencadear adaptações respiratórias e manifestações de disfunção respiratória, chegando a ponto de nunca experimentar nenhum sintoma respiratório (De Bruin *et al.*, 1993).

A etiologia das disfunções respiratórias permanece desconhecida, sendo considerada multifatorial, ocorrem na maioria dos pacientes com DP, possivelmente em virtude da fisiopatologia complexa, dos poucos estudos investigativos, e, ainda, pelo fato de que as suas repercussões podem ser assintomáticas. (Haas *et al.*, 2004). O grau de comprometimento é compatível com o estágio da doença, evidenciando que as condições funcionais respiratórias decrescem proporcionalmente à evolução da DP (Bogaard *et al.*, 1989; Cardoso e Pereira, 2000).

De acordo De Bruin *et al.* (1993), poucos estudos descrevem detalhadamente as alterações respiratórias na DP, a maioria dos estudos relata taquipnéia, dispnéia e irregularidades do ritmo respiratório, função pulmonar restritiva, disfunção das vias aéreas superiores, assim como diminuição das pressões respiratórias máximas (P_{Imáx} e P_{Emáx}).

Os distúrbios respiratórios na DP podem ser explicados por diversos mecanismos tais como perda da flexibilidade da musculatura respiratória, alterações posturais, alterações na ativação e coordenação muscular e envolvimento das vias aéreas superiores a nível de estruturas glóticas e supraglóticas (De Bruin *et al.*, 1993; Bogaard *et al.*, 1989).

Cardoso e Pereira (2002) concluíram em seu estudo que a doença de Parkinson causa alterações da função respiratória. A postura em flexão e a rigidez da musculatura intercostal comprometem a mobilidade da caixa torácica, com conseqüente diminuição da expansibilidade pulmonar na inspiração e da depressão torácica na expiração, levando a uma limitação progressiva da ventilação (Stokes, 2000).

A complacência pulmonar diminui pela limitação na extensão de tronco e da amplitude articular do tórax e da coluna vertebral (Brown, 1994), o que repercute na inspiração e na expiração reduzindo a capacidade vital. Portanto, a amplitude torácica diminuída em decorrência da postura em flexão do tronco e a degeneração ósteo-articular, alteram o eixo da coluna vertebral (Cardoso e Pereira, 2002; Ferreira *et al.*, 2012). O tórax rígido e resistente aos movimentos rápidos acarreta limitação progressiva da ventilação, a fixação postural em flexão e a rigidez da musculatura intercostal comprometem a mobilidade da caixa torácica (Macintosh, 1977). Essa diminuição da complacência da caixa torácica com diminuição do volume de ar e das taxas de fluxo de ar inspirado, somados a fadiga e incoordenação do músculo diafragmático e músculos acessórios, funcionam como um grande indicador de doença neuromuscular (Canning, 1997; Sathyaprabha *et al.*, 2005).

Existem evidências de que uma anormalidade no controle e função das vias aéreas superiores pode ser responsável pela limitação ao fluxo de ar presente nas doenças extrapiramidais. Consta-se que essa obstrução grave das vias aéreas superiores, sendo a maior anormalidade pulmonar. Os músculos intrínsecos da laringe, e provavelmente toda a musculatura das vias aéreas superiores, estão afetados pelos movimentos involuntários característicos da DP. A disfunção das vias aéreas superiores é um fator importante na retenção de secreções, atelectasias, aspiração e infecções respiratórias nos pacientes com DP (Easdown *et al.*, 1995).

A força de contração da musculatura respiratória encontra-se comprometida uma vez que a imobilidade e a rigidez generalizada dos músculos responsáveis pela respiração dificultam a expansão do conjunto tórax-abdômen, bem como diminuem a força muscular (Parreira *et al.*, 2003; Sathyaprabha *et al.*, 2005). A fraqueza da musculatura respiratória, especialmente da expiratória, pode ocasionar redução da pressão expiratória máxima, menores fluxos expiratórios, bem como aumento do volume residual, estando possivelmente correlacionada ao agravamento da doença (Bogaard *et al.*, 1989; De Bruin *et al.*, 1996). A presença de fraqueza dos músculos respiratórios é consistente com a redução da capacidade de realização de manobras expiratórias forçadas. A fraqueza muscular em pacientes com DP restringe a capacidade de superar a rigidez e contribui para a redução do volume pulmonar e da pressão respiratória, o que irá impactar na deglutição, tosse e fonação (Silverman *et al.*, 2006). O mecanismo responsável pelas alterações nas pressões respiratórias ainda não está bem definido, e estão descritos em grande parte dos pacientes com DP. A maioria sugere que essas alterações encontradas são resultado das deformidades presentes na coluna e caixa torácica, muito comuns nesses pacientes (Sabaté *et al.*, 1996).

3.2 DIAFRAGMA

O diafragma é um músculo grande, em forma de cúpula responsável por 75% do aumento do volume pulmonar durante uma inspiração tranqüila, e separa o tórax da cavidade abdominal. É innervado pelos dois nervos frênicos, que deixam a medula espinhal entre o terceiro e quinto segmento cervical (Levitzky, 2004). As suas fibras se convergem formando uma bainha conjuntiva larga denominada tendão central (Scanlan, Wilkins e Stoller, 2000).

As fibras musculares do diafragma se inserem no esterno, nas seis costelas inferiores e na coluna vertebral por meio de dois pilares. As outras extremidades dessas fibras convergem para se fixar no tendão central fibroso (Levitzky, 2004).

Durante a inspiração, as costelas mais inferiores são fixadas, ocorrendo a contração das fibras musculares e tração do tendão central para baixo e para frente, a contração do diafragma provoca a descida de sua abóboda de 1 a 2 cm no interior da cavidade abdominal, isso alonga o tórax e aumenta seu volume. Esses pequenos movimentos para baixo do diafragma são possíveis porque as vísceras abdominais podem ser empurradas contra a parede abdominal relativamente complacente (Levitzky, 2004). O equilíbrio entre a descida do diafragma e a protusão da parede abdominal e a elevação das costelas variam nos diferentes indivíduos e com a profundidade da respiração. Durante uma inspiração profunda, o diafragma pode descer até 10 cm, atingindo o limite da complacência da parede abdominal, com aumento da pressão abdominal e nesse ponto, a contração do diafragma contra o tendão central eleva as costelas inferiores (Figura 3) (Levitzky, 2004).

A posição do diafragma é dependente de três fatores: a retração elástica do tecido pulmonar, que tende a tracioná-lo para cima; a pressão exercida de baixo pelas vísceras; e a pressão intra-abdominal, devida aos músculos abdominais (Panicek *et al.*, 1988).

Quando a função do diafragma está comprometida, os músculos acessórios devem assumir este papel, porém são muito menos eficientes, resultando em falta de ar com esforço respiratório. Além da função respiratória, este músculo também contribui para a estabilização mecânica da coluna vertebral, funcionando como a estrutura superior de estabilização. A contração do diafragma também aumenta a pressão intra-abdominal, trabalhando em sinergia com o assoalho pélvico e os músculos abdominais para aumentar a estabilização da coluna vertebral (Harper *et al.*, 2013).

A superfície entre os pulmões e o diafragma deve ser angular e forma os seios costofrênicos (laterais, anteriores e posteriores). Lateralmente, a incursão diafragmática forma um ângulo agudo com a parede torácica, conhecido como "ângulo costofrênico", é o ângulo agudo onde a pleura costal se une à pleura diafragmática, ou seja, formado pelo encontro das cúpulas diafragmáticas com a parede torácica (Pryor e Webber, 2002) (Figura 2). Essa área não contém tecido pulmonar e é evidente nos exames radiológicos normais (Scanlan, Wilkins e Stoller, 2000).

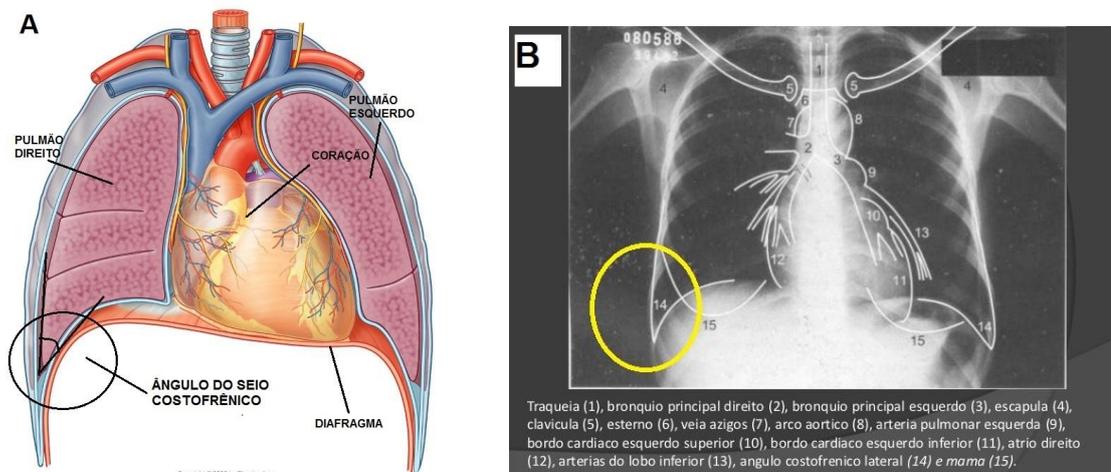


Figura 2: Caracterização do seio costofrênico: A) Desenho esquemático do tórax, com suas estruturas anatômicas, visualização do seio costofrênico. B) Imagem radiológica com a caracterização do seio costofrênico (número 14): encontro das cúpulas diafragmáticas com a parede torácica. Fonte: adaptado de Drake *et al.*, 2010; Carmen Lúcia Fujita.

Como já citado anteriormente, os movimentos do esqueleto ósseo durante a inspiração (aspirando o ar) e a expiração (expelindo o ar) alteram muito as dimensões do tórax e, com isso, o volume torácico (Figura 3). Para aumentar o volume do tórax durante a inspiração, a cavidade torácica aumenta de diâmetro nas três dimensões. A primeira dessas é o diâmetro vertical, que é aumentado principalmente pela contração e pelo movimento do diafragma para baixo, aumentando com isso o volume torácico. O diâmetro transversal é a segunda dimensão a ser aumentada durante a inspiração. As costelas oscilam para fora e para cima, o que promove o aumento do diâmetro transversal do tórax. A terceira dimensão é o diâmetro antero-posterior, também aumentado durante a inspiração pela elevação das costelas, especialmente da segunda à sexta costela. Durante a expiração, a retração elástica dos pulmões, juntamente com o peso das paredes torácicas, promove o retorno dos três diâmetros ao normal.

Dinâmica do Diafragma

Sua contracção em dois tempos

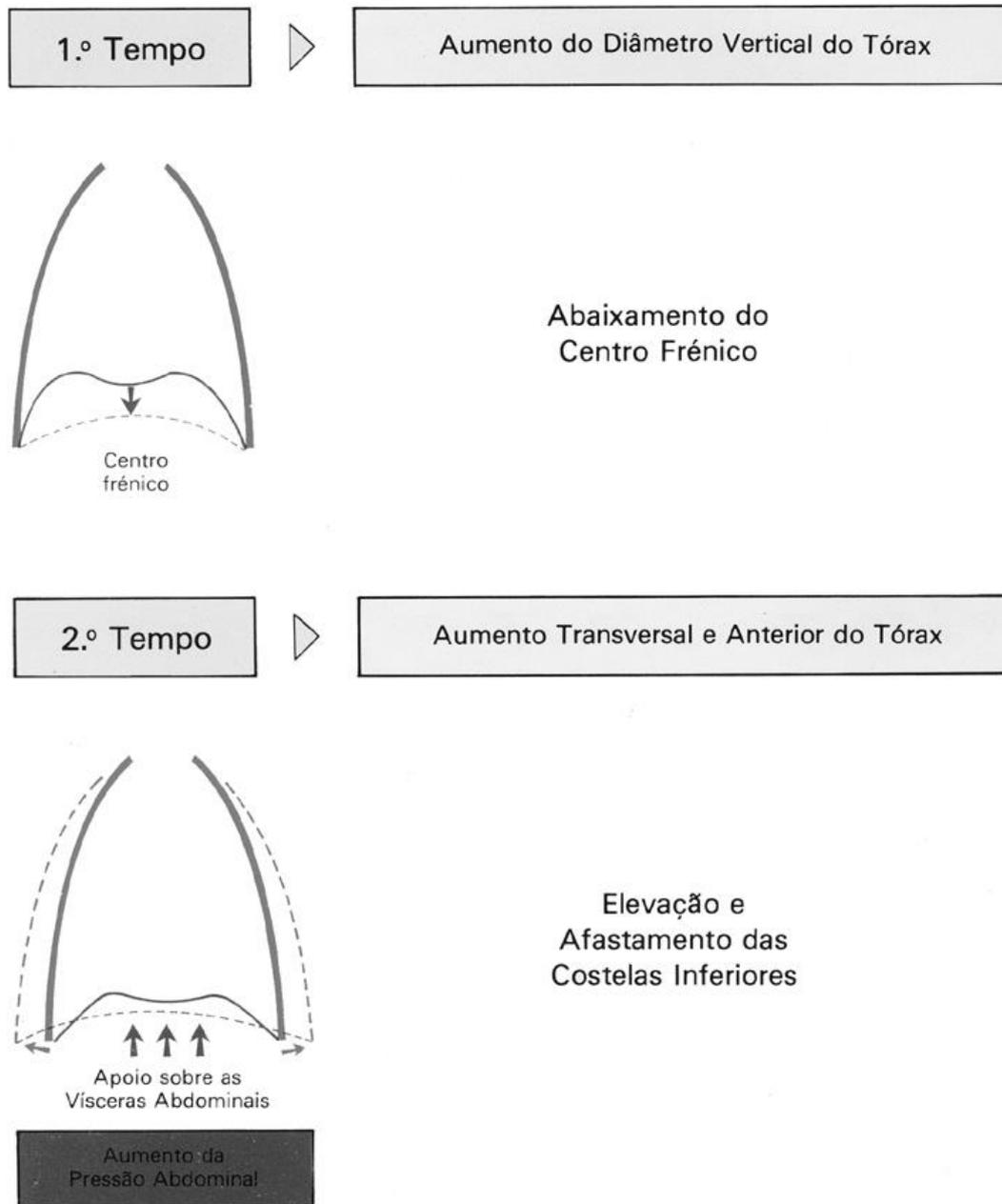


Figura 3: Caracterização da mobilidade toraco-abdominal durante inspiração e expiração. Fonte: adaptado de Levitzky (2004).

A capacidade do diafragma em alterar o volume torácico pode ser alterado quando uma doença pulmonar obstrutiva ou restritiva encontra-se presente (Scanlan, Wilkins e Stoller, 2000). O encurtamento do diafragma e dos músculos intercostais ocasionam (Di Lorenzo *et al.*, 2003) diminuição do volume de ar e das taxas de fluxo de ar inspirado, redução da força, fadiga e incoordenação dos músculos diafragmático e acessórios (Canning *et al.*, 1997). Essa restrição mecânica à mobilidade diafragmática também promove um desequilíbrio na relação ventilação/perfusão, repercutindo em hipoventilação de áreas pulmonares ventilatório-

dependentes (Tamaki *et al.*, 2000). A força muscular respiratória está relacionada aos volumes pulmonares, especialmente o diafragma, cuja força de contração é extremamente sensível às mudanças de volume pulmonar e à sua posição, o encurtamento desses músculos, diafragma e intercostais, ocasionam menor habilidade em gerar mudanças de volume (Schulz e Grant, 2000). Portanto, não somente a fraqueza muscular diafragmática, mas também a falência no recrutamento muscular aumentam a morbidez, uma vez que propiciam a ocorrência de atelectasias e subseqüentes infecções respiratórias, principalmente em regiões mais basais dos pulmões (Normando *et al.*, 2006).

3.3 AVALIAÇÃO DA MOBILIDADE DIAFRAGMÁTICA - CINERRADIOGRAFIA

A avaliação da mobilidade do diafragma mais comumente realizada é através de cinerradiografia ou videofluoroscopia e diversos estudos têm-se utilizado desta técnica para avaliação da mobilidade do diafragma após paralisias diafragmáticas ou outras disfunções, principalmente em doenças neurológicas e respiratórias. É uma técnica de diagnóstico em que uma câmera de vidro é usada para filmar o movimento das estruturas internas do corpo. A análise é simples de se executar e os resultados são facilmente interpretados (Kharna, 2013). Alguns estudos têm demonstrado correlação entre a mobilidade do diafragma e medidas de volumes pulmonares, demonstrando que este tipo de avaliação reflete alterações volumétricas

A cinerradiografia tem sido considerada como o método mais confiável de avaliação quantitativa da amplitude do movimento crânio-caudal do diafragma durante a respiração espontânea (Yamaguti *et al.*, 2007).

3.4 MODELO ANIMAL DE DOENÇA DE PARKINSON

A experimentação animal nas pesquisas científicas tem contribuído sobremaneira para o desenvolvimento da ciência e tecnologia, promovendo ao longo dos anos a descoberta de medidas profiláticas e tratamentos de enfermidades que acometem os seres humanos. Animais de várias espécies têm sido utilizados nos últimos tempos, sendo os camundongos os mais intensamente utilizados e os mais profundamente conhecidos cientificamente.

A idéia de utilização de animais em pesquisas surgiu, principalmente, por questões econômicas. Mesmo com o progresso de métodos alternativos nos últimos anos (estudos *in vitro*, culturas de células, etc.), os modelos animais ainda apresentam como principal vantagem o fornecimento de informações sobre o organismo como um todo, fato que não é

conseguido com outros métodos (Salén, 1995; Snitkoff, 2004).

A introdução do camundongo como animal de laboratório deve-se principalmente ao fato de ser pequeno, muito prolífero, ter período de gestação curto, ser de fácil domesticação e manutenção. Logo, tornou-se o mamífero mais usado na experimentação animal. Diversas vias de administração de fármacos podem ser usadas sem dificuldades, inclusive a venosa e a intratecal (intracerebral). Atualmente representam os melhores modelos experimentais de muitas condições patológicas humanas (Santos, 2002).

Na DP modelos animais são essenciais para a compreensão da patologia e dos deficits associados, bem como para o desenvolvimento e teste de agentes terapêuticos potenciais (Fleming *et al.*, 2012). Além disso, hoje é possível produzir inúmeras alterações moleculares e celulares nos neurônios dopaminérgicos, culminado em modificações comportamentais muito similares às encontradas em pacientes com DP.

Embora a etiopatogenia da DP ainda não esteja esclarecida, modelos animais têm demonstrado uma melhor compreensão dos mecanismos celulares e moleculares subjacentes ao processo neurodegenerativo progressivo. Nos anos cinquenta, modelos farmacológicos com base na administração de drogas que destroem a monoamina tiveram um papel importante demonstrando a relação entre o esgotamento de dopamina e os sintomas motores do Parkinson, bem como a eficácia da terapia com Levo-dopa. No entanto, a reserpina e modelos haloperidol tinham sérias limitações em imitar a patogênese da DP uma vez que os animais tratados com a droga exibiam depleção da dopamina do estriado transiente não associada com a neurodegeneração típica da substância negra (Tieu, 2011).

No entanto, o papel central desempenhado por estes modelos é avaliar a eficácia terapêutica de fármacos em uso clínico. Os chamados modelos baseados na neurotoxina da DP são o mais eficazes em reproduzir a morte irreversível de neurônios dopaminérgicos e o déficit de dopamina no estriado em primatas e roedores. MPTP, 6-OHDA (6-hidroxi-dopamina), e rotenona são até hoje, os compostos mais largamente usados. Eles são particularmente atrativos para a indução de citotoxicidade por mecanismos de estresse oxidativo, como no cérebro de pacientes com DP, mostram a diminuição dos níveis de glutathione reduzida e modificações oxidativas ao DNA, lipídeos e proteínas (Pearce *et al.*, 1997; Floor e Wetzel, 1998). Curiosamente, o MPTP foi acidentalmente descoberto durante as investigações sobre os fatores potenciais que levaram jovens viciados a desenvolverem sintomas da DP. O MPTP foi encontrado por ser o contaminante da heroína responsável pelo parkinsonismo nestes sujeitos (Langston *et al.*, 1983). O 6-OHDA não pode atravessar a barreira hemato-encefálica e deve ser injetado no cérebro através de um procedimento de cirurgia guiada estereotáxica. O

6-OHDA é levado aos neurônios dopaminérgicos devido à sua elevada afinidade como transportador de dopamina. Uma vez dentro dos neurônios, 6-OHDA é facilmente oxidado em oxigênio reativo que levam à inibição da cadeia de transporte de elétrons e estresse oxidativo (Mazzio *et al.*, 2004). 6-OHDA unilateral é geralmente injetado na substância negra ou no corpo estriado (degeneração retrógrada). A injeção unilateral permite a avaliação da morte de células neuronais e os parâmetros moleculares no hemisfério da lesão em comparação com o lado contralateral intacto (Ribeiro *et al.*, 2013).

Dessa forma, utilizando-se modelos animais, é possível ampliar as formas de compreensão da doença a níveis muito detalhados, podendo-se inclusive sugerir novas formas de abordagem terapêutica a serem testadas na clínica.

São referidos na literatura quatro tipos básicos: induzido, espontâneo, negativo e modelo órfão (Salén, 1995). A DP é uma doença exclusiva da espécie humana, não se manifestando espontaneamente em animais. Esse fato indica que essa patologia é somente observada em animais (p.e. macacos ou roedores) através da administração dos agentes neurotóxicos, como a 6-OHDA, metanfetamina, rotenona ou MPTP citados anteriormente (Gerlach e Riederer, 1996). O modelo experimental induzido para DP mais descrito é em ratos e mais recentemente em camundongos. A técnica utilizada é a infusão unilateral de 6-OHDA no feixe medial do prosencéfalo. Durante um curto período, este processo leva à morte de neurônios dopaminérgicos da substância negra, com perda de seus terminais nervosos no estriado, o que modela a patologia de Parkinson (Fulceri *et al.*, 2006).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ANIMAIS

Esta pesquisa foi realizada com camundongos C57BL/6J SPF (“Specific Patogen Free”) do sexo masculino, adultos com 8 semanas (peso corpóreo inicial de 23 a 25 g), adquiridos da companhia Nihon Clea (Tóquio, Japão). Toda a coleta de dados, ou seja, realização da cirurgia, aplicação dos testes comportamentais e a cineradiografia, foram realizadas na Tokyo Medical and Dental University, no Japão. A análise dos vídeos foi realizada na Universidade de Brasília.

Foram utilizados 22 animais, divididos de forma aleatória em grupos experimental (n = 14) e controle (n = 8). Os animais foram aclimatizados ao laboratório durante uma semana antes do início dos experimentos. Eles foram alojados em jaulas individuais

(dimensões 20 x 20 x 30 cm, altura x largura x comprimento) de acrílico transparente forradas com “chips” de papel absorvente. Os animais tiveram livre acesso a água e ração enquanto nas jaulas de alojamento. O ambiente foi mantido à temperatura de $23 \pm 1^\circ\text{C}$ em um ciclo claro/escuro de 12 horas (luzes acendidas às 8h da manhã). Os procedimentos descritos aqui estão de acordo com as recomendações da “Tokyo Medical and Dental University” para o bem-estar e utilização adequada de animais em pesquisa, e tiveram anuência prévia do seu comitê institucional de ética em pesquisa animal.

4.2 PREPARAÇÃO ANIMAL E CIRURGIA ESTEREOTÁXICA

Os camundongos foram anestesiados com uma injeção intraperitoneal de Ketamine (90-120 mg/Kg) e Xylazine (10 mg/Kg). O nível apropriado da anestesia cirúrgica foi determinado pela ausência de reflexos de retirada ao estímulo de “pinch” da cauda. Os animais foram colocados em um dispositivo estereotáxico e cirurgicamente injetados unilateralmente no corpo estriado direito 2 μL de uma solução de 0.9% NaCl com 0,02% ácido L-ascórbico no Grupo Controle (GC), e 10 μg de 6-hydroxydopamine (6-OHDA, Sigma Chemical, St. Louis, MO, EUA) em 0.9% NaCl com 0,02% ácido L-ascórbico, no Grupo Experimental (GE). As coordenadas utilizadas foram (em mm): anterior–posterior: +0,5; medial–lateral: +0,21; dorsal–ventral: 3,0. As injeções foram feitas através de uma agulha 32G em uma seringa Hamilton para microvolumes acoplada a um sistema injetor automatizado (Eicom Systems, Quioto, Japão). Após a injeção, a agulha foi deixada na posição por mais dois minutos para permitir a difusão do líquido nos tecidos, e então esta foi lentamente retirada.

4.3 TESTES COMPORTAMENTAIS

Duas semanas após as micro-injeções cerebrais, os animais foram avaliados quanto à função motora geral e presença de sinais de parkinsonismo através dos testes: “pole test”, “cylinder test”, e “nest-building test”. Estes testes foram escolhidos pelas seguintes razões: diversos estudos encontraram que estes testes são altamente sensíveis a diferentes graus de disfunção dopaminérgica nigroestriatal em modelos animais e são muito utilizados para avaliação de vários tipos de agentes terapêuticos (Fleming *et al.* 2004; Fleming *et al.* 2013; Glasjch *et al.* 2013), além disso, são testes de fácil aplicabilidade, não requerem muito treinamento e são de baixo custo.

“Pole test” (Figura 4): Este é um teste utilizado para detectar sinais de bradicinesia e déficits de coordenação motora, e foi executado conforme descrito por Glasjch *et al.* (2012). Os animais foram treinados nesta tarefa por dois dias consecutivos antes da cirurgia e depois testados duas semanas após a cirurgia, sendo realizado três testes por animal. Neste teste os animais são colocados com a cabeça virada para cima sobre a extremidade superior de um poste vertical (50 cm de comprimento e 1 cm de diâmetro). A resposta normal do animal é virar de cabeça para baixo e descer pelo poste até a sua jaula de alojamento que se encontra na base do poste. O teste é registrado em vídeo para posterior análise. O tempo que o animal leva para: 1) virar de cabeça para baixo e 2) descer até a base do poste são aferidos por um observador cego quanto ao grupo aos quais os animais pertencem.

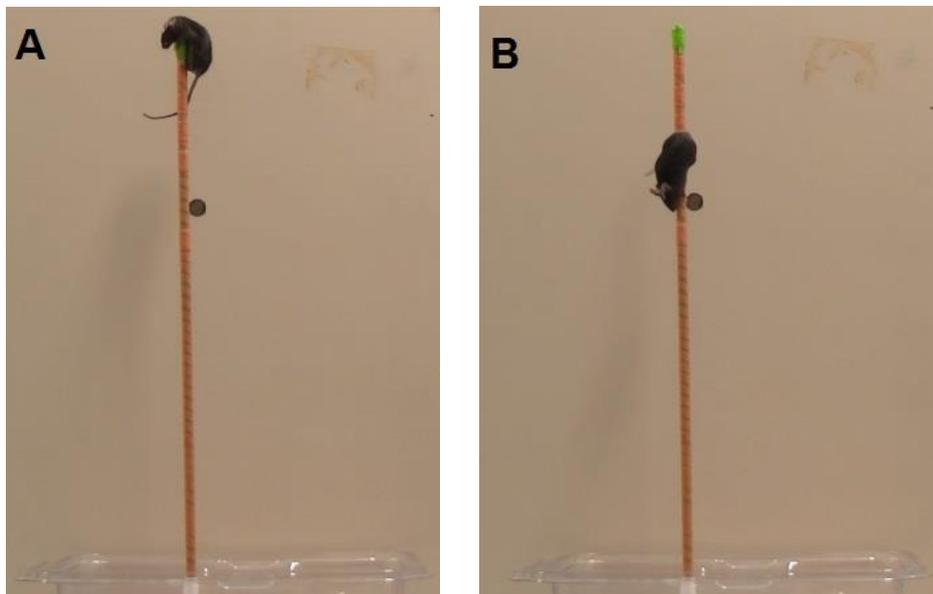


Figura 4: realização do "Pole test": teste utilizado para detectar sinais de bradicinesia e déficits de coordenação motora. Animal é colocado no topo uma haste de 50 cm de altura e mede-se o tempo que o animal leva para virar de cabeça para baixo e o tempo para descer a haste. A) Animal posicionado inicialmente de cabeça para cima na extremidade superior da haste. B) Animal descendo de cabeça para baixo toda a extensão da haste.

“Cylinder test” (Figura 5): Este teste é utilizado para detectar o uso assimétrico das patas. É provavelmente o teste mais empregado para avaliar grau de severidade da lesão provocada pela toxina 6-OHDA. Este teste também foi executado conforme proposto por Glasjch *et al.* (2012). Ao começo da noite, antes das luzes se apagarem e em baixa luminosidade, os animais são colocados um a um em cilindros de vidro (8 cm de diâmetro e 11 cm de altura) e filmados em vídeo por 5 minutos. O comportamento normal do animal é de exploração do ambiente novo, o que o leva a ficar de pé sobre as patas traseiras repetidas vezes. Ao fazer isso, o animal apóia o corpo contra as paredes do cilindro usando as patas dianteiras. Um observador cego, quanto ao tratamento que o animal recebeu, conta quantas

vezes o animal toca as paredes do cilindro com cada uma das patas dianteiras. Este teste é feito apenas uma vez e sem treinamento, pois a repetição do teste leva à habituação e, portanto, redução na atividade exploratória do camundongo. O comportamento normal do animal é manter a exploração com ambas as patas, sem diferença significativa entre os uso das mesmas.

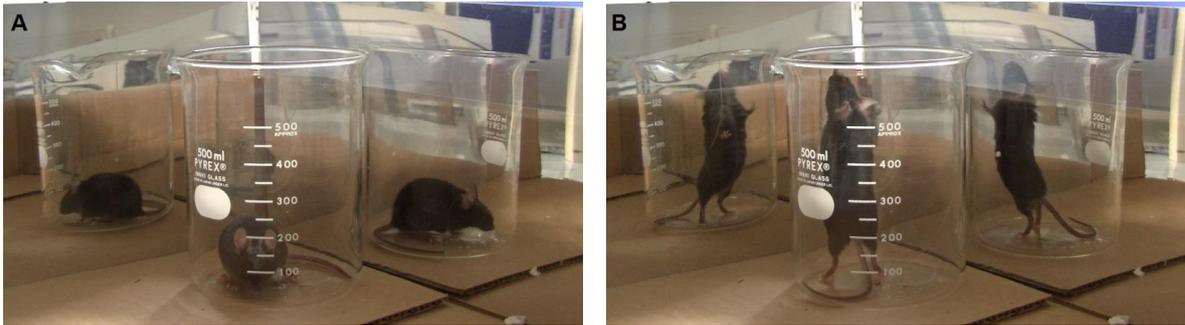


Figura 5: realização do "Cylinder test": teste utilizado para detectar o uso assimétrico das patas - avalia o grau de severidade da lesão. A) O animal é colocado em um cilindro de vidro com espelhos aos fundo que facilitam a visualização do uso das patas. B) O animal é filmado por 5 minutos, e são contados a quantidade de vezes que o animal tocou o cilindro com cada uma das patas.

“Nest-building test” (Figura 6): Este teste é sensível a sinais de bradicinesia, déficits cognitivos, ou bem-estar geral em camundongos. Um retângulo de algodão prensado pesando $2,67 \pm 0,01$ g (média \pm SEM) é colocado no reservatório de ração à noite, uma hora antes do apagar das luzes. Durante a noite, os camundongos utilizam este material para criar um ninho. Na manhã seguinte faz-se a medição em gramas da quantidade de material não utilizada.



Figura 6: realização do "Nest-building test": teste utilizado para avaliar sinais de bradicinesia, déficits cognitivos ou bem-estar geral dos animais. A) Colocação de um quadrado de algodão na jaula de ração. B) Utilização do algodão pelo animal para formação de um ninho. C) Formação do ninho e restos de algodão, que são pesados para análise do peso de material não utilizado. Fonte: Vitalo *et al.*, 2009.

4.4 REGISTRO DA EXCURSÃO DIAFRAGMÁTICA

Confirmada a presença de parkinsonismo, foram então realizados os registros dos movimentos respiratórios através de vídeos de raios-X em dois planos (lateral e horizontal) sem qualquer restrição aos movimentos corpóreos dos animais. Os movimentos do diafragma foram registrados através de imagens radiográficas contínuas coletadas em 29 fps (“frames

per second”, i.e. quadros por segundo), durante dois dias consecutivos, foram feitos três filmes, com o animal em repouso por aproximadamente 5 minutos.

4.4.1 ANÁLISE DE DADOS

Para analisar as medidas de distância excursionada pelo músculo diafragma, ângulo do seio costofrênico e frequência respiratória, os vídeos foram visualizados quadro a quadro através do programa KINOVEA (Figura 7).

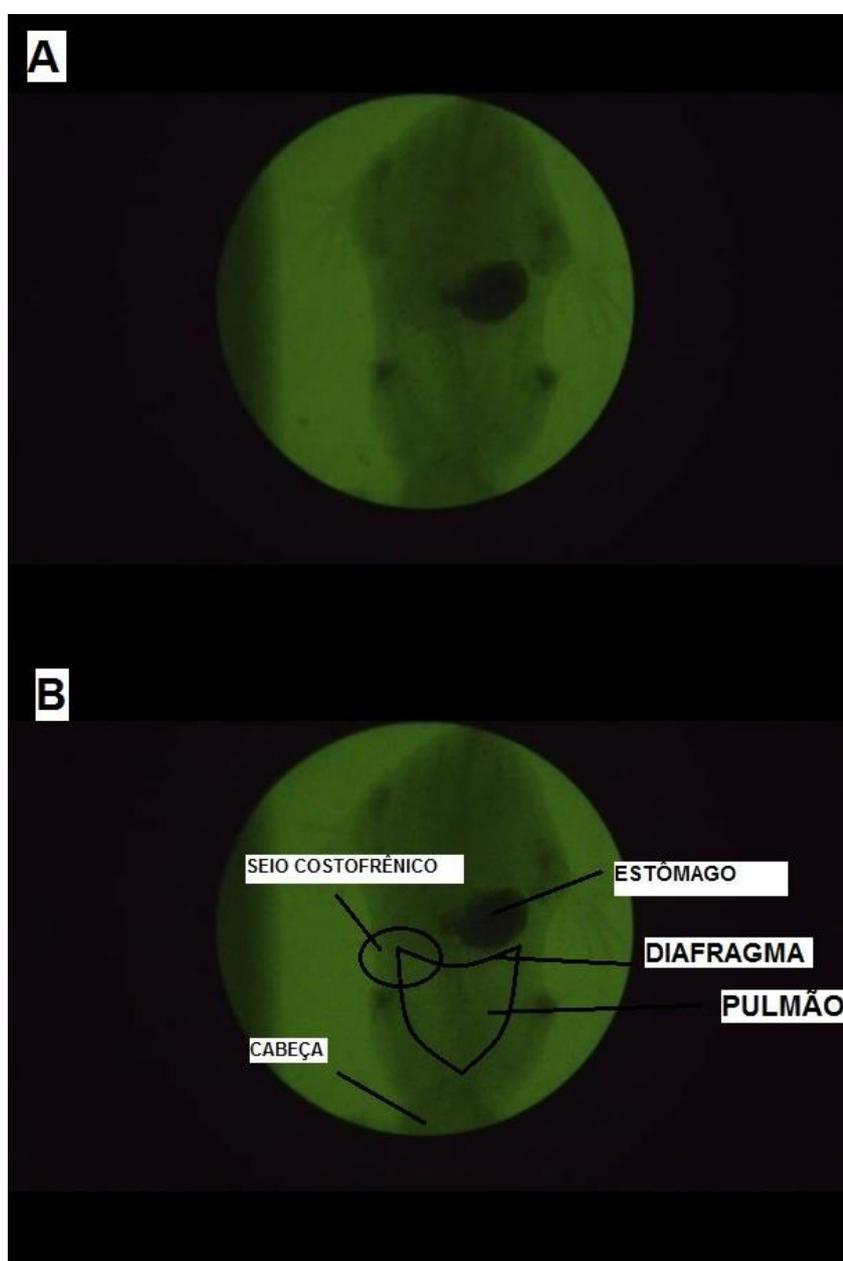


Figura 7: A) imagem radiográfica de alta velocidade visualizada através do programa KINOVEA. B) visualização das estruturas aparentes na imagem radiográfica.

Os quadros foram escolhidos baseando-se num ciclo respiratório, sendo um quadro uma inspiração máxima tranquila e outro quadro uma expiração máxima tranquila.

Para análise da excursão diafragmática foi selecionado o ponto mais alto e o ponto mais baixo atingido pela cúpula diafragmática durante uma inspiração máxima tranquila e outro quadro uma expiração máxima tranquila. Foi escolhido sempre o mesmo lado do diafragma (hemi-cúpula direita) com o animal sempre na mesma posição. Foram traçados 3 pontos em cada quadro, um em cada seio costofrênico e outro no ponto mais alto atingido pela cúpula diafragmática ou no ponto mais baixo atingido pela mesma (Figura 8). Arestas foram traçadas entre os pontos dos seios costofrênicos e outra paralela a anterior, no ponto mais alto ou no ponto mais baixo da cúpula diafragmática. A diferença entre as distâncias das arestas durante a inspiração (Figura 9) e expiração (Figura 10) permitiram a mensuração da distância deslocada pelo diafragma.

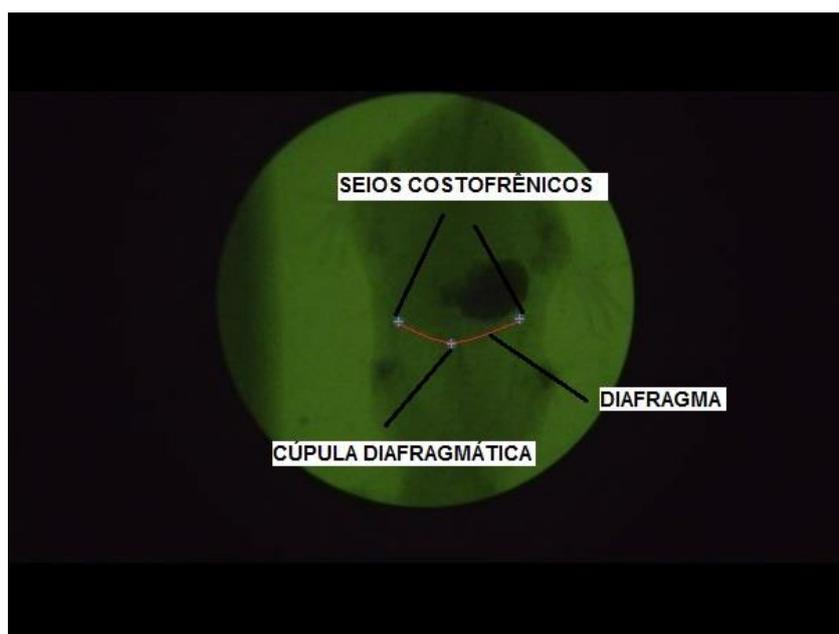


Figura 8: marcação dos seios costofrênicos e do ponto mais alto da cúpula diafragmática realizado no programa KINOVEA.

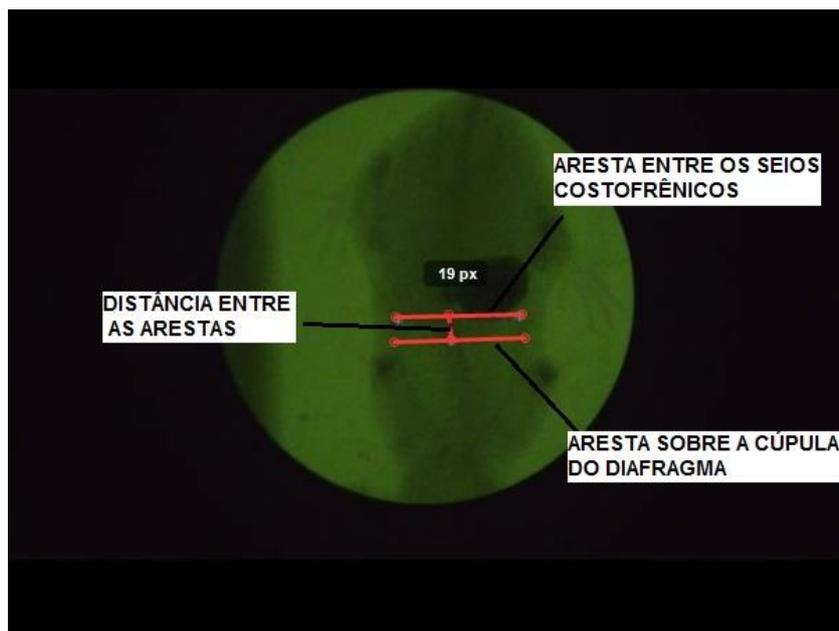


Figura 9: marcação da distância entre a aresta traçada entre os seios costofrênicos e a aresta traçada sobre a cúpula diafragmática durante a inspiração realizado no programa KINOVEA.

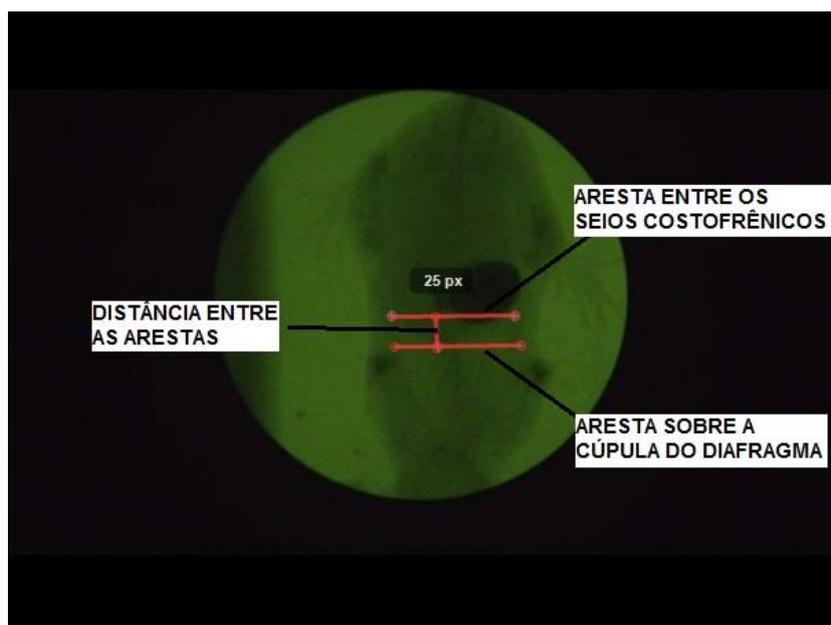


Figura 10: marcação da distância entre a aresta traçada entre os seios costofrênicos e a aresta traçada sobre a cúpula diafragmática durante a expiração realizado no programa KINOVEA.

A medida do ângulo do seio costofrênico foi realizada durante um ciclo respiratório, sendo uma medida na inspiração máxima tranqüila (Figura 11) e outra na expiração máxima tranqüila (Figura 12). O ângulo do seio costofrênico é formado pelo encontro da cúpula do diafragma com a parede torácica. A variação angular foi obtida através da diferença entre a medida encontrada na inspiração máxima e a medida encontrada na expiração máxima.

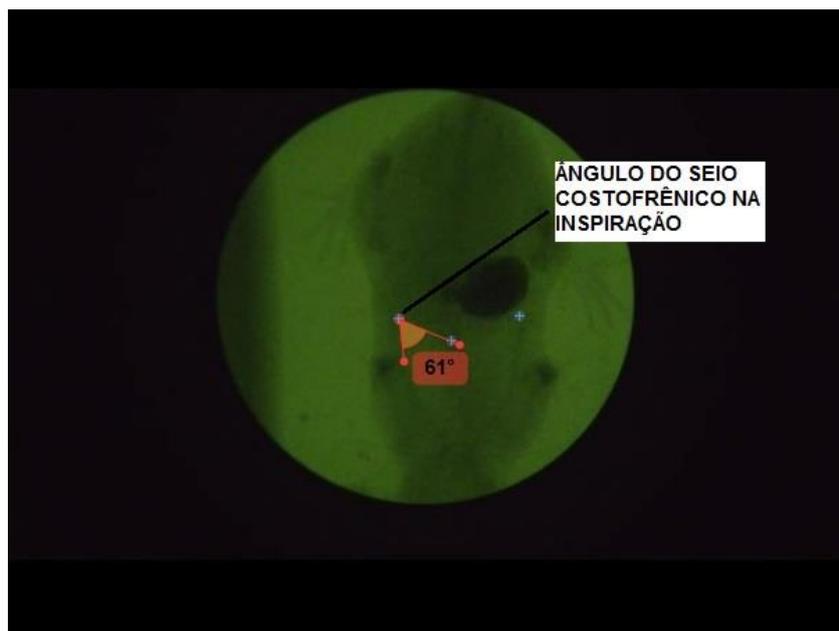


Figura 11: marcação do ângulo do seio costofrênico direito durante a inspiração realizado no programa KINOVEA.



Figura 12: marcação do ângulo do seio costofrênico direito durante a expiração realizado no programa KINOVEA.

A frequência respiratória foi obtida através cálculo da quantidade de quadros entre a inspiração e expiração do animal.

As medidas foram sempre realizadas pelo mesmo pesquisador, que desconhecia a que grupo pertencia o animal avaliado. Foram realizadas três mensurações para cada vídeo analisado, totalizando nove medidas em uma inspiração máxima e nove medidas em uma expiração máxima.

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Variáveis relativas ao controle motor e à excursão diafragmática foram comparadas entre GC e GE através do teste t de Student para amostras independentes, onde $p \leq 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. O software STATVIEW ver. 5 foi utilizado para os cálculos estatísticos (SAS Institute, Cary, NC, EUA).

5 RESULTADOS

5.1 TESTES COMPORTAMENTAIS

“Pole test”: Animais do GE precisaram em média de 4,3 s a mais do que os do GC para virar de cabeça para baixo, e 5,0 s a mais para descer os 50 cm de extensão do poste. As diferenças entre grupos, entretanto, não foram estatisticamente significativas ($p = 0,08$ e $p = 0,13$, respectivamente, no teste-t de Student para amostras independentes) (Fig. 13).

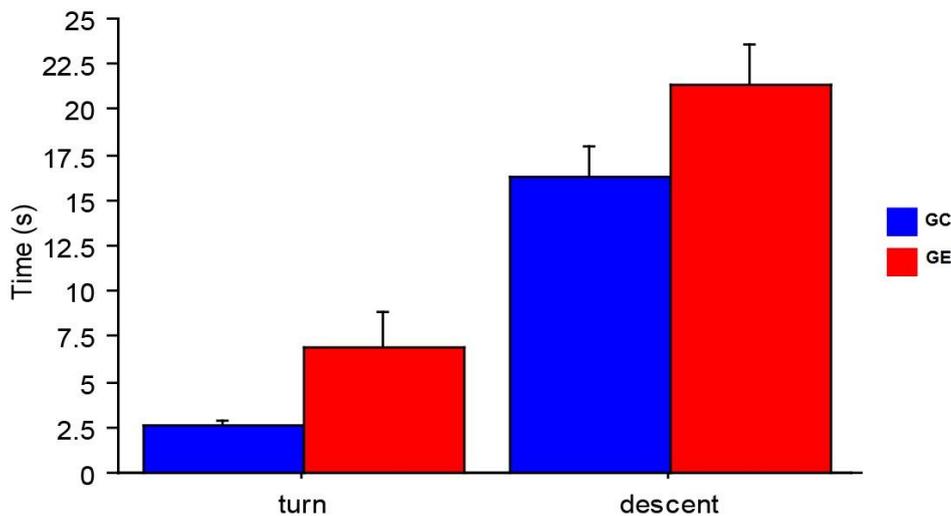


Figura 13: Valores de tempo do "Pole test", o GE precisou de mais tempo para virar a cabeça para baixo e mais tempo para descer a extensão do poste, porém a diferença entre os grupos não foi significativa ($p > 0,05$).

“Cylinder test”: Neste teste os animais GE utilizaram preferencialmente a pata dianteira do mesmo lado do corpo onde foi injetada a toxina 6-OHDA. Os animais GE utilizaram o lado ipsilateral à lesão cerebral $8,81 \pm 3,70\%$ (média \pm SEM) a mais do que o lado contralateral. Quando comparados aos animais GC, a diferença foi considerada significativa, com $p = 0,05$ no teste t de Student para amostras independentes (Fig. 14).

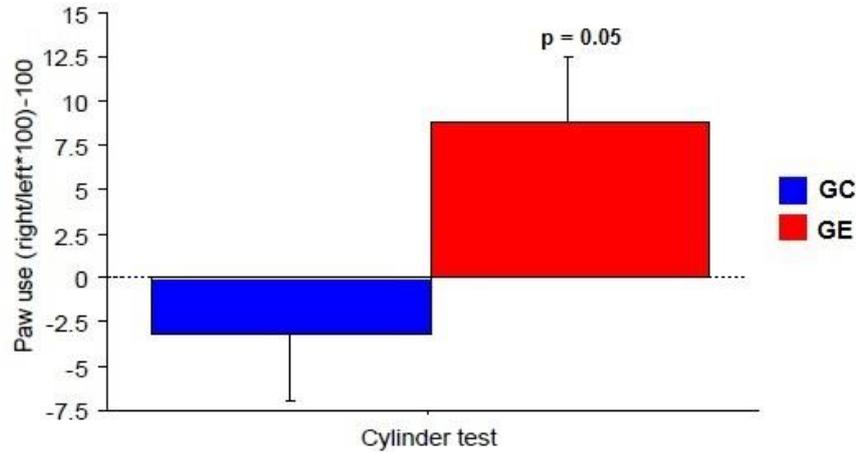


Figura 14: Valores do "Cylinder test", os animais do GE utilizaram mais a pata ipsilateral à injeção da toxina enquanto o GC utilizou mais a pata do lado contralateral à lesão cerebral, a diferença entre os grupos foi estatisticamente significativas ($p = 0,05$).

“Nest-building test”: Os animais GE mostraram menor utilização do material para construção de ninho, deixando $2,06 \pm 0,10$ g de material sobrado no recipiente de ração (de uma quantia inicial de $2,67 \pm 0,01$ g) (média \pm SEM). A diferença entre grupos foi de 0,42 g em média, porém sem significância estatística segundo o teste t de Student para amostras independentes ($p = 0,18$) (Fig. 15).

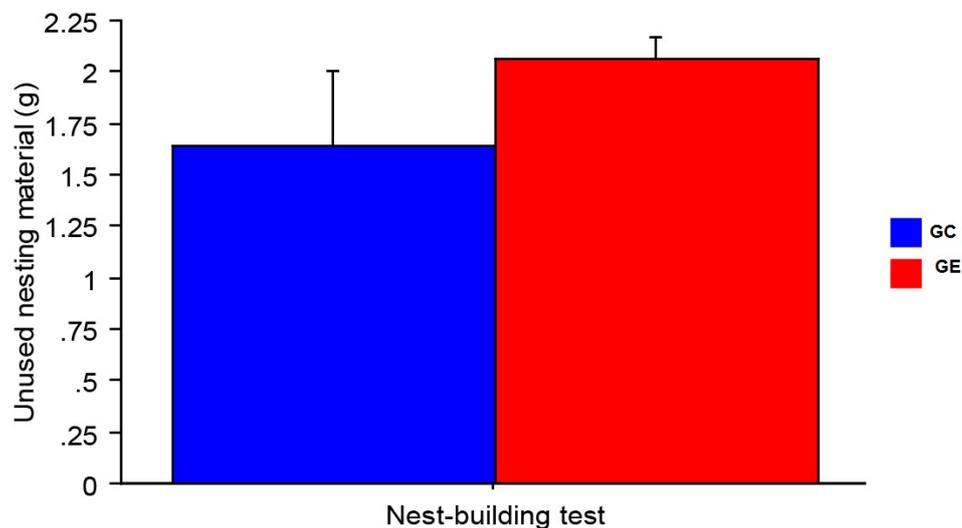


Figura 15: Valores do peso do "Nest-building test", o GE mostraram menor utilização do material para a construção do ninho porém a diferença entre os grupos não foram significativas ($p > 0,05$).

5.2 AVALIAÇÃO RESPIRATÓRIA

Ângulo do seio costofrênico durante a inspiração: Os animais do GE apresentaram uma medida do ângulo do seio costofrênico médio durante a inspiração de $53,47 \pm 5,9^\circ$ enquanto o GC apresentou uma medida do ângulo do seio costofrênico médio de $55,92 \pm 6,7^\circ$. A diferença entre grupos nas medidas realizadas durante a inspiração foi de $2,45^\circ$ em média, a diferença foi considerada significativa, com $p = 0,03$ no teste t de Student para amostras independentes (Figura 16).

Ângulo do seio costofrênico durante a expiração: Os animais do GE apresentaram uma medida do ângulo do seio costofrênico médio durante a expiração de $46,29 \pm 4,4^\circ$ enquanto o GC apresentou uma medida do ângulo do seio costofrênico médio de $48,63 \pm 5,8^\circ$. A diferença entre grupos nas medidas realizadas durante a inspiração foi de $2,34^\circ$ em média, a diferença foi considerada significativa, com $p = 0,02$ no teste t de Student para amostras independentes (Figura 16).

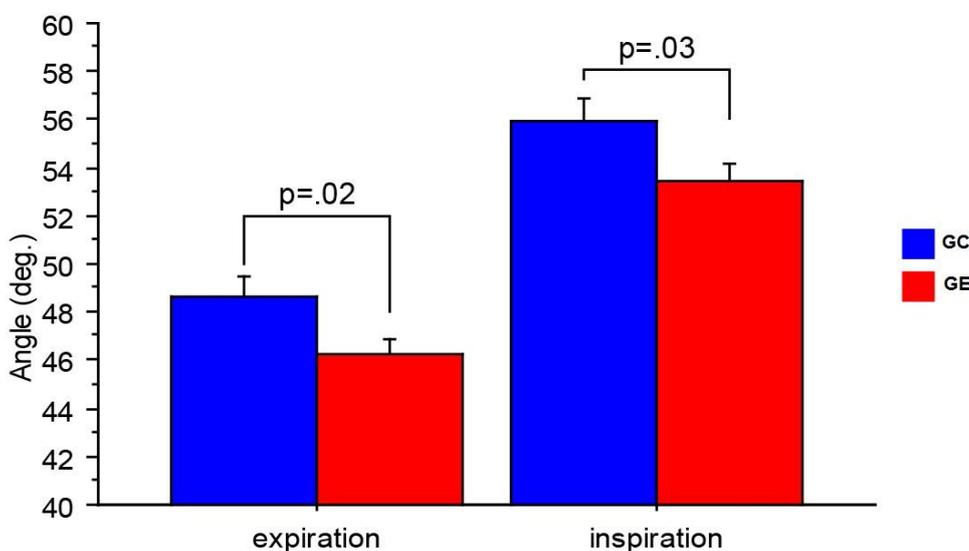


Figura 16: Valores do ângulo do seio costofrênico durante a inspiração e expiração, os animais do GE apresentaram medidas do ângulo do seio costofrênico durante a inspiração e expiração menores do que os valores do GC, a diferença entre os grupos foi estatisticamente significativa com $p = 0,02$ para valores durante a expiração e $p = 0,03$ para valores durante a inspiração.

Varição angular do seio costofrênico: Os animais do GE apresentaram uma variação média angular do seio costofrênico entre a inspiração e a expiração de $7,41 \pm 0,58^\circ$ enquanto o GC apresentou uma variação média angular do seio costofrênico entre a inspiração e a expiração de $7,43 \pm 0,17^\circ$. A diferença entre grupos nas medidas realizadas foi de $0,02^\circ$ em

média, porém sem significância estatística segundo o teste t de Student para amostras independentes ($p = 0,94$) (Figura 17).

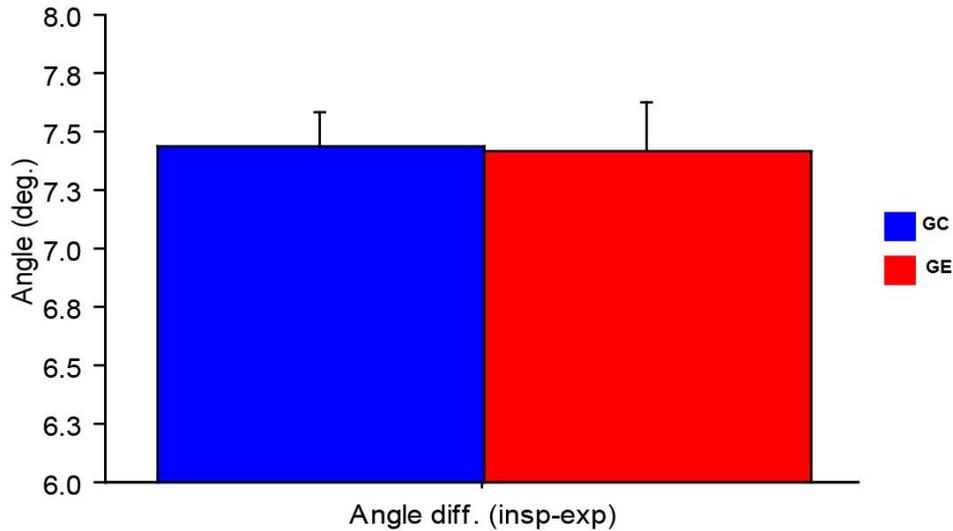


Figura 17: Variação angular do seio costofrênico entre a inspiração e expiração, os animais do GE apresentaram uma variação angular do seio costofrênico menor do que o GC, porém a diferença entre os grupos não foram significativas ($p > 0,05$).

Excursão diafragmática (deslocamento realizado pelo diafragma entre a inspiração e expiração): Os animais do GE apresentaram um deslocamento diafragmático médio de $0,929 \pm 0,010$ mm enquanto o GC apresentou um deslocamento diafragmático médio de $0,983 \pm 0,014$ mm. A diferença entre grupos foi de $0,055$ mm em média, porém sem significância estatística segundo o teste t de Student para amostras independentes ($p = 0,25$) (Figura 18).

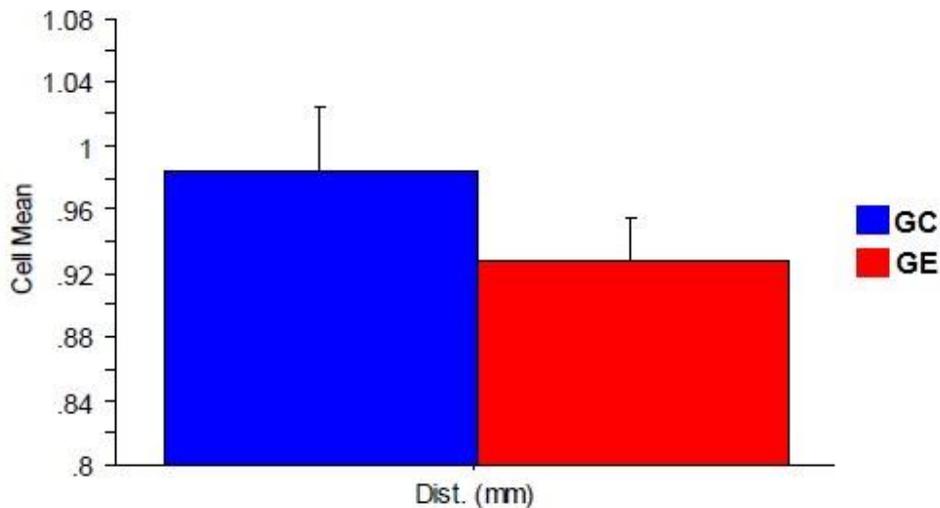


Figura 18: Deslocamento diafragmático realizado entre a inspiração e expiração, o GE apresentou um deslocamento diafragmático menor do que o GC porém a diferença entre os grupos não foram significativas ($p > 0,05$).

Frequência respiratória: Os animais do GE apresentaram uma frequência respiratória média de $2,91 \pm 0,17$ Hz enquanto o GC apresentou uma frequência respiratória média de $2,80 \pm 0,02$ Hz. A diferença entre grupos foi de 0,11 Hz em média, porém sem significância estatística segundo o teste t de Student para amostras independentes ($p = 0,48$) (Figura 19).

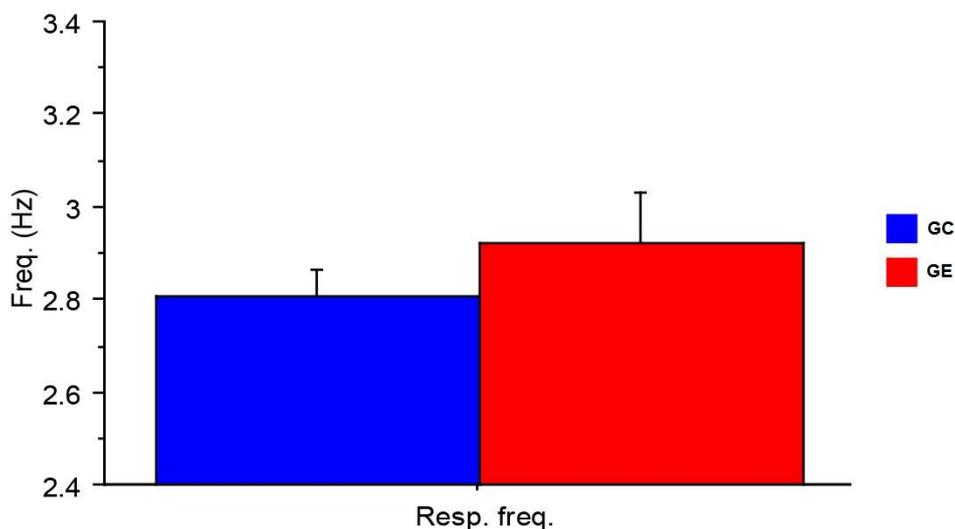


Figura 19: Valores de frequência respiratória média, o GE apresentou valores de frequência respiratória maior do que o GE porém a diferença entre os grupos não foram significativas ($p > 0,05$).

6 DISCUSSÃO

Alterações respiratórias na doença de Parkinson são muito comuns, porém a prevalência dessas alterações, principalmente as assintomáticas, nos estágios iniciais da doença, são pouco conhecidas. Os estudos que avaliam a mobilidade diafragmática na DP são escassos, realizados sempre em seres humanos, com populações sujeitas pequenas e não homogêneas, sendo muitas vezes avaliada através da mobilidade abdominal e não a mobilidade diafragmática propriamente dita (Nugent *et al.*, 1959; Petit e Delhez, 1961; Murdoch *et al.*, 1989; Tamaki *et al.*, 2000).

Este estudo avaliou diferentes componentes do padrão respiratório em um modelo experimental de DP estágio inicial, durante o repouso, através de imagens radiológicas - cineradiografia. Foram avaliados a variação do ângulo do seio costofrênico e seus valores absolutos na inspiração e expiração, mobilidade do diafragma e frequência respiratória.

No presente estudo foram observados valores menores do ângulo do seio costofrênico durante a inspiração e expiração no grupo experimental quando comparados ao grupo controle. Esses resultados devem-se provavelmente às características da doença.

Podemos hipotetizar que os valores menores do ângulo do seio costofrênico estejam relacionados com a presença de rigidez da caixa torácica e musculatura respiratória acessória no grupo experimental, alteração observada em portadores de doenças respiratórias de caráter restritivo, com diminuição da mobilidade do tórax, o que leva a um padrão radiológico de hipoventilação.

Cardoso *et al.*, (1998) observaram padrão respiratório obstrutivo, avaliado através de espirometria, em pacientes portadores de DP e sugeriram que essas alterações respiratórias são um evento precoce na DP. No estudo realizado por Bonjorni *et al.*, (2012) observou-se diminuição da relação volume expiratório forçado no 1º segundo x capacidade vital forçada (VEF_1/CVF) caracterizando a obstrução das vias aéreas e diminuição do volume expiratório forçado no 1º segundo (VEF_1), além disso os paciente com DP apresentaram diminuição das forças musculares respiratórias inspiratórias e expiratórias, e da *endurance* da musculatura respiratória. Obenour *et al.*, (1972) observaram, em um grupo de parkinsonianos, redução do fluxo aéreo em mais de 1/3 dos pacientes e apontaram possível relação entre o padrão obstrutivo com a severidade da doença. Vincken *et al.*, (1984) encontrou em sua pesquisa que a presença de obstrução das vias aéreas superiores foi detectada na maioria dos pacientes com DP. Tais estudos estão em consonância com Sabaté *et al.*, (1996), que investigaram a disfunção pulmonar em pacientes parkinsonianos, sendo que, após espirometria, pletismografia respiratória, e avaliação da força muscular respiratória, a maioria dos indivíduos apresentaram obstrução em vias aéreas superiores, com aumento do volume residual, correlacionou esses achados à ação sinérgica da rigidez e bradicinesia podendo ser estas as variáveis indutoras da obstrução das vias aéreas superiores; e não encontrou relação entre o tremor e os parâmetros pulmonares estudados. Os achados dessas pesquisas suportam a hipótese de que os parkinsonianos manifestam maior risco de distúrbios respiratórios do tipo obstrutivo, pode-se sugerir que as alterações de fluxo aéreo em parkinsonianos sejam predominantemente obstrutivas devido à limitação de fluxo aéreo secundária à diminuição da força dos músculos respiratórios e principalmente das vias aéreas superiores, que comumente apresentam incoordenação neuromuscular (Ferreira *et al.*, 2012).

Em contrapartida, alguns estudos apontam diferentes características da disfunção respiratória na DP, basicamente em relação ao caráter restritivo e são consistentes com nosso estudo.

Assim como em nossa pesquisa, Izquierdo-Alonso *et al.*, (1994) encontraram alterações restritivas como as mais frequentes na população parkinsoniana, avaliada através da curva de fluxo-volume, e atribuíram tal anormalidade à incoordenação e rigidez da

musculatura respiratória o que pode ter limitado os movimentos respiratórios. Alterações do mesmo tipo foram descritas por Cardoso *et al.*, (2002) que estudaram portadores da DP avaliados através espirometria. Estes diferentes autores especularam que essa anormalidade pode ser atribuída à rigidez limitante dos movimentos respiratórios. Parreira *et al.*, (2003), encontrou diferença significativa nos valores de fluxo inspiratório médio, sendo estes menores no grupo de parkinsonianos e provavelmente devem estar relacionados à presença de um volume corrente significativamente menor, caracterizando um padrão restritivo. Pandis *et al.*, (2002) estudaram pacientes com DP severa cujos resultados evidenciaram redução da capacidade vital forçada (CVF) e do volume expiratório máximo no 1º segundo (VEF₁), sugerindo disfunção ventilatória restritiva e comprometimento dos músculos respiratórios, a disfunção respiratória observada nesses pacientes com DP grave é devido à atividade anormal dos músculos respiratório, resultado direto de seu estado de rigidez e conseqüente diminuição da amplitude de movimento. De Bruin *et al.*, (1996) citam que os resultados espirométricos, característicos de restrição, com diminuição da CVF, são significativos na DP, incluindo, inclusive, nos resultados dos fluxos expiratórios por diminuição da complacência pulmonar, podendo esta restrição ser também devida à fibrose pleural. Ao constatar que 94% dos pacientes estudados em sua pesquisa, através da espirometria, apresentaram padrão ventilatório restritivo, Sathyaprabha *et al.*, (2005) sugerem que essa alteração se deve ao aumento da rigidez da caixa torácica, redução da pressão de recolhimento elástico, diminuição do volume de ar e das taxas de fluxo de ar inspirado, além da fadiga e incoordenação dos músculos respiratórios, sendo isso um grande indicador de doença neuromuscular.

Assim, a diminuição do ângulo do seio costofrênico, observada em nosso estudo, parece refletir mais o caráter de rigidez e a dificuldade de expandir o conjunto caixa torácica/abdômen. O tórax rígido e resistente aos movimentos acarreta limitação progressiva da ventilação e a rigidez da musculatura intercostal compromete a mobilidade da caixa torácica. Essas alterações demonstraram estarem presentes mesmo em estágios iniciais da doença, onde muitas vezes essas alterações são assintomáticas.

Apesar deste estudo apresentar valores sugestivos de padrão ventilatório restritivo, com uma diminuição do valor do seio costofrênico, valores para o deslocamento do diafragma não apresentaram diferenças significativas entre o grupo controle e o experimental, nem a variação angular do seio costofrênico. Estes resultados encontrados sugerem que a anormalidade restritiva, provavelmente presente no grupo experimental, reflete alterações somente do gradil costal e não do comprometimento do músculo diafragma. O que está em concordância com alguns estudos. Nugent *et al.*, (1959) ao avaliar a mobilidade do diafragma

através de fluoroscopia constatou que os pacientes com DP não apresentaram nenhuma anormalidade no exame, mesmo apresentando outras alterações respiratórias. E Petit e Delhez (1961) constataram que apesar de nos pacientes com DP todos os músculos do tronco, musculatura intercostal e músculos acessórios, permanecerem em um estado de hipertonciedade, uma hipertonciedade sustentada, com o tórax rígido e a complacência torácica diminuída, apenas o músculo diafragma se encontrava com sua função normal.

Murdoch *et al.*, (1989), em pesquisa com indivíduos com DP e indivíduos saudáveis de mesma idade e sexo, observaram que uma minoria dos parkinsonianos apresentava volume pulmonar e capacidade fora do limite de normalidade, porém, quanto à mobilidade torácica, metade dos indivíduos com DP exibia irregularidades não observadas no grupo controle. Este trabalho converge com os resultados de Cardoso e Pereira (2000) ao referirem que a mobilidade torácica nos indivíduos com DP encontra-se comprometida devido à rigidez da musculatura intercostal, observando-se a postura em flexão com contração seletiva dos músculos flexores, adutores, pronadores, flexores plantares, cervicais, e torácicos. Em outra pesquisa, Cardoso e Pereira (2002) encontraram valores significativamente menores de perimetria torácica nos pacientes com DP, caracterizando acentuada diminuição da sua mobilidade torácica durante a respiração e repercutindo no aumento do trabalho muscular, com conseqüente diminuição da expansibilidade pulmonar na inspiração e da depressão torácica na expiração.

Tamaki *et al.*, (2000), estudou a influência do movimento toraco-abdominal na função pulmonar. Encontraram uma diminuição significativa do movimento torácico de pacientes com DP durante medidas de volume corrente normal, sem diferença na mobilidade abdominal. Provavelmente resultado da alteração de tônus da musculatura do tórax. Porém, durante manobras de inspiração máxima, os movimentos abdominais também apresentaram diferença significativa nos pacientes com DP. A incoordenação entre a respiração e os movimentos toraco-abdominais nos pacientes com DP pode ser a possível explicação para as alterações encontradas, e o diafragma parece somente demonstrar suas alterações em manobras de ventilação forçada.

Estenne (1984) ao estudar o envolvimento da musculatura respiratória na DP, observou uma atividade normal do diafragma nos pacientes acometidos pela doença, sugerindo que as alterações do padrão respiratório podem ser explicadas pelas alterações na atividade de outros músculos respiratórios, como por exemplo, intercostais internos e externos. Em seu estudo, teoriza que a eletromiografia dos músculos respiratórios dos parkinsonianos pode apresentar alterações; com os músculos inspiratórios continuamente ativados, mesmo na

expiração. Esse resultado, associado à maior participação dos músculos mantenedores da postura corporal, justificaria a rigidez do gradil costal, dificultando os movimentos torácicos inspiratórios e, principalmente, expiratórios, o que poderia explicar esses distúrbios.

Entretanto no estudo de Gardner *et al.* (1986), não foram observadas diferenças significativas em relação ao deslocamento da caixa torácica e do abdômen, refletidas pelos valores da contribuição destes compartimentos para o volume corrente, entre idosos e portadores da DP. E afirma que o comprometimento da musculatura respiratória nos pacientes portadores da DP possivelmente ocorra de maneira uniforme sem distinção entre o diafragma e outros músculos respiratórios, não exercendo influência sobre a configuração toraco-abdominal. Com isso, percebe-se que provavelmente o diafragma não sofra alterações nos estágios iniciais da doença, podendo estar comprometido em estágios mais avançados ou durante manobras de respiração forçada onde o esforço respiratório possa gerar uma incoordenação muscular.

Neste estudo não foram encontradas alterações na frequência respiratória entre o grupo experimental e o grupo controle. Estudos de Apps *et al.* (1985) e Brown (1994) supõem que o aumento da frequência de respiração observada em alguns pacientes parkinsonianos depende de duas razões principais. Por um lado, a respiração superficial frequente pode ocorrer no caso em que a ventilação pulmonar está diminuída devido a alterações das propriedades do aparelho neuromuscular respiratório. Por outro lado, distúrbios funcionais do centro respiratório (incluindo a neurotransmissão dentro do gerador de padrão central respiratório) pode ser uma razão fundamental para aumento da frequência respiratória. Isto é observado no decurso do desenvolvimento da DP, e também sob condições de uso da terapia farmacológica específica desta doença. Estas perturbações podem resultar no desenvolvimento de "discinesias respiratórias" (Apps *et al.*, 1985; Brown, 1994). Estudos das peculiaridades do controle da respiração em pacientes parkinsonianos mostraram que a taquipnéia típica do estado de vigília nestes pacientes torna-se menos expressa no estado de sono. Isto é observado em conjunto com menores níveis de rigidez muscular e tremor, mas a frequência respiratória nunca atinge os valores típicos dos seres humanos saudáveis. A permanência de uma taquipnéia em pacientes parkinsonianos mesmo no estado de sono prova o envolvimento de alguns outros fatores (além de um aumento da rigidez da parede torácica) na gênese desse fenômeno (Apps *et al.*, 1985). Além dos mecanismos acima mencionados, Yadgarov e Nilolaenko (1971) relataram, que um aumento do nível de utilização de O₂ em pacientes parkinsonianos, que é determinado pela presença de tremor, rigidez dos músculos, e

a hiperatividade do sistema nervoso autônomo podem ser fatores responsáveis pelo desenvolvimento da taquipnéia nesses pacientes.

Obenour *et al.*, (1972) apesar de encontrar alterações respiratórias nos pacientes com DP, como já citado anteriormente, não encontrou diferença estatisticamente significativa na frequência respiratória (FR) nos pacientes estudados. Beuter e Vasilakos (1995) correlacionaram as flutuações de tremor com a respiração e encontraram alterações na respiração, como taquipnéia e dispnéia, mesmo sem flutuação motora, sendo mais comuns essas alterações em pacientes que não faziam uso de medicação levodopa e em estágios mais avançados da doença.

Parreira *et al.*, (2003), em seu estudo encontrou valores de FR maiores no grupo com DP. Porém em seu estudo os pacientes portadores da DP, apresentavam comprometimento moderado a grave (HY III-IV), diferente desta pesquisa, em que o grupo experimental ficou caracterizado como Parkinson inicial. Essa divergência de resultados pode sugerir que alterações na FR provavelmente ocorram com o progredir da doença, estando melhor caracterizada com a doença mais severa. De acordo com este estudo, percebe-se, então, que nos estágios iniciais da doença a FR pode não apresentar alterações significativas, tanto devido a alterações na sensibilidade ou percepção à hipóxia, contribuindo para que queixas respiratórias sejam pouco frequentes nesses indivíduos; ou os indivíduos não realizam esforço físico suficiente para desencadear adaptações respiratórias e manifestações de taquipnéia ou dispnéia.

7 CONCLUSÃO

Os déficits na força muscular respiratória, comuns na DP, decorrem da rigidez e do encurtamento muscular, o que gera uma desvantagem biomecânica à atividade da musculatura respiratória, ocasionando menor capacidade de expansão pulmonar, redução dos volumes pulmonares e déficit na excursão diafragmática.

Pode-se verificar ainda que os distúrbios respiratórios, à medida que a doença evolui, de acordo com os estágios da DP, tendem a um maior comprometimento do sistema respiratório, e conseqüentemente com pior prognóstico ao paciente.

Concluímos em nosso estudo que a diminuição do ângulo do seio costofrênico foi devido à diminuição da amplitude torácica, refletindo possivelmente características de padrão respiratório do tipo restritivo sendo este o fator determinante das alterações respiratórias restritivas dos animais estudados, limitando a elevação das estruturas do tórax e a

expansibilidade pulmonar. E essa alteração pode ser detectada mesmo nas fases iniciais da doença o que se mostra de grande importância, uma vez, que as alterações respiratórias são, em sua maioria, somente diagnosticadas e tratadas quando a doença se encontra em estágios avançados, onde a terapêutica poderá não ser mais tão eficiente.

Porém a excursão do diafragma e a frequência respiratória mostraram-se equivalentes entre os grupos estudados, possivelmente como resultado do estágio inicial da doença, ou pela rigidez ainda não ter comprometido a musculatura diafragmática. Estes resultados sugerem que as alterações respiratórias na DP podem surgir simultaneamente aos sintomas motores periféricos e não somente como uma consequência destes.

Desta forma, constatamos também a importância de submeter pacientes com DP a um programa de intervenção fisioterapêutica adequado às suas limitações e à gravidade da doença, direcionado para o aumento da amplitude torácica, o que promoverá a melhora da função respiratória e da capacidade funcional de modo a evitar complicações pulmonares; e deve ser iniciada mesmo sem a presença de sinais e sintomas de distúrbios respiratórios, de modo a impedir uma deterioração pulmonar mais rápida nesses pacientes.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abou-Sleiman PM, Mugit MM, Wood, NW. Expanding insights of mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease. *Nat Rev Neurosci* 2006; 7:207-19.
2. Ali SF, Binienda ZK, Imam SZ. Molecular aspects of dopaminergic neurodegeneration: gene-environment interaction in parkin dysfunction. *Int J Environ Res Public Health* 2011 Dec; 8(12):4702–4713.
3. Alves LA, Coelho AC, Brunetto AF. Fisioterapia respiratória na doença de parkinson idiopática: relato de caso. *Fisiot & Pesq* 2005; 12(3): 46-9.
4. André ES. Moléstia de Parkinson – Parkinson's Disease. *Rev Fisiot em Mov* 2004; 7(1):11-25.
5. Apps MCP, Sheaff PC, Ingram DA, et al. Respiration and sleep in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiat* 1985; 48:1240-1245.
6. Azeredo CAC. Fisioterapia Respiratória Moderna. 4ª. ed. São Paulo: Manole; 2002.
7. Barbeau A. The pathogenesis of Parkinson's Disease: a new hypothesis. *Can Med Assoc J* 1962; 87:802-807.
8. Barbosa E, Sallem F. Doença de Parkinson – Diagnóstico. *Rev Neurociências* 2005; 13(3):158-165.

9. Beuter A, Vasilakos K. Fluctuations in tremor and respiration in patients with Parkinson's Disease. *Parkinsonism & Related Disorders* 1995; 1(2):103-111.
10. Błaszczyk JW, Orawiec R, Duda-Kłodowska D, Opala G. Assessment of postural instability in patients with Parkinson's disease. *Exp Brain Res* 2007; 183:107-114.
11. Blum D, Torch S, Lambeng N, Nissou MF, Benabid AL, Sadoul R, et al. Molecular pathways involved in the neurotoxicity of 6-OHDA, dopamine and MPTP: contribution to the apoptotic theory in Parkinson's disease. *Prog Neurobiol* 2001; 65:135-172.
12. Bogaard JM, Hovestadt A, Meerwaldt JVD. Maximal expiratory and inspiratory flow-volume curves in Parkinson's disease. *Am Rev Resp Disease* 1989; (139):610-04.
13. Bonifati, V. Skaking the genome: new studies reveal genetic risk for Parkinson's disease. *Neurology* 2010; 9:136-138.
14. Bonjorni LA, Jamami M, Di Lorenzo VAP, Pessoa BV. Influência da doença de Parkinson em capacidade física, função pulmonar e índice de massa magra corporal. *Fisioter Mov* 2012 out/dez; 25(4):727-36.
15. Braak H, Tredici KD, Rub U, De Vos Rai, Sterur ENHJ, Braak E. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinsons disease. *Neurobiol Aging* 2003, 24:197-211.
16. Braga A, Xavier AL, Machado RP. Benefícios do treinamento resistido na reabilitação da marcha e equilíbrio nos portadores da doença de Parkinson. *Revista da Pós-Graduação da Universidade Gama Filho, Goiânia*, 2002.
17. Brown LK. Respiratory dysfunction in Parkinson's disease. *Clin Chest Med* 1994; 15:715-727.
18. Canning CG, Alison JA, Allen NE, Groeller H. Parkinson's disease: an investigation of exercise capacity, respiratory function, and gait. *Arch Phys Med Rehabil* 1997; 78(2):199-207.
19. Cardoso F, Dabien-Haddad L, Ribeiro A, Camargos S, Amaral S, Sulmonetti N. Função respiratória em doença de Parkinson - Pacientes não expostos a Levodopa. *Arq Neuropsiquiatr* 1998; 26(Suppl I):07.
20. Cardoso SR, Pereira JS. Distúrbio respiratório na doença de Parkinson. *Fisiot Brasil* 2000; 1(1):23-6.
21. Cardoso SR, Pereira JS. Análise da função respiratória na Doença de Parkinson. *Arq Neuropsiquiatr* 2002; 60(1):91-95.
22. Dauer W, Przedborski S. Parkinson's Disease: Mechanisms and Models. *Neuron* 2003; 39: 889-909.

23. De Bruin PFC, De Bruin VMS, Lees AJ, Pride N. Effects of treatment on airway dynamics and respiratory muscle strength in Parkinson's disease. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148:1576-80.
24. Derijk MC, Bretler MMB, Den Breeijen JH, et al. Dietary antioxidants and Parkinson's disease: the Rotterdam study. *Arch Neurol* 1997; 54:762-765.
25. Di Lorenzo VA, Silva AB, Sampaio LMM, Jamami M, Oishi J, Costa D. Efeitos do treinamento físico e muscular respiratório em pacientes com Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC) grave submetidos a BiPAP. *Rev Bras Fisio* 2003; 7(1):69-76.
26. Drake RL, Vogl AW, Mitchell A. Gray's: Anatomia para estudantes. 2ed. Churchill-Livingstone: Elsevier, 2010.
27. Drolet RE, Behrouz B, Lookingland KJ, Goudreau JL. Substrate-mediated enhancement of phosphorylated tyrosine hydroxylase in nigrostriatal dopamine neurons: evidence for a role of alpha-synuclein. *J Neurochem* 2006; 96:950-9.
28. Duthie EH, Katz PR. *Geriatría Prática*. 3 ed. Rio de Janeiro: Ed. Revinter; 2002.
29. Easdown LJ, Tessler MJ, Minuk J. Upper airway involvement in Parkinson's disease resulting in postoperative respiratory failure. *Can J Anaesth* 1995; 42:344-347.
30. Estenne M, Hubert M, De Troyer A. Respiratory muscle involvement in Parkinson's disease. *New Eng J Med* 1984; 311(2):1515-17.
31. Fearnley JM, Lees AJ. Ageing and Parkinson's disease: substantia nigra regional selectivity. *Brain* 1991; 114:2283-2301.
32. Ferreira FV, Prado ALC, Cielo CA, Busanello AR. A relação da postura corporal com a prosódia na doença de Parkinson: estudo de caso. *Rev CEFAC* 2007 Jul-Set; 9(3):319-29.
33. Ferreira FV, Cielo CA, Trevisan ME. Força muscular respiratória, postura corporal, intensidade vocal e tempos máximos de fonação na Doença de Parkinson. *Rev. CEFAC* 2012 Mar-Abr; 14(2):361-368.
34. Fleming SM, Schallert T, Ciucci MR. Cranial and related sensorimotor impairments in rodent models of Parkinson's disease. *Behav Brain Res* 2012 Jun; 231(2):317-22.
35. Floor E, Wetzel MG. Increased protein oxidation in human substantia nigra pars compacta in comparison with basal ganglia and prefrontal cortex measured with an improved dinitrophenylhydrazine assay. *J Neurochem* 1998; 70:268-75.
36. Fornai F, Schlueter OM, Lenzi P, Gesi M, Ruffoli R, Ferrucci M, et al. Parkinson like syndrome induced by continuous MPTP infusion: Convergent roles of the ubiquitin-proteasome system and alpha-synuclein. *Proc Natl Acad Sci* 2005; 102:3413-18.
37. Fulceri F, Biagioni F, Lenzi P, Falleni A, Gesi M, Ruggieri S, et al. Nigrostriatal damage with 6-OHDA: Validation of routinely applied procedures. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2006; 1074: 344-348.

38. Gardner W, Langdon N, Parkes J. Breathing in Parkinson's Disease. *Adv Neurol* 1986; 45:271-74.
39. Gelb DJ, Oliver E, Gilman S. Diagnostic criteria for Parkinson disease. *Arch Neurol* 1999; 56(1):33-39.
40. Gerlach M, Riederer P. Animal models of Parkinson's disease: an empirical comparison with the phenomenology of the disease in man. *J Neural Transm* 1996; 103:987-1041.
41. Glajch KE, Fleming SM, Surmeier DJ, Osten P. Sensorimotor assessment of the unilateral 6-hydroxydopamine mouse model of Parkinson's disease. *Behav Brain Res* 2012 May 1; 230(2): 309–316.
42. Goedert M. Alpha-synuclein and neurodegenerative diseases. *Nat Rev Neurosci* 2001;2:492-501.
43. Goulart F, Pereira LX. Uso de escalas para avaliação da doença de Parkinson em fisioterapia. *Fisio & Pesq* 2005 Jan-Abr; 11(1):49-56.
44. Goulart F, Santos CC, Teixeira-Salmela LF, Cardoso F. Análise do desempenho funcional em pacientes portadores de doença de Parkinson. *Acta Fisiátrica* 2004; 11(1):12-16
45. Goulart FRP, Barbosa CM, Silva CM, Teixeira-Salmela L, Cardoso F. O impacto de um programa de atividade física na qualidade de vida de pacientes com doença de Parkinson. *Rev bras Fisioter* 2005; 9(1):49-55.
46. Greenberg DA, Aminoff MJ, Simon RP. *Neurologia Clínica*. 5. ed. São Paulo: Artmed, 2005.
47. Guyton AC, Hall JE. *Tratado de fisiologia médica*. 10 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.
48. Haas BM, Trew M, Castle PC. Effects of respiratory muscle weakness on daily living function, quality of life, activity levels and exercise capacity in mild to moderate Parkinson's disease. *Austr J Physical Med and Rehab* 2004; 83(8):601-07.
49. Haase DCBV, Machado DC, Oliveira JGD. Atuação da fisioterapia no paciente com doença de Parkinson. *Fisio em Mov* 2008; 21(1):79-85.
50. Harper CJ, Shahgholi L, Cieslak K, Hellyer NJ, Strommen JA, Boon AJ. Variability in Diaphragm Motion During Normal Breathing, Assessed With B-Mode Ultrasound. *J Orthop Sports Phys Ther* 2013 Dec; 43(12):927–931.
51. Hughes AJ, Daniel SE, Kilford L, Lees AJ. Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: a clinicopathological study of 100 cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1992; 55(3):181-84.
52. Izquierdo-Alonso J, Jiménez-Jiménez F, Cabrera-Valdivia F, Mansilla-Lesmes M. Airway dysfunction in patients with Parkinson's disease. *Lung* 1994; 172:47-55.

53. Kandinov B, Giladi N, Korczyn AD. The effect of cigarette smoking, tea, and coffee consumption on the progression of Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 2007; 13(40):243-45.
54. Kharma, N. Dysfunction of the diaphragm: imaging as a diagnostic tool. *Curr Opin Pulm Med* 2013 Jul; 19(4):394-98.
55. Kolb B, Whishaw IQ. *An Introduction to Brain and Behavior*. 4 ed. Publisher Worth, 2013. ISBN 146411899X, 9781464118999.
56. Koo HJ, Lee HJ, Im H. Sequence determinants regulating fibrillation of human α -synuclein. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 368:772-78.
57. Langston JW, Ballard P, Tetrud JW, Irwin I. , Chronic Parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis. *Science* 1983 Feb; 4587(219):979-980.
58. Lent R. *Cem bilhões de neurônios? Conceitos fundamentais de neurociências*. 2 ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2010.
59. Levitzky MG. *Fisiologia Pulmonar*. 6 ed. São Paulo: Manole, 2004.
60. Limongi, JCP. *Conhecendo melhor a Doença de Parkinson – uma abordagem multidisciplinar com orientações práticas para o dia-a-dia*. São Paulo: Plexius, 2001.
61. Liu G, Zhang C, Yin J, Li X, Cheng F, Li Y, et al. Alpha-Synuclein is differentially expressed in mitochondria from different rat brain regions and dose-dependently down-regulates complex I activity. *Neurosci Lett* 2009;454:187-92.
62. Macintosh DJ. Respiratory dysfunction in Parkinson disease. *Prim Care* 1977; 4:441-445.
63. Mazzio EA, Reams RR, Soliman KF. The role of oxidative stress, impaired glycolysis and mitochondrial respiratory redox failure in the cytotoxic effects of 6-hydroxydopamine in vitro. *Brain Res* 2004; 1004:29-44.
64. Meneses MS, Teive HAG. *Doença de Parkinson*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.
65. Moreira CS, Martins KFC, Neri VC, Araújo PG. Doença de Parkinson: como diagnosticar e tratar. *Revista Científica da FMC* 2007; 2(2): 19-29.
66. Murdoch BE, Chenery HJ, Bowler S, Ingram JC. Respiratory function in Parkinson's subjects exhibiting a perceptible speech deficit: a kinematic and spirometric analysis. *J Speech Hear Disorders* 1989 Nov; 54(4):610-26.
67. Nicaretta DH, Pereira JS, Pimentel MLV. Distúrbios autonômicos na doença de Parkinson. *Rev. Assoc Med Bras* 1998 Apr/Jun; 44(2): 120-22.

68. Nicholson G, Pereira AC, Hall GM. Parkinson's disease and anaesthesia. *Br J Anaesth* 2002; 89(6):904-916.
69. Nitrini R, Bacheschi LA. *A neurologia que todo médico deve saber*. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2003.
70. Normando VMF, Brito MVH, Araújo JR FA, Albuquerque BCM. Repercussões do pneumoperitônio na amplitude da excursão diafragmática em suínos. *J Bras Pneumol* 2006; 32(1):16-22.
71. Nugent CA, Harris HW, Cohn J, Smith CC, Tyler FH. Dyspnea as a symptom in Parkinsons syndrome. *Am Rev Tuberc* 1958; 78:682-91.
72. Obenour WH, Stevens PM, Cohen AA, McCutchen JJ. The causes of abnormal pulmonary function in Parkinson's disease. *Am Rev Respir Dis* 1972; 105: 382-7.
73. Olanow CW, Stern MB, Sethi K. The scientific and clinical basis for the treatment of Parkinson disease. *Neurology* 2009; 72:S1-S136.
74. O'sullivan SB, Schmitz TJ. *Fisioterapia: avaliação e tratamento*. 4 ed. Barueri, SP: Manole, 2004.
75. Pandis MF, Starace A, Stefanelli F, Marruzz OP, Meoli I, De Simone G, et al. Modification of respiratory function parameters in patients with severe Parkinson's disease. *Neurol Sci* 2002 Sept; 23(2):69-70.
76. Panicek DM, Benson CB, Gottlieb RH, Heitzman R. The diaphragm: anatomic, pathologic, and radiologic considerations. *Radiographics* 1988 May; 8(3):385-425.
77. Parreira VF, Guedes LU, Quintão DG, Silveira EP, Tomich GM, Sampaio RF, et al. Padrão respiratório em pacientes portadores da doença de Parkinson e em idosos assintomáticos. *Acta Fisiátrica* 2003; 10(2):61-66.
78. Pearce RK, Owen A, Daniel S, Jenner P, Marsden CD. Alterations in the distribution of glutathione in the substantia nigra in Parkinson's disease. *J Neural Transm* 1997; 104:661-77.
79. Pereira JS, Cardoso SR. Distúrbio Respiratório na Doença de Parkinson. *Rev Fisioterapia Brasil* 2000; 1(1):23-26.
80. Perfeito R, Rego AC. Papel da alfa-sinucleína e da disfunção mitocondrial associada à doença de Parkinson. *Rev Neurocienc* 2011; in press.
81. Petit JM, Delhez L. Electrical activity of the diaphragm in Parkinson's disease. *Arch Int Physiol Biochim* 1961; 69: 413-17.
82. Pryor JA, Webber BA. *Fisioterapia para Problemas Respiratórios e Cardíacos*. 2 e. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.
83. Ribeiro FM, Camargos ERS, Souza LC, Teixeira AL. Animal models of neurodegenerative diseases. *Rev Bras Psiquiatr* 2013; 35(Supl 2):S82-S91.

84. Rowland, LP. Tratado de Neurologia. 10 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.
85. Sabaté M, González I, Ruperez F, Rodríguez M. Obstructive and restrictive pulmonary dysfunction in Parkinson´s disease. *J Neurol Sci* 1996 Jun; 138(1-2):114-119.
86. Salén JCW. Animal models: principles and problems. In: Rollin BE, Kesel ML. *The experimental animal in biomedical research: care, husbandry and well-being: an overview by species*. 3ed. Boston: CRC Press; 1995.
87. Sánchez HM, Barauna MA, Barauna KM, Viana CG, Morais EG, Sanchez LM, et al. Avaliação da posição corpórea do paciente com doença de Parkinson através da biofotogrametria computadorizada. *Fisiot Bras* 2005 Mai-Jun; 6(3):192-97.
88. Santos BF. Criação e manejo de camundongos. In: Andrade A, Pinto SC, Oliveira RS. *Animais de laboratório: criação e experimentação*. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2002 p.115-8.
89. Sathyaprabha TN, Kapavarapu PK, Pal PK, Thennarasu K, Raju TR. Pulmonary functions in Parkinson´s disease. *Indian J Chest Dis Allied Sci* 2005; 47(4):251-57.
90. Scanlan CL, Wilkins RL, Stoller JK. *Fundamentos da Terapia Respiratória de Egan*. 7 ed. São Paulo: Manole, 2000.
91. Schapira AH, Jenner P. Etiology and pathogenesis of Parkinson´s disease. *Mov Disord* 2011 May; 26(6):1049-55.
92. Schulz GM, Grant MK. Effects of speech therapy and pharmacologic and surgical treatments on voice and speech in Parkinson´s disease: a review of the literature. *J Commun Disord* 2000 Jan-Feb; 33(1):59-88.
93. Seccombe LM, Giddings HL, PG, Corbett AJ, Hayes MW, Peters MJ, Veitch EM. Abnormal ventilatory control in Parkinsons disease—Further evidence for non-motor dysfunction. *Resp Phys & Neur* 2011; 179:300– 04.
94. Semchuk KM, Love EJ, Lee RG. Parkinson´s disease and exposure to agricultural work and pesticide chemicals. *Neurology* 1992; 42:1328-1335.
95. Sidhu A, Wersinger C, Vernier P. Alpha-synuclein regulation of the dopaminergic transporter: a possible role in the pathogenesis of Parkinson´s disease. *FEBS Lett* 2004 May; 565(1-3):1–5.
96. Silberman C, Marinho V, Laks J, Engelhardt E. Demência e doença de Parkinson. Revisão de publicações brasileiras de 1980 a 2000. *Rev Bras Neurol* 2002 Out-Dez; 38(4):22-30.
97. Silverman EP, Sapienza CM, Saleem A, Carmichael C, Davenport PW, Hoffman-Ruddy B, et al. Tutorial on maximum inspiratory and expiratory mouth pressures in individuals with idiopathic Parkinson disease and the preliminary results of an expiratory muscle strength training program. *Neurorehabil* 2006; 21(1):71-79.

98. Snitkoff, GG. Testes biológicos. In: Gennaro AR. Remington: a ciência e a prática da farmácia. 20. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p.556-68.
99. Slutzky LC. Fisioterapia Respiratória nas Enfermidades Neuromusculares. Rio de Janeiro: Revinter, 1997. p.341.
100. Standaert DG, Galanter JM. Farmacologia da Neurotransmissão Dopaminérgica. In: Golan DE, Tashjian AH, Armstrong EJ, Armstrong AW. Princípios da Farmacologia. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012. p.166-185.
101. Stefani SD, Barros E. Clínica médica: consulta rápida. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2002.
102. Stokes M. Neurologia para fisioterapeuta. São Paulo: Premier, 2000.
103. Tamaki A, Matsuo Y, Yanagihara T, Abe K. Influence of thoracoabdominal movement on pulmonary function in patients with Parkinson's Disease: comparison with healthy subjects. *Neurorehabil Neural Repair* 2000; 14(1):43-47.
104. Tanner CM, Goldman SM. Epidemiology of Parkinson's disease. *Neurol Clin* 1996; 14(2):317-335.
105. Thomas C. Sociologies of Disability and Illness: Contested Ideas in Disability Studies and Medical Sociology, Macmillan, Basingstoke, UK, 2007.
106. Tieu K. A guide to neurotoxic animal models of Parkinson's disease. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2011 Sep; 1(1):a009316.
107. Togo T, Iseki E, Marui W, Akiyama H, Ueda K, Kosaka K. Glial involvement in the degeneration process of Lewy body-bearing neurons and the degradation process of Lewy bodies in brains of dementia with Lewy bodies. *J Neurol Sci* 2001; 184(1):71-75.
108. Umphred DA. Reabilitação Neurológica. 4 ed. Barueri-SP: Manole, 2004.
109. Vincken, WG et al. Involvement of upper-airway muscles in extrapiramidal disorders: a cause of airflow limitation. *N Engl J Med* 1984; 311(7):438-42.
110. Vitalo A, Fricchione J, Casali M, Berdichevsky Y, Hoge EA, Rauch SL, et al. Nest Making and Oxytocin Comparably Promote Wound Healing in Isolation Reared Rats. *PLoS ONE* 4(5): e5523. doi:10.1371/journal.pone.0005523.
111. Yamaguti WPS, Paulin E, Shibao S, Kodaira S, Chammas MC, Carvalho CRF. Avaliação ultra-sonográfica da mobilidade do diafragma em diferentes posturas em sujeitos saudáveis. *J Bras Pneumol* 2007; 33(4):407-13.
112. Yarnall A, Archibald N, Burn D. Parkinson's disease. *Medicine* 2012; 40(10):529-35.
113. Yadgarov IS, Nikolaenko ЁМ. "Peculiarities of external respiration in elderly parkinsonian patients". *Gerontology and Geriatrics (Atherosclerosis of the Cerebral Vessels and Age)* [in Russian], Institute of Gerontology, Akad. Med. Nauk SSSR, Kyiv (1971), pp.

360-363. In: Kolesnikova EE. Changes in the Control of External Respiratory Function in Parkinson's Disease. *Neurophy* 2006; 38(5/6):402-09.

114. Yu S, Li X, Liu G, Han J, Zhang C, Li Y, et al. Extensive nuclear localization of alpha-synuclein in normal rat brain neurons revealed by a novel monoclonal antibody. *Neurosci* 2007; 145:539-55.