

**RENATA MARIA SILVA SANTOS**

**DOENÇA DE PARKINSON: HÁ ASSOCIAÇÃO ENTRE DOR E  
RESPOSTA IMUNOLÓGICA?**

**Belo Horizonte  
2017**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA DA UFMG**  
**FACULDADE DE MEDICINA**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**DOENÇA DE PARKINSON: HÁ ASSOCIAÇÃO ENTRE DOR E  
RESPOSTA IMUNOLÓGICA?**

**Belo Horizonte**  
**2017**

**RENATA MARIA SILVA SANTOS**

**DOENÇA DE PARKINSON: HÁ ASSOCIAÇÃO ENTRE DOR E  
RESPOSTA IMUNOLÓGICA?**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Patologia da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Patologia.

Área de concentração: Patologia Investigativa.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Camila Megale de Almeida Leite

Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Paula Luciana Scalzo

**Belo Horizonte**

**2017**





**RENATA MARIA SILVA SANTOS**

**DOENÇA DE PARKINSON: HÁ ASSOCIAÇÃO ENTRE DOR E  
RESPOSTA IMUNOLÓGICA?**

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Neurobiologia Profª. Conceição Machado e no Laboratório das Interações Celulares do Departamento de Morfologia do Instituto de Ciências Biológicas

**Belo Horizonte**

**2017**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por permitir que eu chegasse até aqui em busca de um sonho.

Aos meus amados Arthur, Athos e Itamar, pelo amor, companheirismo e suporte, sem os quais eu não poderia realizar este trabalho.

Em especial à Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Camila Megale, agradeço pelos ensinamentos, conselhos, dedicação e incentivo para a realização deste trabalho.

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Paula Luciana Scalzo, pelas valiosas contribuições e pela participação no meu crescimento científico.

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Walderez Ornelas Dutra, por sua disponibilidade, assistência e valiosas contribuições.

À Luísa Magalhães, pela disponibilidade, acolhimento, contribuições e parceria.

Aos colegas do Laboratório das Interações Celulares I, Livia e Maurício, pela colaboração.

Aos professores e funcionários dos Departamentos de Morfologia e Patologia e ao Programa de Pós-Graduação em Patologia em especial à Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Janice Henriques, à Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Tatiane Paixão e Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Milene Rachid, pelos ensinamentos e incentivo.

Aos colegas do mestrado, especialmente à Grazielle pelo acolhimento, valiosas colaborações, disponibilidade, paciência e amizade.

Aos pacientes que, voluntariamente, participaram deste estudo.

A todos os meus familiares, em especial à minha irmã Célia, amigos e colegas de trabalho.

## RESUMO

Os sintomas não motores da Doença de Parkinson (DP), tais como alterações autonômicas, afetivas, cognitivas, distúrbios do sono, fadiga e dor, são muito frequentes impactam negativamente o indivíduo. É sabido que o sistema imunológico está relacionado a diversos sinais e sintomas da DP, assim como contribui para geração e manutenção da dor. O presente estudo teve como objetivo avaliar o perfil de expressão de citocinas por leucócitos totais, monócitos, neutrófilos, linfócitos e seus subtipos CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> no sangue periférico de indivíduos com DP, com e sem dor, por meio de citometria de fluxo. Dezesesseis indivíduos com diagnóstico de DP (8 com dor e 8 sem dor) foram recrutados do Ambulatório de Neurologia do Centro Metropolitano de Especialidades Médicas da Santa Casa de Belo Horizonte/MG e submetidos à avaliação de função cognitiva, sinais e sintomas de DP, fadiga, distúrbios do sono, depressão e dor por instrumentos validados. Foi realizada a coleta de sangue para imunofenotipagem por citometria de fluxo de leucócitos do sangue periférico utilizando-se os marcadores CD4, CD8, HLA-DR, TNF, IL-6 e IL-10. Não foram detectadas diferenças sócio-demográficas ou clínicas nos parâmetros avaliados entre os grupos com e sem dor. A avaliação da dor indicou presença de dor intensa e profunda em várias regiões corpóreas. Escores mais altos de dor se correlacionaram com o estadiamento da doença e com o maior comprometimento do humor e da cognição. A análise do perfil imunológico não evidenciou diferenças na expressão de HLA-DR, TNF, IL-6 e IL-10 na população de monócitos, linfócitos totais ou T CD4<sup>+</sup>. No entanto, na população total de leucócitos, o grupo com dor apresentou menor expressão de HLA-DR, IL-10 e TNF, bem como expressão diminuída de IL-6 em neutrófilos, em comparação ao grupo sem dor. Na população de linfócitos T CD8<sup>+</sup>, houve maior expressão de TNF no grupo com dor. A razão IL-6/IL-10 foi menor no grupo com dor e a razão TNF/IL-10 foi maior no grupo com dor nos linfócitos T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>, respectivamente. O perfil imunológico avaliado através da expressão de HLA-DR, TNF, IL-6 e IL-10 sinaliza uma resposta imunológica distinta na presença da dor em indivíduos com DP.

Palavras chave: Doença de Parkinson, Dor, Citocinas, Citometria de fluxo.

## ABSTRACT

Non-motor symptoms of Parkinson's Disease (PD) include autonomic alterations, cognitive and affective dysfunctions, sleep disturbances, fatigue, and pain. Immunological response plays a crucial role in both PD and pain conditions. The aim of this study was to evaluate expression of cytokines in peripheral blood leukocytes of PD patients in order to determine if the presence of pain is associated to a specific immunological profile. Sixteen PD patients (8 with pain and 8 without pain) were recruited and evaluated for signs and symptoms, cognitive function, depression, fatigue, sleep disturbances, and pain, if present. Blood was collected for flow cytometry immunophenotyping with markers for CD4, CD8, HLA-DR, TNF, IL-6, and IL-10. No difference regarding demographic and clinical data was observed between with pain and no-pain groups. Greater intensities of pain were associated with more severe disease and mood and cognitive impairment. Immunological analysis did not show differences in expression of HLA-DR, TNF, IL-6, and IL-10 in monocytes, lymphocytes or CD4+ T cell population between groups. However, with pain group showed lower expression of evaluated molecules in total leucocyte population and of IL-6 in neutrophils. With pain group CD8+ T cell population had greater expression of TNF. IL-6/IL-10 and TNF/IL-10 ratios in PD patients with pain were lower in CD4+ T cell populations and greater in CD8+ T cell population, respectively, in comparison to no-pain group. Although it was not possible to establish a specific immunological profile for PD patients with pain, our data showed an altered immune response in this group. Further studies with greater population and broader immunological analysis are desirable to establish or not if pain in PD leads to a specific profile of immune activation or regulation.

Keywords: Parkinsonism, Pain, Cytokines, Flow cytometry.

**LISTA DE FIGURAS**

<b>Figura 1</b> - Estratégia de aquisição por citometria de fluxo.....	36
<b>Figura 2</b> - Expressão da molécula HLA-DR (A) e das citocinas IL-6 (B), IL-10 (C) e TNF (D) na população total de leucócitos dos pacientes com e sem dor, na ausência ou presença de estímulo (LPS).....	43
<b>Figura 3</b> - Expressão da molécula HLA-DR (A) e das citocinas IL-6 (B), IL-10 (C) e TNF (D) na população de monócitos dos pacientes com e sem dor na ausência ou presença de estímulo (LPS).....	44
<b>Figura 4</b> - Expressão das citocinas IL-6 (B), IL-10 (C) e TNF (D) na população de neutrófilos dos pacientes com e sem dor na ausência ou presença de estímulo (LPS).....	45
<b>Figura 5</b> - Expressão da molécula HLA-DR (A) e das citocinas IL-6 (B), IL-10 (C) e TNF (D) na população de linfócitos dos pacientes com e sem dor na ausência ou presença de estímulo (LPS).....	46
<b>Figura 6</b> - Expressão da molécula HLA-DR (A) e das citocinas IL-6 (B), IL-10 (C) e TNF (D) na população de linfócitos CD4 dos pacientes com e sem dor na ausência ou presença de estímulo (LPS).....	47
<b>Figura 7</b> - Expressão da molécula HLA-DR (A) e das citocinas IL-6 (B), IL-10 (C) e TNF (D) na população de linfócitos CD8 dos pacientes com e sem dor na ausência ou presença de estímulo (LPS). ....	48

**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1</b> - Características sócio-demográficas dos participantes do estudo.....	38
<b>Tabela 2</b> - Comparação dos dados clínicos entre pacientes com e sem dor.....	39
<b>Tabela 3</b> - Características da dor.....	40
<b>Tabela 4</b> - Classificação da dor de acordo com o Questionário de McGill.....	41
<b>Tabela 5</b> - Correlação entre os dados clínicos e os níveis de dor.....	42
<b>Tabela 6</b> - Razões da expressão de citocinas pró-inflamatórias (IL-6, TNF) por citocina regulatória (IL-10) entre pacientes com e sem dor na ausência ou presença de estímulo (LPS).....	49

**LISTA DE ABREVIATURAS**

<b>ANOVA</b>	Análise de Variância
<b>APC</b>	Alofococianina
<b>BDI</b>	Inventário de Depressão de Beck
<b>CD4</b>	Cluster of Differentiation 4
<b>CD8</b>	Cluster of Differentiation 8
<b>CEM-BH</b>	Centro de Especialidades Médicas da Santa Casa de Belo Horizonte
<b>Cy</b>	Cychrome
<b>DP</b>	Doença de Parkinson
<b>D2R</b>	Receptor Dopamina 2
<b>D3R</b>	Receptor Dopamina 3
<b><i>E. coli</i></b>	<i>Escherichia coli</i>
<b>EVA</b>	Escala Visual Analógica
<b>FACS</b>	Fluorescence-activated cell sorting
<b>FITC</b>	Fluorescein isothiocyanate
<b>HLA-DR</b>	Human Leukocyte Antigen - antigen D Related
<b>HY</b>	Escala de Estágios de Incapacidade de Hoehn e Yahr
<b>IASP</b>	International Association for the Study of Pain
<b>ICB</b>	Instituto de Ciências Biológicas
<b>IL</b>	Interleucina
<b>IL1 <math>\beta</math></b>	Interleucina 1 $\beta$
<b>IL-6</b>	Interleucina 6
<b>IL-10</b>	Interleucina 10
<b>IFN <math>\gamma</math></b>	Interferon $\gamma$

<b>LPS</b>	Lipopolissacarídeo
<b>MEEM</b>	Mini Exame do Estado Mental
<b>MHC</b>	Complexo Maior de Histocompatibilidade
<b>MHC I</b>	Complexo Maior de Histocompatibilidade classe I
<b>MHC II</b>	Complexo Maior de Histocompatibilidade classe II
<b>MPQ</b>	McGill Pain Questionnaire
<b>NH<sub>4</sub>Cl</b>	Cloreto de amônio
<b>KHCO<sub>3</sub></b>	Bicarbonato de potássio,
<b>Na<sub>2</sub>EDTA</b>	Etileno diamino tetracético dissódico
<b>NWC</b>	Número de Palavras Escolhidas
<b>OMS</b>	Organização Mundial da Saúde
<b>PBS</b>	Tampão Fosfato
<b>PDSS</b>	Escala de Sono da Doença de Parkinson
<b>PE</b>	Ficoeritrina
<b>PFS-16</b>	Escala de fadiga da Doença de Parkinson - 16
<b>PGE<sub>2</sub></b>	Prostaglandina E <sub>2</sub>
<b>PPI</b>	Intensidade de Dor Presente
<b>PRI</b>	Índice de Estimativa de Dor
<b>REM</b>	Rapid Eye Movement
<b>RPMI</b>	Roswell Park Memorial Institute
<b>SE</b>	Escala de Schwab e England
<b>SNC</b>	Sistema Nervoso Central
<b>SNP</b>	Sistema Nervoso Periférico
<b>SNpc</b>	Substância Negra parte compacta
<b>SPSS</b>	Statistical Package for the Social Sciences

<b>TCLE</b>	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
<b>TCR</b>	T Cell Receptor
<b>Th</b>	Linfócitos T (helper)
<b>TNF</b>	Fator de necrose tumoral
<b>UPDRS</b>	Unified Parkinson's disease Rating Scale

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	vi
<b>ABSTRACT</b> .....	vii
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	viii
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	ix
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....	x
<b>1 - INTRODUÇÃO</b> .....	15
1.1 Doença de Parkinson.....	15
1.2 Dor.....	18
1.3 Dor e DP.....	20
1.4 Imunidade Celular.....	21
1.5 Imunidade e DP.....	24
1.6 Imunidade e Dor.....	25
<b>2- JUSTIFICATIVA</b> .....	26
<b>3- OBJETIVOS</b> .....	27
3.1 Objetivo geral.....	27
3.2 Objetivos específicos.....	27
<b>4 - MATERIAS E METODOS</b> .....	27
4.1 Delineamento do estudo e aprovação ética.....	27
4.2 Participantes.....	28
4.2.1 Recrutamento e Adesão.....	28
4.3 Procedimentos.....	29
4.3.1 Mini-Exame do Estado Mental.....	29
4.3.2 Escala Unificada de Avaliação da Doença de Parkinson.....	29
4.3.3 Escala de Fadiga da Doença de Parkinson.....	30
4.3.4 Inventário de Depressão de Beck.....	30
4.3.5 Escala de Sono da Doença de Parkinson.....	31
4.3.6 Questionário de Dor McGill.....	31
4.3.7 Escala Visual Numérica.....	32
4.4 Coleta de Material Biológico.....	33
4.5 Citometria de fluxo.....	33
4.6 Análise Estatística.....	37
<b>5 - RESULTADOS</b> .....	37
5.1 Características sócio-demográficas e clínicas.....	37
5.2 Avaliação do perfil imunológico por citometria de fluxo.....	42
5.2.1 População total de leucócitos.....	42
5.2.2 Células da resposta inata.....	43
5.2.3 Células da resposta adaptativa.....	45
<b>6 - DISCUSSÃO</b> .....	50
<b>7 - CONCLUSÃO</b> .....	56

<b>8 - REFERÊNCIAS.....</b>	<b>57</b>
<b>10 - APÊNDICES.....</b>	<b>68</b>
Apêndice A – Roteiro de Avaliação.....	68
Apêndice B – Termo de Consentimento Livre Esclarecido.....	70
<b>9 - ANEXOS.....</b>	<b>74</b>
Anexo 1– Aprovação Ética UFMG.....	74
Anexo 2 – MEEM.....	75
Anexo 3 – UPDRS.....	76
Anexo 4 – PFS -16.....	83
Anexo 5 – BDI.....	84
Anexo 6 – PDSS.....	86
Anexo 7 – McGill.....	87
Anexo 8 – EVN.....	88
Anexo 9 – Artigo submetido.....	89

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. Doença de Parkinson

A Doença de Parkinson (DP) é a segunda doença neurodegenerativa progressiva mais comum do sistema nervoso central (SNC). Sua prevalência está associada com a idade, sendo que cerca de 4% dos pacientes apresentam início do quadro clínico antes dos 50 anos (ALVES et al., 2008). Dados epidemiológicos internacionais mostram que aproximadamente 1,6% da população com mais de 60 anos é afetada (BARBOSA et al., 2006; PRINGSHEIM et al., 2014), mas a prevalência aumenta para 3 a 5% na população com idade superior a 85 anos (ALVES et al., 2008). A DP esporádica é responsável por cerca de 90% dos casos (DE LAU e BRETELER, 2006), no entanto, o parkinsonismo pode estar presente também em problemas motores decorrentes de acidente vascular cerebral (que afete os gânglios basais), do uso de medicamentos ou de substâncias tóxicas como solventes e da intoxicação por monóxido de carbono (LOCK et al., 2013). Atualmente, estudos epidemiológicos mais robustos revelam uma tendência de maior acometimento em pessoas do sexo masculino, considerando a faixa etária entre 50 e 59 anos (PRINGSHEIM et al., 2014).

Do ponto de vista patológico, a DP é uma doença degenerativa caracterizada pela morte de neurônios dopaminérgicos da substância negra compacta mesencefálica (SNpc) do SNC e pela presença de inclusões neuronais citoplasmáticas de agregados de proteínas mal formadas, principalmente  $\alpha$ -sinucleína, conhecidas como corpúsculos de Lewy (SAMII et al., 2004). A SNpc faz parte dos núcleos da base, os quais são formados também pelos núcleos caudado e putâmen, que constituem o estriatum, pelo globo pálido e núcleo subtalâmico (PURVES et al., 2004). Os núcleos da base e estruturas relacionadas estão envolvidos principalmente no controle motor, além de papéis como aprendizagem motora, funções executivas, comportamento e emoção (FIORE et al., 2015).

A via nigro-estriatal está implicada na motricidade voluntária e grande parte de sua atividade é modulada pela dopamina. Esse neurotransmissor também é importante no sistema de recompensa

e motivação no SNC, bem como está relacionado ao sistema nervoso autonômico simpático (KANDEL, 2000). Os receptores dopaminérgicos são subdivididos de acordo com suas características bioquímicas, fisiológicas e estruturais, de forma que a família D1 realiza sinapses excitatórias e a família D2, sinapses inibitórias. As eferências dos núcleos da base estão envolvidas nas vias direta e indireta do controle da motricidade voluntária. A via direta atua na desinibição do tálamo, levando à facilitação do movimento e a via indireta modula os padrões de movimento (PURVES et al., 2004). O balanço entre as vias direta e indireta no estriado e no globo pálido determinam a motricidade normal. Na DP, ocorre uma superativação da via indireta e hipoativação da via direta, levando à dificuldade de iniciação do movimento (SURMEIER et al., 2011).

O diagnóstico da DP é essencialmente clínico pela presença dos sinais cardinais, que incluem tremor de repouso, rigidez, bradicinesia (que consiste em lentidão de movimentos) e instabilidade postural. Esses sinais e sintomas surgem depois de extensa neurodegeneração, com perda de 60-70% das células dopaminérgicas da SNpc e cerca de 80% das estriatais. A etiologia da degeneração destes neurônios e do acúmulo de  $\alpha$ -sinucleína permanece desconhecida, sendo relevantes os fatores ambientais, a predisposição genética e o envelhecimento, através de mecanismos como disfunção mitocondrial, estresse oxidativo, excitotoxicidade glutamatérgica e neuroinflamação (SAMII et al., 2004; SHULMAN et al., 2011; ATAIE et al., 2016).

A descoberta de Ehringer e Hornykiewicz em 1960, acerca da diminuição das concentrações de dopamina no estriado de pacientes com DP possibilitou o início dos testes com levodopa e o desenvolvimento da levodopa oral como tratamento, no final dessa década (BIRKMAYER, HORNYKIEWICZ, 1961; COTZIAS *et al.*, 1969; BJORKLUND, DUNNETT, 2007; HORNYKIEWICZ, 2006). As drogas percussoras de levodopa têm sido efetivas no controle dos sinais motores da DP, especialmente a rigidez e a bradicinesia, no entanto, favorecem o aparecimento das flutuações motoras e discinesias associadas ao uso prolongado (WANG, 2001; DEOGAONKAR, SUBRAMANIAN, 2005; GUIGONI *et al.*, 2005). Flutuações motoras se referem a respostas motoras flutuantes à administração da levodopa, com encurtamento da duração de seu efeito (fenômeno *wearing-off*) e interrupção súbita de sua ação, levando a uma situação "resposta-falta de resposta" (fenômeno *on-off*) ao medicamento. As discinesias, por sua

vez, apresentam-se como movimentos involuntários (WANG, 2001; DEOGAONKAR, SUBRAMANIAN, 2005; GUIGONI *et al.*, 2005).

Atualmente está reconhecido que o quadro clínico da DP apresenta um amplo espectro de manifestações não motoras como alterações autonômicas (GARCIA-RUIZ *et al.*, 2014; GAO *et al.*, 2011), alterações afetivas e cognitivas (MENON *et al.*, 2015; MEIRELES e MASSANO, 2012), distúrbios do sono (SELVARAJ e KESHAVAMURTHY, 2016), fadiga (BRUNO e SETHARES, 2015), bem como alterações sensoriais e de processamento da dor (ROSS *et al.*, 2008; WANJUN *et al.*, 2014; CURY *et al.*, 2016).

Das desordens neuropsiquiátricas comumente associadas à DP, a depressão é a mais comum, afetando cerca de 40% dos pacientes (SHULMAN *et al.*, 2002; NUTI *et al.*, 2004; RAVINA *et al.*, 2007). Os principais sintomas da depressão incluem falta de entusiasmo, tristeza, sentimentos de culpa e baixa auto-estima. Embora a depressão seja um transtorno comum, sua etiologia na DP não está clara. Admite-se que seja um processo multifatorial, podendo se apresentar como um estado reativo a uma doença crônica e incapacitante, bem como um processo neuropatológico subjacente, envolvendo anormalidades nos sistemas centrais de neurotransmissores (MAYEUX *et al.*, 1986; TANDBERG *et al.*, 1996; MENON *et al.*, 2015).

O declínio cognitivo é comum à medida que a DP progride, no entanto, alguns pacientes apresentam comprometimento cognitivo já no momento do diagnóstico (BEYER *et al.*, 2007). Tanto o comprometimento cognitivo leve, considerado anormal para a idade com preservação das atividades funcionais basicamente normais, quanto a demência, são muito frequentes na DP e a incidência aumenta com a idade, duração e gravidade da doença. A taxa de prevalência de demência em pacientes com DP é cerca de 30%, sendo que pelo menos 75% dos pacientes que sobrevivem mais de 10 anos com a doença irão desenvolver demência (COZAC *et al.*, 2016; AARSLAND e KURZ, 2010).

Disfunção do sono é um dos sintomas não motores mais marcantes da DP, afetando cerca de 90% dos pacientes, e incluem insônia, distúrbios do comportamento do sono REM, síndrome das pernas inquietas ou movimentos periódicos de extremidades, noctúria, sonolência excessiva

diurna e alucinações (VIDENOVIC e GOLOMBEK, 2013; MARGIS et al., 2009). A etiologia dos distúrbios do sono em pacientes com DP é multifatorial, sendo que há cada vez mais evidências de uma base neuroanatômica subjacente para estas perturbações de sono-vigília, sugerindo interrupção do sistema circadiano, além da influência dos efeitos da medicação dopaminérgica (NAJAFI et al., 2013; VIDENOVIC e GOLOMBEK, 2013; ABBOTT e VIDENOVIC, 2016; SELVARAJ e KESHAVAMURTHY, 2016).

A ocorrência de fadiga é também bastante comum na DP, sendo considerado o mais incapacitante dos sintomas não motores da doença por cerca de 50% dos pacientes (FRIEDMAN et al., 2016). A definição de fadiga é bastante subjetiva e pacientes com DP costumam descrevê-la como uma sensação de cansaço, falta de energia ou exaustão e de início imprevisível, muitas vezes atribuída a níveis de atividade (FU et al., 2016). Atualmente, a fadiga tem sido estudada e relacionada à resposta inflamatória sistêmica na DP (PEREIRA et al., 2016).

## **1.2. Dor**

Outro sintoma importante na DP é a presença de dor, que afeta grande parte dos pacientes. Segundo a International Association for the Study of Pain (IASP), a dor é “uma experiência sensorial e emocional desagradável associada a lesões reais ou potenciais ou descrita em termos de tais lesões” (IASP, 2011). Dados revisados em Wasner e Deuschl (2012) apontam que a prevalência da dor é de 30% a 83% nesses pacientes e apresenta-se como dor intensa em grande número de regiões corpóreas (McNAMARA et al., 2010; WANJUN et al., 2014). Experiências dolorosas são profundamente pessoais, filtradas pela personalidade, estilo de enfrentamento, ambiente em que a pessoa vive e são influenciadas por diversos fatores biológicos, psíquicos e sociais. A definição da IASP de 2011 tem substituído conceitos anteriores de que a dor seria um problema estritamente físico ou biológico, pois leva em conta que as reações emocionais e psicossociais à dor são clinicamente significativas (IOM, 2011).

Existem dois tipos de dor: a nociceptiva e a neuropática. A primeira ocorre por ativação fisiológica de receptores ou das vias da dor e está relacionada à lesão de tecidos corpóreos não nervosos. Já a segunda é definida como dor iniciada por lesão ou disfunção do sistema nervoso,

sendo mais bem compreendida como resultado da ativação anormal da via nociceptiva (IASP 1994; SCHESTATSKY, P. 2008; IOM, 2011).

As vias de sinalização da dor envolvem a sensibilização do SNP e do SNC. A sensibilização periférica envolve a diminuição dos limiares de ativação de nociceptores por ação de produtos inflamatórios e imunológicos (JULIUS e BASBAUM, 2001). A sensibilização central, por sua vez, consiste na ativação patológica e exacerbada de resposta em neurônios nociceptivos centrais por modificações na modulação e transmissão dos sinais nociceptivos, reorganização anatômica e alterações eletrofisiológicas (MOALEM e TRACEY, 2006). A sensibilização central tem papel fundamental no desenvolvimento e na sintomatologia da dor crônica.

Do ponto de vista temporal, a dor aguda, por definição, é de início súbito e de curta duração. Geralmente, está associada a um evento específico, lesão ou doença e, geralmente, desaparece quando se resolve a causa subjacente. A dor crônica, por sua vez, tem duração superior a 3 meses, não está relacionada à persistência de lesão ou dano tecidual aparente e torna-se uma entidade patológica *per se* (WASNER e DEUSCHL, 2012). Evidências mostram que a dor crônica não constitui somente uma extensão temporal da dor aguda, mas gera alterações nos circuitos nociceptivos e nos neurotransmissores, assim como outros fenômenos neuroplásticos, levando a modificações nas vias da dor (transmissão, modulação e interpretação), com consequente permanência da sintomatologia dolorosa. (KUNER e FLOR, 2017; MIRANDA et al., 2016; VON HEHN et al., 2012). Embora dores agudas e crônicas sejam conceituadas separadamente, um determinado indivíduo pode experimentá-las simultaneamente; no entanto, é a dor crônica que apresenta impacto extremamente negativo na funcionalidade e qualidade de vida (IOM, 2011; DIATCHENKO et al., 2013).

Exames de neuroimagem revelaram ativação em diferentes áreas do SNC em decorrência de dor nociceptiva aguda ou durante a dor crônica. Conhecidas como “matriz de dor”, as regiões que apresentam tais alterações são o córtex pré-frontal medial, núcleo acumbens, o córtex cingulado anterior, ínsula, amígdala, substância cinzenta periaquedutal, locus cerúleos e medula rostral. Adicionalmente, a experiência de dor está associada a respostas psicológicas e

neurofisiológicas e é processada por uma rede neural que inclui áreas sensório-discriminativas, motivacional-afetivas e cognitivas (VON HOEHN et al., 2012; FORD 2010; POLLI et al., 2016).

### **1.3. Dor e DP**

Na DP, o processamento da dor pode ser afetado desde a transmissão de estruturas periféricas aos centros superiores até sua recepção e interpretação, devido à neurodegeneração progressiva multifocal, que pode ainda interferir em estruturas anatômicas envolvidas no mecanismo da dor e, inclusive, levar à diminuição na atividade do sistema de controle inibitório descendente dos gânglios da base (SKOGAR e LOKK, 2016; FIL et al., 2013). A dor no parkinsonismo primário ou idiopático pode ser categorizada como músculo-esquelética, radicular/neuropática, distônica e central (FORD, 2010). Os tipos mais frequentes são a dor distônica, a dor radicular/neuropática e a dor musculoesquelética (HANAGASI et al., 2001; SANTOS-GARCIA et al., 2011; RANA et al., 2013; WASNER e DEUSCH, 2012).

A prevalência de dor musculoesquelética é significativamente maior nos indivíduos com DP e os locais do corpo comumente envolvidos são a coluna (região lombar), o joelho e o ombro. As dores musculoesqueléticas na DP geralmente se manifestam devido à postura anormal, rigidez e acinesia, desencadeando a distonia dolorosa (FORD, 2010). A distonia dolorosa mais comumente relatada pelos pacientes com DP manifesta-se no início da manhã, oriunda dos baixos níveis de estimulação dopaminérgica, anteriores à administração da levodopa, bem como da maior intensidade de rigidez e acinesia (KIM et al., 2013; RANA et al., 2013). Presume-se que a dor central na DP seja devido ao processo da doença e não uma consequência de problemas motores ou musculoesqueléticos. Já a dor neuropática apresenta-se de forma localizada no território de inervação do nervo ou em raiz nervosa, sendo também descrita como dor radicular. Alguns pacientes descrevem a dor central com características comumente associadas à dor neuropática como queimação ou formigamento (FORD, 2010).

Já está estabelecido que, com o avanço da doença, um número significativo de pacientes apresenta anormalidades do processamento nociceptivo, com diminuição importante do limiar de dor. Adicionalmente, o tratamento dopaminérgico pode modular esse limiar, independente da

etiologia da dor, bem como a ausência de levodopa pode levar à ativação generalizada do córtex sensitivo na resposta à dor (POLLI et al., 2016; FORD 2010). Um corpo crescente de estudos tem apontado que os núcleos da base desempenham papel importante na informação nociceptiva, apresentando alterações associadas à dor persistente em pacientes com DP (FORD, 2010; POLLI et al., 2016). O estudo de Rana e colaboradores (2016) investigou a relação entre características da dor, gravidade da ansiedade e qualidade do sono, através da comparação entre grupos de pacientes com DP, com dor e sem dor, e controles. Os autores concluíram que a dor na DP parece estar ligada a características específicas como a presença de acatisia, tensão ou dor aguda, bem como ao aumento da ansiedade e piora da qualidade do sono.

#### **1.4. Imunidade Celular**

O sistema imunológico estabelece dinâmico processo fisiológico de tolerância e resposta entre o indivíduo e seu meio ambiente, de forma que uma desregulação desse sistema pode acarretar o desenvolvimento de uma doença. O sistema imune inato desempenha um papel crucial no início da lesão, respondendo prontamente a sinais de morte celular, antígenos como DNA viral e bactérias e citocinas liberadas por outras células (KANNARKAT et al., 2013). As células da imunidade inata do sangue periférico incluem, entre outras, os monócitos e os neutrófilos. A ativação do sistema imune inato leva à produção de mediadores solúveis do sistema imunológico, como quimiocinas e citocinas, e estes são o estímulo para formação da resposta imune adaptativa, representada pelos linfócitos, que é capacitada para montar estratégias de respostas mais específicas e orientadas, promovendo reações anti-inflamatórias ou pró-inflamatórias para modular o microambiente (ALLEN REISH e STANDAERT, 2015; SHLOMCHIK e WEISEL, 2012; SALMOND e ZAMOYSKA, 2011).

Os linfócitos T, importantes na regulação da resposta imunitária adaptativa a antígenos específicos, são originários da medula óssea e durante seu amadurecimento no timo, sofrem um processo de seleção, através do reconhecimento de moléculas do Complexo Maior de Histocompatibilidade (MHC), expressas por células locais. Nos seres humanos, moléculas de MHC-II incluem o Antígeno Leucocitário Humano HLA-DR, HLA-DQ e HLA-DP. Os linfócitos T CD4 são chamados Th (helper) e os linfócitos T CD8 são conhecidos como citotóxicos. Os

subtipos de células T requerem diferentes tipos de apresentação de antígeno e, nesse processo, as moléculas acessórias CD4 e CD8 participam do reconhecimento de antígenos pelas células T, em associação com MHC de classe II e I, respectivamente (GINALDI et al., 1996). Aquelas células T que reconhecem peptídeos do próprio organismo acoplados às moléculas do MHC, com alta afinidade, habitualmente são eliminadas, evitando a autoimunidade (KANNAKART et al., 2013).

Micróglia são células residentes no cérebro que funcionam como os principais contribuintes da imunidade inata no local, atuando na fagocitose de restos celulares, processamento e apresentação de antígenos e produção de citocinas, pró ou antiinflamatórias, a depender do estímulo, exercendo importante papel na homeostase do microambiente (ALLEN REISH, STANDAERT. 2015). Um corpo crescente de evidências têm demonstrado a influência da inflamação crônica, da ativação imune na DP e da complexa interação entre inflamação e disfunção neuronal no ciclo de injúrias e respostas que podem perpetuar a neuroinflamação (HONG, IM. 2016). O processo inflamatório pode induzir a morte neuronal direta ou indireta, por meio da produção de citocinas neurotóxicas. Fatores celulares decorrentes da morte neuronal, apoptótica ou necrótica, ao serem reconhecidos por células imunes induzem uma resposta imunitária adaptativa, acarretando uma perda seletiva de determinada população neuronal, enquanto outras são poupadas (YAMADA et al., 1992; KANNAKART, 2013; YAMANE e PAUL, 2012).

Citocina é um termo genérico, amplamente utilizado para nomear pequenas proteínas liberadas pelas células que podem ter efeito sobre células vizinhas ou distantes. As citocinas são responsáveis por estabelecer as interações e a comunicação entre células, sendo, normalmente, produzidas por linfócitos T (Th) e macrófagos e são, em sua maioria, representadas pelas interleucinas. Apresentando grande redundância em sua atividade, diferentes citocinas podem exercer funções semelhantes, bem como sua produção pode estimular a produção de outras citocinas, desencadeando, na maioria dos processos, um efeito em cascata (ZHANG e AN, 2007). A contribuição das citocinas pró-inflamatórias para a dor pode ocorrer por ação direta em neurônios aferentes primários, bem como por meio de ações indiretas, através da ativação de vias de sinalização em células imunes (THACKER et al, 2007).

O Fator de Necrose Tumoral (TNF) é uma citocina pró-inflamatória que desempenha papel fundamental na hiperalgesia inflamatória e neuropática, atuando em várias vias de sinalização, através de dois receptores de superfície celular, TNFR1 e TNFR2, presentes, inclusive, em neurônios e células da glia (ZHANG e AN, 2007; OLIVEIRA et al., 2011). Foi demonstrado, em vários modelos de lesão nervosa, que esta citocina pode ser o “iniciador” da dor neuropática, uma vez que inicia a cascata de ativação de várias citocinas e fatores de crescimento, exercendo influência crítica no processamento alterado da dor. Atualmente, já está conhecida a contribuição de canais iônicos, notadamente o canal de sódio, na geração de potenciais de ação nos terminais axonais periféricos, com papel importante na nocicepção. Segundo Von Hoehn et al. (2012), o TNF pode mediar alterações nesses canais, tanto nas fibras lesadas, quanto em fibras intactas vizinhas, e em vias nociceptivas centrais. Adicionalmente, o efeito inibidor do ácido gama-aminobutírico (GABA) nas terminações nervosas pode ser reduzido pelo TNF (VON HOEHN et al., 2012).

A interleucina 6 (IL-6) é uma glicoproteína secretada por muitos tipos celulares do sangue periférico, bem como por células da glia. Sua produção é induzida principalmente pelo TNF e pela interleucina  $1\beta$  (IL- $1\beta$ ), causando febre e aumento da produção de proteínas de fase aguda, durante estímulos lesivos e/ou dolorosos. Por outro lado, exerce ação anti-inflamatória, regulando a expressão de neuropeptídios após lesão neuronal, contribuindo para sua regeneração (AUSTIN e MOALEM-TAYLOR, 2010; THACKER et al, 2007; VALLEJO et al., 2010). Além disso, desempenha um papel significativo na dor, sendo capaz de causar hiperalgesia por indução da liberação de ácido araquidônico. De forma curiosa, foi demonstrado que IL-6 suprime a produção *in vitro* de IL- $1\beta$  em monócitos estimulados por LPS, enquanto *in vivo*, estimula a produção de proteínas anti-inflamatórias, antagonistas do receptor de IL- $1\beta$  e receptor solúvel de TNF (VALLEJO et al., 2010).

A interleucina 10 (IL-10) é um polipeptídeo sintetizado por células imunológicas e tecidos neuroendócrino e nervoso. No sangue periférico, a IL-10 é secretada por várias células da imunidade inata, por subtipos de linfócitos T, bem como por subconjuntos de células B. A IL-10 é uma citocina imunorreguladora com potentes propriedades anti-inflamatórias, inibindo a expressão de TNF, IL-6 e IL-1, com ação bem estabelecida de supressão do desenvolvimento da

dor (ASADULLAH et al., 2004; UCEYLER et al., 2006; KWILASZ et al., 2015). Durante o recrutamento de células imunes para o local de lesão, a IL-10 desempenha papel definitivo na conversão de monócitos para a classe anti-inflamatória de macrófagos além de inibir a expressão da molécula do MHC II pelas células da imunidade inata (JI et al., 2016; KWILASZ et al., 2015).

A IL-10 é produzida em conjunto com citocinas próinflamatórias, mas a regulação dos processos inflamatórios ocorre após a atividade em seu receptor celular. O receptor de IL-10 é formado por duas cadeias do receptor IL-10 1 (IL-10R1) e duas cadeias do receptor IL-10 2 (IL-10R2). A IL-10R1 é específica para o complexo do receptor de IL-10 e é expressa estritamente por células da imunidade inata e adaptativa, habitualmente regulada positivamente em condições inflamatórias, determinando assim a resposta celular à IL-10. Já a IL-10R 2 é também parte de complexos receptores de outras citocinas como IL-22, IL-26, IL-28a, IL-28b e IL-29 e pode ser expressa em células e tecidos imunes e não imunes. IL-10 também atua como neuroprotetor através da diminuição da atividade de NFkB, aumentando a expressão de transportador de aminoácidos excitatórios-2 (EAAT2), prevenindo acúmulo de glutamato neurotóxico (KWILASZ et al., 2015).

### **1.5. Imunidade e DP**

Diversos estudos têm relacionado o perfil imunológico, seja através da produção de citocinas pró-inflamatórias, como o TNF e as interleucinas IL-1 $\beta$  e IL-6, ou através da diminuição da produção de citocinas anti-inflamatórias, à diminuição da capacidade cognitiva, distúrbios do sono, depressão e morte celular no cérebro de pacientes com DP e outras doenças neurodegenerativas (SCALZO et al. 2009; MENZA et al., 2010; REALE et al., 2009). Atualmente, um corpo crescente de literatura aborda os aspectos imunológicos da DP e tem demonstrado a importância das citocinas solúveis, bem como de sua expressão a nível celular, na neuroinflamação subjacentes à doença (FUNK et al. 2013; MOSLEY et al., 2012; REALE et al., 2009). Outros trabalhos pesquisaram a relação do perfil de resposta imune inata e adaptativa na DP e a associação com a gravidade da doença e a disfunção motora; o risco de comprometimento cardíaco, além da neuroinflamação (CALOPA et al., 2010; BABA et al., 2005; HIRANAGA et al., 2001; NIWA et al., 2012; SAUNDERS et al., 2012). No entanto, a maioria dos estudos em humanos buscou esclarecer os mecanismos subjacentes à etiopatogenia neuroinflamatória da DP

ou avaliar o comprometimento motor, de modo que é escasso o estabelecimento de correlações entre os eventos imunes e os sintomas não motores da doença.

Alguns estudos demonstraram níveis séricos mais elevados de IL-6, TNF e receptores solúveis de TNF no soro de pacientes com DP (SCALZO et al., 2009; SCALZO et al., 2010), bem como no cérebro *post-mortem* e líquido cefalorraquidiano (LCR) (ALLEN REISH e STANDAERT, 2015). Estudo recente correlacionou a IL-6 aos escores de fadiga, contribuindo para a visibilidade da pesquisa com sintomas não motores e a resposta imune nesses indivíduos (PEREIRA et al., 2016). Contudo, neste trabalho, não foi contemplado o índice de expressão direta pelas células. De forma semelhante, estudo recente demonstrou a contribuição da sinalização de citocinas para anormalidades do processamento central da sensação dolorosa na DP, mas a investigação utilizou abordagem em modelo animal, ressaltando a importância de se estudar essa relação em seres humanos (ZHUANG et al., 2016). Estudos que examinaram o fenótipo dos subconjuntos dos linfócitos circulantes periféricos em indivíduos com DP, encontraram um decréscimo no número total de linfócitos T e B sem, contudo, demonstrar alterações na frequência dos mesmos. Ao que parece, as respostas imunes na DP são marcadas pelo desbalanço entre linfócitos T efetores e linfócitos T reguladores, esses últimos apresentando capacidade supressora diminuída, promovendo estado inflamatório e progressão da doença (BABA et al., 2005; KANNARKAT et al 2013; STEVENS et al., 2012).

## **1.6. Imunidade e dor**

É sabido que mediadores pró-inflamatórios contribuem significativamente para a geração e manutenção do quadro doloroso (ZHANG e AN, 2007; AUSTIN e MOALEM-TAYLOR, 2010). Além das alterações nos neurônios, outros elementos não neuronais, como células da glia e do sistema imunológico, participam de forma importante na transição dos quadros de dor aguda para cronificação do processo doloroso. Neutrófilos, macrófagos e linfócitos infiltram o local da lesão e liberam mediadores como IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF e Interferon  $\gamma$  na resposta à lesão no Sistema Nervoso Periférico (SNP) ou no gânglio da raiz dorsal da medula, que podem sensibilizar os nociceptores, acarretando alterações na transcrição e expressão de genes em neurônios sensoriais e ativação de células gliais no SNC (VON HEHN et al., 2012; MIFFILIN e KERR, 2014).

Paralelamente, com relação à dor, dados anteriormente publicados associaram síndromes dolorosas a níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias, ressaltando a importância de neutrófilos e citocinas nos processos de dor aguda, bem como o papel importante dos linfócitos T em dor neuropática crônica (PERKINS e TRACEY, 2000; LUCHTING et al., 2015). Adicionalmente, foi detectado desequilíbrio entre as respostas pró e anti-inflamatória em alguns tipos de dor crônica (LIU et al., 2006; KLEINSCHNITZ et al., 2006; LUCHTING et al., 2014; LUCHTING et al., 2015).

Os neutrófilos, geralmente, são as primeiras células inflamatórias a infiltrarem o tecido lesado. Além de realizarem fagocitose, liberam várias citocinas e quimiocinas que, por sua vez, ativam e atraem outros tipos celulares. Os macrófagos podem desempenhar importante papel na geração de dor, através de liberação de mediadores pró-nociceptivos, bem como no estabelecimento de interações neuroimunes que desencadeiam a dor neuropática. Os linfócitos T também estão implicados na dor neuropática. Além da reconhecida produção de mediadores inflamatórios, modelos animais demonstraram menores níveis de hiperalgesia e alodinia térmica e mecânica em animais sem células T maduras. Ao que parece, portanto, a função e o perfil de citocinas de uma subpopulação de células T podem contribuir na modulação do processamento nociceptivo (THACKER et al., 2007).

## 2. JUSTIFICATIVA

Considerando, portanto, a dor como um achado clínico bastante comum na DP, a escassez de estudos avaliando sistematicamente sintomas não motores da DP e as evidências do papel crucial do sistema imunológico em doenças neurodegenerativa e nos quadros de dor, este trabalho visou correlacionar a presença e a intensidade de dor a outros desfechos clínicos da DP e à expressão de TNF, IL-6, IL-10 e HLA-DR em diversos tipos de leucócitos do sangue periférico de pacientes com DP com e sem dor.

**Hipótese nula:** A presença/gravidade do sintoma dor não interfere no perfil de citocinas de diversos tipos de leucócitos do sangue periférico, gravidade dos sinais e sintomas, fadiga, depressão e distúrbios de sono em indivíduos com DP.

**Hipótese alternativa:** A presença/gravidade do sintoma dor interfere no perfil de citocinas de diversos tipos de leucócitos do sangue periférico, gravidade dos sinais sintomas, fadiga, depressão e distúrbios de sono em indivíduos com DP.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo Geral

Avaliar se existe diferença nas medidas de desfecho clínico e no perfil de citocinas dos leucócitos totais, monócitos, neutrófilos e linfócitos totais e subtipos ( $CD4^+$  e  $CD8^+$ ), entre indivíduos com diagnóstico de DP, com e sem dor.

#### 3.2. Objetivos Específicos

- ✓ Avaliar se existe diferença na presença/gravidade dos sinais e sintomas da doença, fadiga, depressão e distúrbios do sono entre indivíduos com DP, com e sem dor;
- ✓ Avaliar se existe associação entre as medidas de desfecho clínico (gravidade dos sinais e sintomas da DP, fadiga, depressão e distúrbios do sono) com a gravidade da dor;
- ✓ Avaliar se existe diferença na expressão de HLA, IL-6, IL-10 e TNF em leucócitos totais, monócitos, neutrófilos e linfócitos totais e subtipos ( $CD4^+$  e  $CD8^+$ ), na presença ou na ausência de estímulo (LPS), entre indivíduos com DP, com e sem dor.

### 4. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 4.1. Delineamento do Estudo e Aprovação Ética

Trata-se de um estudo observacional do tipo transversal aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (CAAE 40288214.2.0000.5149) (ANEXO 1).

As etapas de triagem, recrutamento e avaliação dos participantes foram realizadas no Centro Metropolitano de Especialidades Médicas da Santa Casa de Belo Horizonte (CEM-BH) e os experimentos de citometria de fluxo foram realizados nos Laboratórios de Interações Celulares e de Neurobiologia do Departamento de Morfologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais.

## **4.2. Participantes**

Para a realização do presente estudo foram recrutados indivíduos que faziam acompanhamento clínico no CEM-BH, adotando uma amostra não probabilística por conveniência.

Os critérios de inclusão utilizados foram ter diagnóstico clínico de DP idiopático de acordo com os critérios de diagnóstico clínico do United Kingdom Parkinsons Disease Society Brain Bank e ser capaz de entender os comandos verbais durante a aplicação dos instrumentos (HUGHES et al., 1992).

Indivíduos com diagnóstico de outras doenças neurológicas e/ou psiquiátricas; déficits visuais e/ou auditivos que dificultassem a aplicação dos instrumentos; doenças que interferissem nos níveis de mediadores inflamatórios (doenças auto-imunes, reumatológicas, câncer, dentre outras) ou que receberam terapia imunossupressora ou antiinflamatória há menos de um mês da avaliação foram excluídos.

### **4.2.1. Recrutamento e Adesão**

No período de 19/10/2015 a 15/12/2015 foi realizada a triagem dos indivíduos durante a espera para a consulta com o neurologista. Neste momento, foi aplicada uma ficha para verificação dos critérios de elegibilidade e interesse em participação no estudo (**APÊNDICE A**). Posteriormente, por meio de contato telefônico, foi realizado o agendamento para a avaliação clínica dos participantes, momento no qual assinavam o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (**APÊNDICE B**).

### **4.3. Procedimentos**

Todos os participantes do estudo foram submetidos a uma avaliação detalhada por examinadores previamente treinados. Foram utilizados instrumentos para avaliação da função cognitiva, gravidade dos sinais e sintomas da doença, depressão, distúrbios de sono e fadiga. Aqueles indivíduos, que durante a aplicação do questionário inicial, haviam sinalizado a presença de dor, foram submetidos ainda à avaliação desse sintoma.

#### **4.3.1. Mini-Exame do Estado Mental**

Para avaliação da função cognitiva, foi aplicado o Mini-Exame do Estado Mental (MEEM) (FOLSTEIN et al., 1975) (ANEXO 2). Este instrumento é composto por onze itens que avaliam parâmetros quanto à orientação temporal e espacial, memória imediata, cálculo, linguagem e apraxia construtiva. O escore total é de 30 pontos, sendo que os níveis de corte 23/24 são usados, segundo Folstein et al. (1975), como sugestivos de déficit cognitivo, não considerando o impacto da idade, grau de escolaridade ou mesmo o diagnóstico (MELO e BARBOSA, 2015). O instrumento foi adaptado em nosso meio por Bertolucci et al. (1994), através de uma análise de base populacional que avaliou o impacto da escolaridade nos escores e determinou a necessidade de estratificação por níveis ou anos de escolaridade. Sendo assim, o ponto de corte para analfabetos é 13, para baixa e média escolaridade é 18 e alta escolaridade (8 anos de estudo ou mais) é 26.

#### **4.3.2. Escala Unificada de Avaliação da Doença de Parkinson**

A Escala Unificada de Avaliação da Doença de Parkinson (UPDRS) avalia os sinais e sintomas da DP, bem como atividades dos pacientes por meio de auto-relato e observação clínica (ANEXO 3). Este instrumento compreende 42 itens, divididos em quatro subseções: I - Atividade mental, comportamento e humor; II - Atividade de vida diária (durante os períodos "on", em uso de medicação, e em "off", sem uso de medicação); III - Exame das funções motoras e IV - Complicações do tratamento. Neste estudo foram utilizadas as subseções I a III. Os itens da subseção que avalia atividade mental, comportamento e humor são pontuados de 0 a 4, que

corresponde à normalidade e ao maior nível de disfunção, respectivamente, variando de 0 a 16. A pontuação da subseção de atividades de vida diária pode variar de 0 a 56, uma vez que os 14 itens são avaliados nos estados "on" e "off". As respostas podem ser dadas pelo paciente ou pelo cuidador. Na subseção III, o examinador classifica as manifestações motoras da DP através da observação de 27 itens, que podem ser avaliados de 0 a 4 pontos. Essa é a subseção mais utilizada e pode variar de 0 a 108 no total (PERLMUTTER, 2009).

É possível, a partir das informações obtidas através da UPDRS, determinar o estágio da doença (Escala de Estágios de Incapacidade de Hoehn e Yahr – HY) e o nível de independência funcional do paciente (Escala de Schwab e England – SE) (HOEHN, YAHR, 1967). Apesar da escala apresentar algumas limitações, como o tempo prolongado para aplicação, bem como a avaliação dos sintomas somente no momento da aplicação, não permitindo avaliar a amplitude da flutuação da gravidade dos sintomas (GOETZ et al., 2007; GOETZ et al. 2008), é a escala mais utilizada e é considerada padrão ouro na avaliação da presença e gravidade dos sinais e sintomas da DP (OUNG et al., 2015).

#### **4.3.3. Escala de Fadiga da Doença de Parkinson**

A Escala de Fadiga da Doença de Parkinson (PFS-16) foi desenvolvida para determinar a presença de fadiga e o seu impacto na função diária do paciente com DP (ANEXO 4) (BROWN et al., 2005). É um instrumento que contém 16 afirmações que avaliam os aspectos físicos da fadiga, solicitando ao paciente a descrição de suas sensações e experiências nas últimas duas semanas (KUMMER et al., 2011). As opções de resposta variam de 1 ("discordo totalmente") a 5 ("concordo totalmente"). A pontuação de cada item varia de 1 a 5 e o escore total é obtido dividindo-se a soma de todas as pontuações por 16. Escores superiores ao ponto de corte de 3,3 indicam a presença de fadiga (BROWN et al., 2005; FRIEDMAN et al., 2010; FU et al., 2016).

#### **4.3.4. Inventário de Depressão de Beck**

O Inventário de Depressão de Beck (BDI) é utilizado para avaliar a depressão, permitindo mensurar a gravidade dos sintomas depressivos (ANEXO 5). O BDI é composto por 21 grupos

de afirmações, que incluem sintomas e atitudes com intensidade variável de 0 a 3 pontos, sendo que o paciente deve marcar a afirmação com a qual mais se identifica, levando em consideração a última semana, inclusive o dia do teste. Essas afirmações referem-se à tristeza, ao pessimismo, à sensação de fracasso, à falta de satisfação, à sensação de culpa, dentre outros (BECK et al., 1961). A versão em português do questionário, originalmente proposto por Beck e colaboradores em 1961, foi validada em 1996 (GORENSTEIN e ANDRADE, 1996) e produz uma pontuação máxima de 63. O instrumento validado em indivíduos brasileiros com DP considerou como ponto de corte para triagem de depressão escores de 17/18 (TUMAS et al., 2008).

#### **4.3.5. Escala de Sono da Doença de Parkinson**

A Escala de Sono da Doença de Parkinson (PDSS) foi desenvolvida por Chaudhuri e colaboradores em 2002 (ANEXO 6). É um questionário composto por 15 perguntas que avaliam a presença de alterações de sono, comumente associadas à DP, na última semana (CHAUDHURI et al., 2002). Os pacientes marcam as respostas, em uma escala analógica visual, que varia de sempre (0) a nunca (10). O primeiro item avalia a qualidade global do sono noturno. Os itens 2 ao 14 avaliam perturbações do sono noturno, como insônia, agitação, psicose, sintomas motores e incontinência urinária. O item 15 avalia a sonolência diurna. O escore máximo para o PDSS é de 150, indicando que o paciente está livre de todos os sintomas (MARGIS et al., 2009). Estudo recente que analisou a arquitetura do sono por polissonografia em pacientes com DP idiopática encontrou forte associação positiva entre os achados polissonográficos e os escores da PDSS (SELVARAJ e KESHAVAMURTHY, 2016).

#### **4.3.6. Questionário de Dor McGill**

Para a avaliação do sintoma dor foi utilizado o Questionário de Dor McGill, desenvolvido por Melzack em 1975. Este instrumento avalia as dimensões sensorial, afetiva e quantitativa da dor, por meio de informações qualitativas e quantitativas a partir de descrições verbais (ANEXO 7) (MELZACK, 1975). Consiste em 78 palavras, que caracterizam ou representam a maneira como o paciente sente a dor, categorizadas em 20 subgrupos contendo de dois a seis descritores. O instrumento está dividido em quatro categorias, que avaliam os aspectos sensoriais (itens de 1 a

10: propriedades mecânicas, térmicas, de vividez e espaciais da dor), afetivo (itens de 11 a 15: dimensão afetiva da dor nos aspectos de tensão, medo e respostas neurovegetativas) e avaliativo (item 16: avaliação global da experiência dolorosa). Os itens de 17 a 20 constituem a quarta categoria e compreendem as dimensões sensitiva, afetiva e avaliativa, em um agrupamento denominado miscelânea. Cada palavra representa um descritor, com numeração crescente de acordo com sua intensidade. Em cada subgrupo, o paciente deve escolher apenas um descritor que mais se assemelhe à sua dor (MELZACK, 1975).

O questionário de McGill contém, ainda, uma escala de intensidade da dor no momento da aplicação (0 a 5), um diagrama corporal para representação do local da dor e a caracterização de aspectos como periodicidade e duração da queixa algica, bem como informações terapêuticas. O questionário fornece três escores finais: Número de Palavras Escolhidas (NWC), Índice de Estimativa de Dor (PRI) e Intensidade de Dor Presente (PPI). O NWC é calculado somando-se o número de palavras escolhidas (0-20 palavras). O PRI, por sua vez, é obtido pela soma do escore de cada descritor em seu respectivo subgrupo, nos quais a primeira palavra recebe pontuação um e a última palavra, pontuação quatro. A pontuação total, somando-se todos os subgrupos, pode variar de 0 a 78. O PPI representa o valor da intensidade da dor atual (0-5). Quanto maior o valor obtido em cada escore final, pior é a dor do paciente (MELZACK, 1975; VAROLI e PEDRAZZI et al., 2006). Neste trabalho, a análise quantitativa utilizou o PRI e escore superior a 19 foi utilizado para avaliação da dor por este instrumento (HAWKER et al., 2011)

#### **4.3.7. Escala Visual Numérica**

Para cada dor relatada durante a aplicação do McGill, os pacientes foram convidados a indicar a magnitude da sua dor através da Escala Visual Numérica (EVN), com valores ordinais de 1 a 10, sendo 0 “nenhuma dor” e 10 “ a pior dor imaginável” (ANEXO 8). Essa é uma das escalas unidimensionais mais utilizada para mensuração da dor em estudos clínicos (FARRAR et al., 2001). A pontuação permite a avaliação da intensidade da dor da seguinte forma: dor leve de 0 a 4,4, dor moderada de 4,5 a 7,4 e dor severa de 7,5 a 10 (HAWKER et al., 2011). Esta escala é amplamente utilizada em estudos com indivíduos com DP, inclusive no Brasil (SCHESTATSKY et al., 2007; PAN et al., 2014).

#### 4.4. Coleta do Material Biológico

Após a avaliação clínica, todos os participantes foram submetidos à coleta de sangue. Todo o procedimento de coleta foi realizado de acordo com as normas de biossegurança. Foram coletados aproximadamente 5 mL de sangue venoso periférico, sem necessidade de jejum prévio, pela própria pesquisadora, a qual é oficialmente habilitada para realizar o procedimento, de acordo com técnica padronizada (WHO, 2010). A coleta foi realizada na região cubital do antebraço, utilizando tubo plástico descartável (marca Vacuum II), com anticoagulante heparina sódica, para obtenção do sangue total utilizado na realização da citometria de fluxo, no mesmo dia da coleta do material.

#### 4.5 Citometria de fluxo

Para a imunofenotipagem dos leucócitos por citometria de fluxo, o sangue coletado em heparina foi processado em três tubos cônicos de polipropileno com capacidade para 15 mL (Falcon, BD Biosciences, EUA) da seguinte forma:

- ✓ Um tubo com 300 µl de sangue + 300 µl de Meio [composto por RPMI (Sigma), 1% de antibiótico (penicilina 500U/mL e estreptomicina 0,5 mg/mL) e 1% de L glutamina (200 nM - Sigma) e 10% de soro humano inativado (Sigma)];
- ✓ Um segundo tubo com 300 µl de sangue + 60 µl de Lipopolissacarídeo (LPS) de *E. coli*, na concentração de 10ng/mL + 240 µl de Meio,
- ✓ Um terceiro tubo com 1,5 ml de sangue + 1 ml de Meio.

Em seguida, foram incubados à 37°C e 5% CO<sub>2</sub> até o dia seguinte, durante aproximadamente 12 horas. Após a incubação, adicionou-se 0,6 µl de Brefeldina (1µl/mL - BioLegend) aos tubos 1 e 2, que voltaram a ser incubados por 4 horas em incubadora a 37°C e 5% CO<sub>2</sub>. Ao final desse tempo, o sobrenadante foi retirado e adicionado aos tubos contendo solução de lise [8.29g de cloreto de amônio (NH<sub>4</sub>Cl), 1g de bicarbonato de potássio (KHCO<sub>3</sub>) 37.2mg de EDTA dissódico (Na<sub>2</sub>EDTA) e água para injeção qsp 1L, pH entre 7.2 e 7.4], na proporção de 1:10. Os tubos foram incubados à temperatura ambiente, por 15 minutos, em agitação. Logo após, foi realizada a

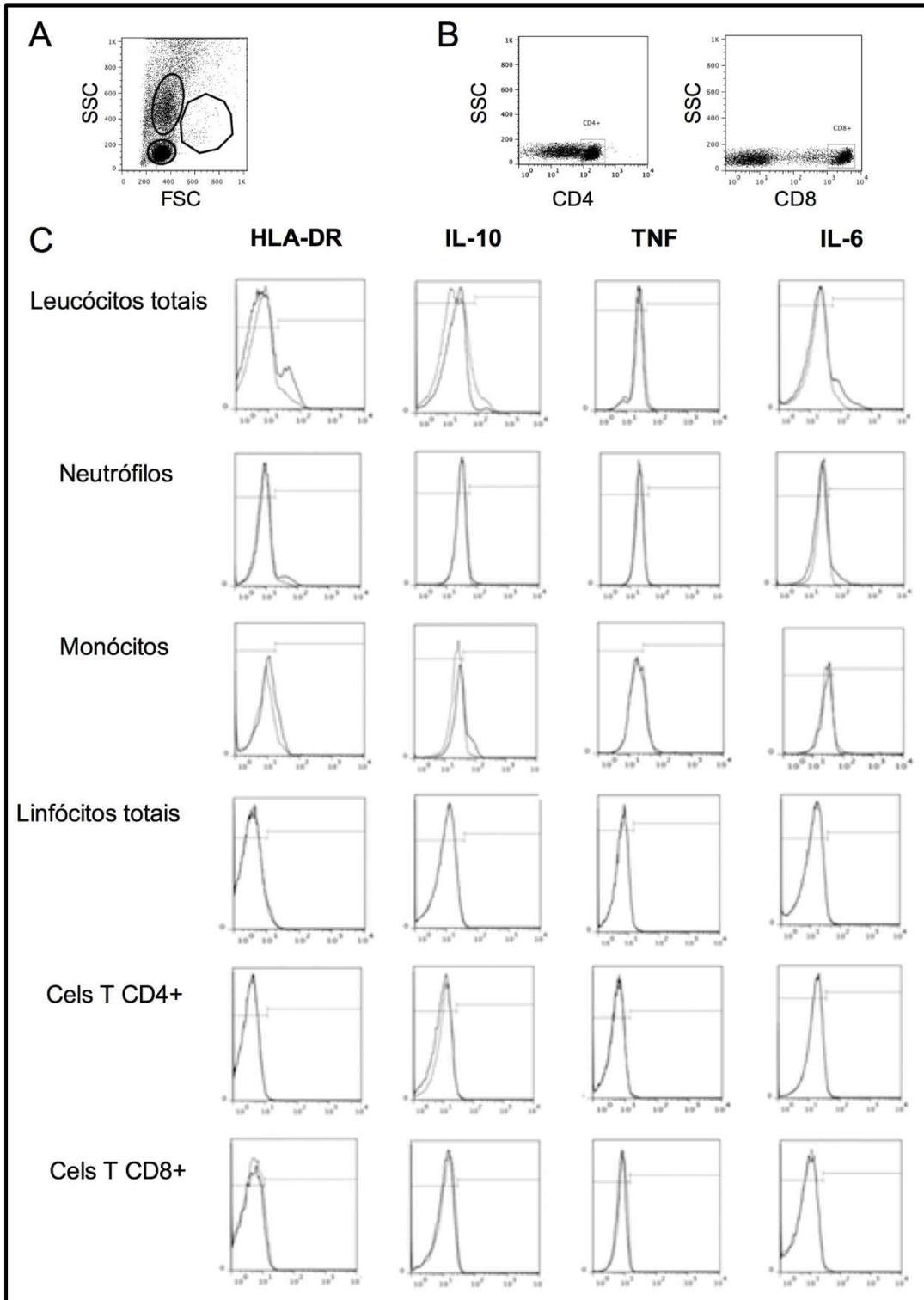
primeira lavagem das células, completando-se o volume dos tubos com Tampão Fosfato (PBS) (Sigma) e centrifugando-os a 200 G por 7 minutos a 4°C. Após, o sobrenadante foi descartado e as células foram novamente lavadas com PBS. Após centrifugar e descartar o sobrenadante, o volume dos tubos 1, 2 e 3 foi transferido para tubos de poliestireno de 5 mL (Falcon, BD Biosciences, EUA), apropriados para aquisições em citômetro de fluxo.

Para proceder à marcação, aos tubos 1 e 2 adicionou-se 20 µl dos anticorpos anti-receptores de superfície celular para CD4, CD8 e HLADR, (Biolegend) marcados com fluorocromos específicos (Alofocianina - APC, Ficoeritrina - PE, Cychrome - Cy, respectivamente). O conteúdo do tubo 3 foi distribuído em alíquotas de 100 µl para 9 tubos idênticos, aos quais adicionou-se 20 µl por tubo dos anticorpos de compensação com fluorocromos Fluorescein isothiocyanate - (FITC) / CD3, PE / CD8, APC/ CD28, APCCy7/ CD4, PeCy5/ CD4 e PeCy7/ CD8 (Biolegend), sendo que 3 tubos permaneceram somente com células e 20 µl de PBS para controle da reação. As células foram, então, incubadas a 4°C por 15 minutos. Após esse tempo, foram lavadas com 300 µl de PBS, fixadas em 150 µl de PBS com 150 µl de formaldeído 4% (Synth) e incubadas por 20 minutos à temperatura ambiente ao abrigo de luz. Decorrida essa etapa, realizou-se a marcação intracitoplasmática.

As células foram lavadas, permeabilizadas com 300 µl de solução tampão de saponina 0,5% em PBS durante 15 minutos a 4 °C e novamente lavadas e incubadas com anticorpos anti-citocinas marcados com fluorocromos (IL-10/PE; IL-6/APC e TNF/ FITC - BioLegend) diluídos no mesmo tampão utilizado para permeabilização por 30 minutos a 4 °C. Após, as células foram lavadas com 300 µl de solução de permeabilização e, logo em seguida, com 300 µl de PBS. O sobrenadante foi descartado e as células foram ressuspensas em 200 µl de PBS. Os tubos foram armazenados em geladeira, envoltos em papel alumínio, até a manhã seguinte para a leitura.

No dia seguinte, os tubos foram levados ao laboratório multiusuário do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) para a leitura no citômetro de fluxo FACS canto II (Becton Dickinson), que permite a detecção pela dispersão do raio laser ao incidir sobre uma célula incubada com anticorpo fluorescente. Para cada amostra, foram adquiridas informações relativas aos aspectos morfométricos de tamanho e granulosidade, bem como aspectos imunofenotípicos, de 50.000

células. Para a realização das análises, foi utilizado o programa Flow-Jo 7.6, que possibilita a seleção da população celular a ser estudada de acordo com cada objetivo específico. Leucócitos totais, monócitos, neutrófilos e linfócitos e subpopulações foram selecionados e a expressão de HLA-DR, IL-10, TNF e IL-6 foi obtida através de histograma (**Figura 1**).



**Figura 1:** Estratégia de aquisição por citometria de fluxo. Tamanho versus granulosidade [Side Scatter (SSC) x Forward Scatter (FSC)] (A). Seleção das subpopulações de linfócitos T CD4+ e CD8+ (B). Histogramas representativos da análise de HLA-DR, IL-10, TNF e IL-6 (C).

## 4.6 Análise Estatística

Inicialmente foi feita uma análise descritiva das variáveis utilizadas no estudo por meio de medidas de tendência central e variabilidade. Foi testada a normalidade de todas as variáveis numéricas analisadas por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov e como a maioria apresentava distribuição normal, optou-se por utilizar testes paramétricos. Para comparação dos dados epidemiológicos (idade, sexo, escolaridade, tempo de doença uso de medicamento e prática de atividade física) entre os grupos com e sem dor, foi utilizado o teste t-Student para comparação de dois grupos independentes para as variáveis numéricas e o teste exato de Fisher para as variáveis categóricas. Para comparação dos dados clínicos (MEEM, BDI, PDSS, PFS-16, UPDRS, HY, e SE) entre os grupos com e sem dor, foi utilizado o teste t-Student para comparação de dois grupos independentes. Entre os pacientes com dor, ainda foi utilizado o coeficiente de correlação de Pearson para avaliar a associação entre os níveis de dor e os dados clínicos. Na análise dos dados da citometria, foi utilizada uma Análise de Variâncias com 2 fatores (ANOVA *two-way*). Cada uma das citocinas, seja isoladamente ou na forma de razão, foi considerada como variável desfecho e os fatores foram dor (com e sem) e estímulo (meio e LPS). Em todas as análises foi considerado o nível de 5% de significância. Foi utilizado o software *Statistical Package for Social Science* (SPSS) versão 19.0.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 Características sócio-demográficas e clínicas

A amostra do estudo foi composta por 16 indivíduos com DP, estratificados em dois grupos: com dor e sem dor, cada grupo com 8 indivíduos. As características sócio- demográficas dos grupos com dor e sem dor foram analisadas e os resultados estão representados na **Tabela 1**.

**Tabela 1.** Características sócio-demográficas dos participantes do estudo.

<b>Variáveis</b>	<b>Grupo com Dor (N=8)</b>	<b>Grupo sem Dor (N=8)</b>	<b>Valor-p</b>
Idade (anos)	66,0±7,4	68,0±10,8	0, 673 <sup>1</sup>
Sexo (H/M)	2/6	6/2	0, 132 <sup>2</sup>
Nível de escolaridade (anos)	6,0±2,9	8,1±3,9	0, 236 <sup>1</sup>
Tempo de doença (anos)	6,6±3,8	5,4±3,5	0, 536 <sup>1</sup>
Uso de levodopa	8 (100%)	7 (87,5%)	0, 999 <sup>2</sup>

Dados apresentados em média e desvio padrão, valor absoluto ou porcentagem. H, homem; M, mulher.<sup>1</sup>Teste t-Student para duas amostras independentes. <sup>2</sup>Teste exato de Fisher.

As características clínicas, como função cognitiva, sinais e sintomas da DP, presença de fadiga, depressão e distúrbios do sono também foram analisadas entre os grupos com dor e sem dor e os resultados estão representados na **Tabela 2**.

**Tabela 2.** Comparação dos dados clínicos entre pacientes com e sem dor.

<b>Dados clínicos</b>	<b>Grupo com Dor (N=8)</b>	<b>Grupo sem Dor (N=8)</b>	<b>Valor-p</b>
MEEM	20,5±5,2	21,5±4,8	0, 694
BDI	15,6±10,4	12,1±4,4	0, 401
PDSS**	92,3±26,9	80,1±25,1	0, 381
PFS-16*	3,3±0,9	3,7±1,4	0, 446
UPDRS T*	44,9±19,2	35,4±15,9	0, 323
UPDRS I*	3,5±2,8	2,4±1,5	0, 381
UPDRS II*	14,9±6,2	13,0±5,3	0, 543
UPDRS III*	26,5±12,8	23,4±8,9	0, 604
HY*	2,3±0,5	2,0±0,6	0, 369
SE*	78,8±8,3	80,0±14,1	0, 835

Dados apresentados em média e desvio padrão. MEEM, Mini-Exame do Estado Mental; BDI, Inventário de Depressão de Beck; PDSS, Escala de Sono da Doença de Parkinson; PFS-16, Escala de Fadiga da Doença de Parkinson; UPDRS, Escala Unificada de Avaliação da Doença de Parkinson; HY, Escala de Hoehn e Yahr; SE, Escala de Schawb e England; Teste t-Student para duas amostras independentes. \*1 paciente com dor sem informação. \*\*1 paciente sem dor sem informação.

No grupo com dor, as informações referentes ao tempo de dor, intensidade, localização, sensação e circunstância do início da dor estão apresentadas na **Tabela 3**.

**Tabela 3.** Características da dor

<b>Características da Dor</b>	<b>Grupo com Dor (n=8)</b>
Tempo de dor (anos)	3,4±3,3
Intensidade da dor (EVN)	8,1±3,0
<i>Leve (1 a 4,4 pontos)</i>	12,5% (1)
<i>Moderada (4,5 a 7,4 pontos)</i>	0% (0)
<i>Severa (7,5 a 10 pontos)</i>	87,5% (7)
Intensidade da Dor (McGill)	27,3±12,7
Localização da dor	
<i>Cervical</i>	37,5% (3)
<i>Lombar</i>	37,5% (3)
<i>Membros superiores</i>	62,5% (5)
<i>Membros inferiores</i>	50% (4)
Sensação da dor	
<i>Profunda</i>	100% (8)
<i>Superficial</i>	0% (0)
Circunstância de início	
<i>Após DP</i>	50% (4)
<i>Após um acidente</i>	0% (0)
<i>Sem causa</i>	50% (4)

Dados apresentados em média e desvio padrão, valor absoluto ou porcentagem.  
EVN: Escala Visual Numérica.

No grupo com dor, as informações referentes aos aspectos sensitivos e afetivos em função da experiência subjetiva de dor, obtidos a partir do Questionário de McGill, estão representadas na **Tabela 4**.

**Tabela 4.** Classificação da dor de acordo com o Questionário de McGill.

<b>Índice de Classificação da Dor</b>	<b>Grupo com Dor (n=8)</b>
Domínio Sensorial	
<i>Temporal</i>	87,5% (7)
<i>Pressão</i>	50% (4)
<i>Compressão</i>	62,5% (5)
<i>Tração</i>	87,5% (7)
<i>Calor</i>	62,5% (5)
<i>Vivacidade</i>	62,5% (5)
Domínio Afetivo	
<i>Cansaço</i>	87,5%(7)
<i>Medo</i>	62,5% (5)
<i>Punição</i>	62,5% (5)
<i>Desprazer</i>	100% (8)
Domínio Misto	
<i>Dor/Movimento</i>	75% (6)

Dados apresentados em valor absoluto ou porcentagem.

No grupo com dor, foi realizada a análise de correlação entre as medidas de dor por EVN e Questionário de McGill e os demais achados clínicos (função cognitiva, sinais e sintomas da DP, fadiga, depressão e distúrbios do sono), cujos resultados estão apresentados na **Tabela 5**.

**Tabela 5-** Correlação entre os dados clínicos e os níveis de dor

Dados Clínicos	McGill		EVN	
	Coefficiente <sup>1</sup>	Valor-p	Coefficiente <sup>1</sup>	Valor-p
MEEM	-0,087	0,838	0,293	0,481
BDI	0,465	0,246	0,399	0,328
PDSS	-0,145	0,733	0,238	0,570
FADIGA*	0,714	0,071	0,121	0,797
UPDRS T*	-0,534	0,217	0,356	0,434
UPDRS I*	0,814	<b>0,026</b>	0,254	0,583
UPDRS II*	-0,266	0,564	0,230	0,620
UPDRS III*	-0,141	0,763	0,712	0,073
HY*	0,105	0,823	0,790	<b>0,034</b>
SE*	-0,086	0,855	-0,574	0,178

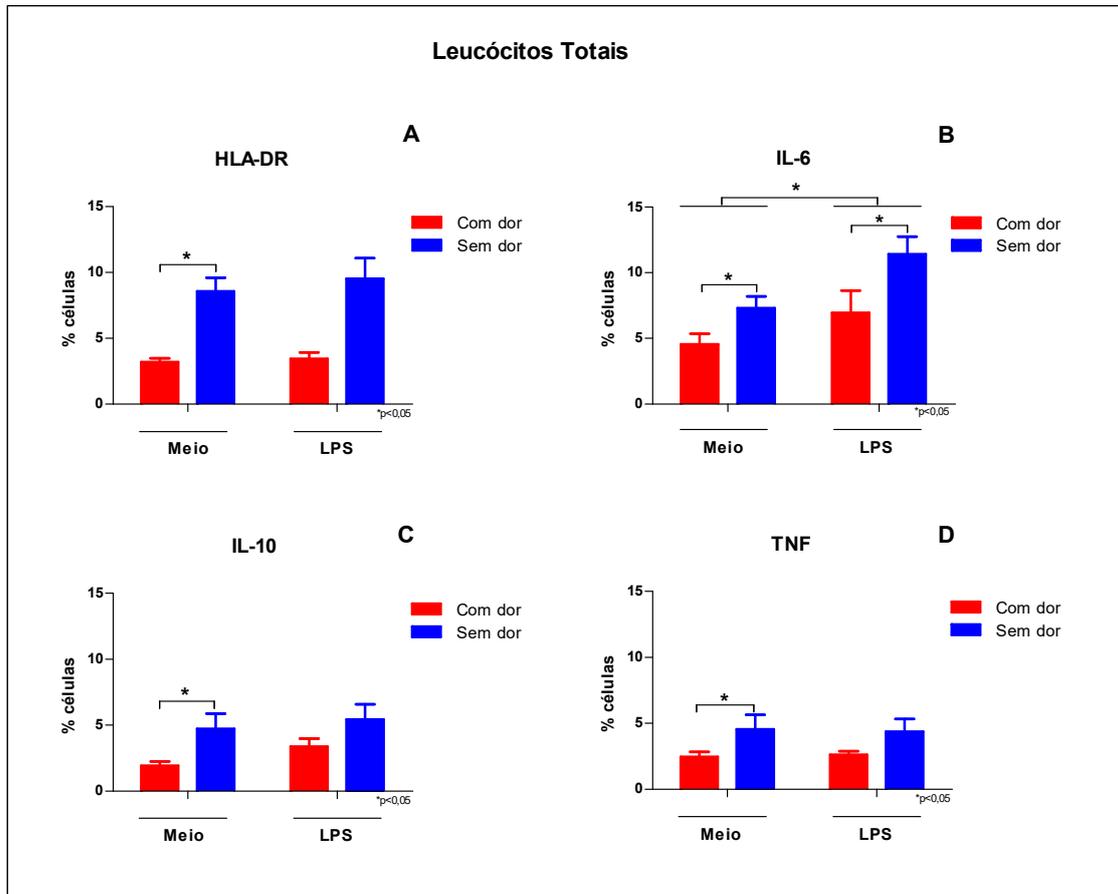
<sup>1</sup>Coefficiente de Correlação de Pearson. \*1 paciente sem informação.

A correlação positiva e forte encontrada entre UPDRS I e McGill indica que quanto maior o valor da escala UPDRS I, que mede a severidade do comprometimento do humor e da cognição, maior o nível de dor. A correlação positiva entre HY e EVN indica que quanto maior o valor da escala HY, que estabelece o estadiamento da doença, maior a intensidade de dor.

## 5.2 - Avaliação do perfil imunológico por citometria de fluxo.

### 5.2.1 - População total de leucócitos

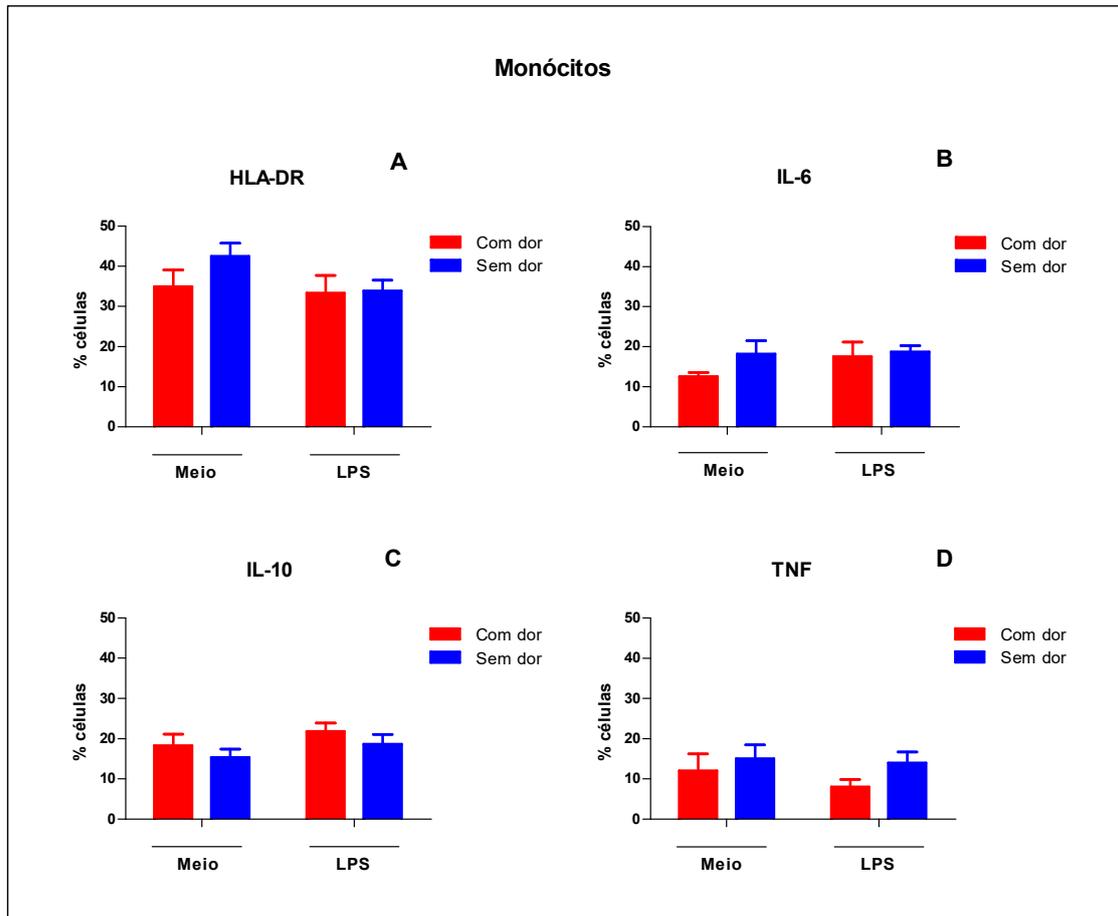
Considerando a população total de leucócitos (monócitos, neutrófilos e linfócitos), o grupo com dor apresentou menor expressão da molécula HLA-DR e das citocinas IL-6, IL-10 e TNF em comparação ao grupo sem dor (**Figura 2**). A presença do estímulo (LPS) levou à maior expressão de IL-6 em ambos os grupos.



**Figura 2.** Expressão da molécula HLA-DR (A) e das citocinas IL-6 (B), IL-10 (C) e TNF (D) na população total de leucócitos dos pacientes com e sem dor na ausência ou presença de estímulo (LPS). *ANOVA two-way*, N=8 por grupo

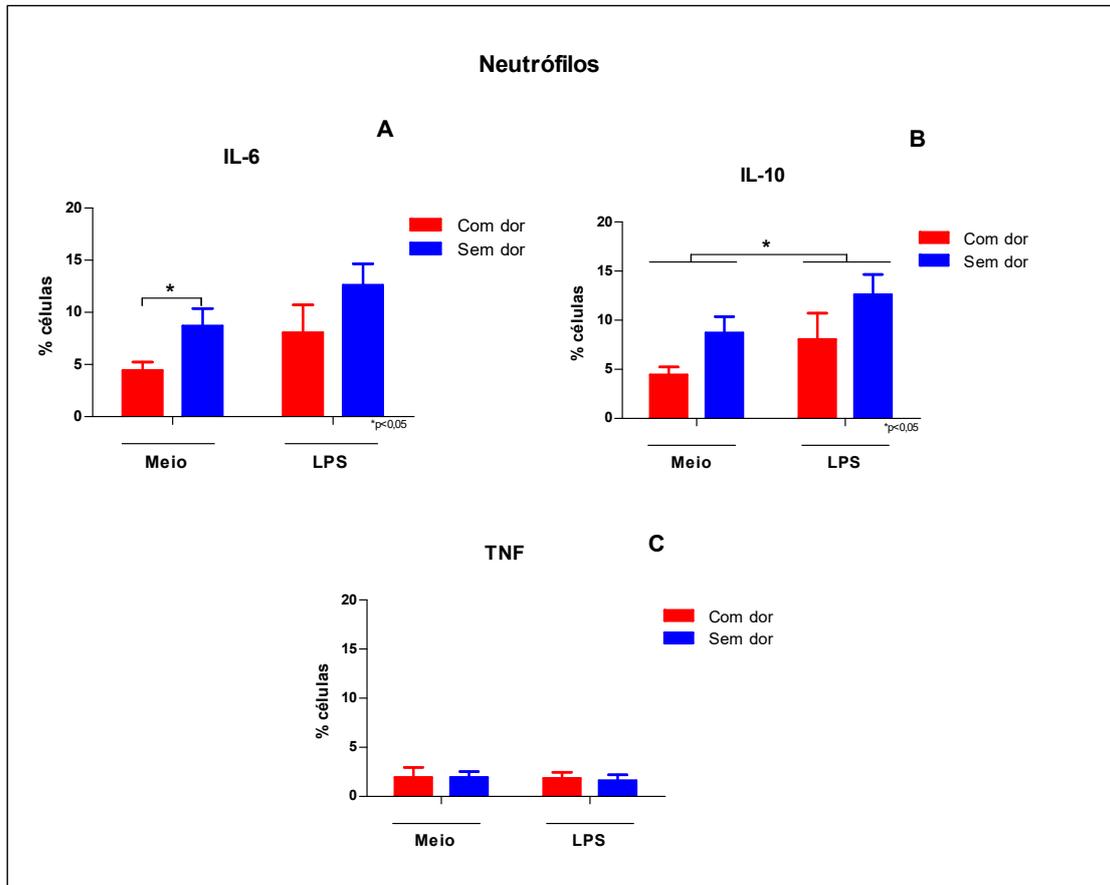
### 5.2.2 - Células da resposta inata

Considerando a população de monócitos, não houve diferença na expressão da molécula HLA-DR e das citocinas IL-6, IL-10 e TNF entre os grupos com dor e sem dor, independentemente da presença ou não do estímulo (LPS) (**Figura 3**).



**Figura 3.** Expressão da molécula HLA-DR (A) e das citocinas IL-6 (B), IL-10 (C) e TNF (D) na população de monócitos dos pacientes com e sem dor na ausência ou presença de estímulo (LPS). *ANOVA two-way*, N=8 por grupo.

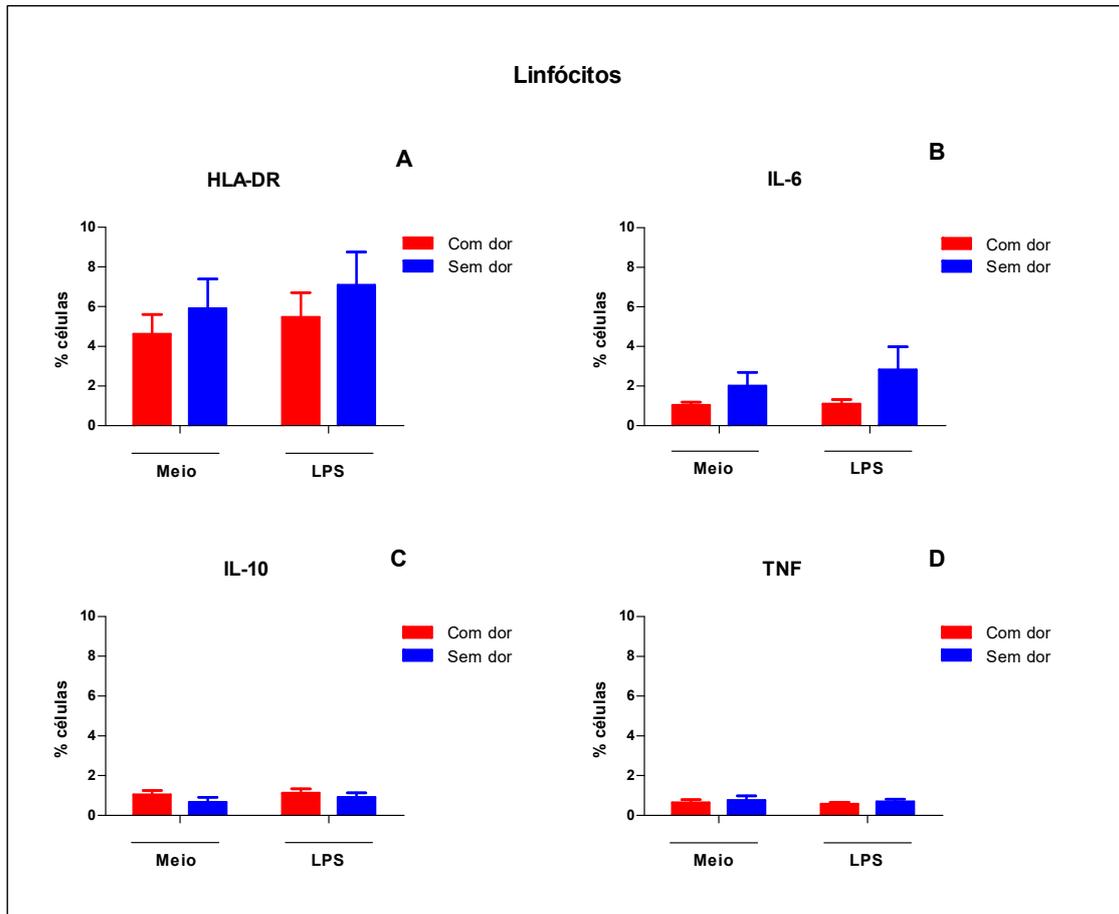
Com relação aos neutrófilos, o grupo com dor apresentou menor expressão de IL-6 em comparação ao grupo sem dor (**Figura 4**). Além disso, a presença do estímulo (LPS) levou à maior expressão de IL-10 em ambos os grupos.



**Figura 4.** Expressão das citocinas IL-6 (A), IL-10 (B) e TNF(C) na população de neutrófilos dos pacientes com e sem dor na ausência ou presença de estímulo (LPS). *ANOVA two-way*, N=8 por grupo.

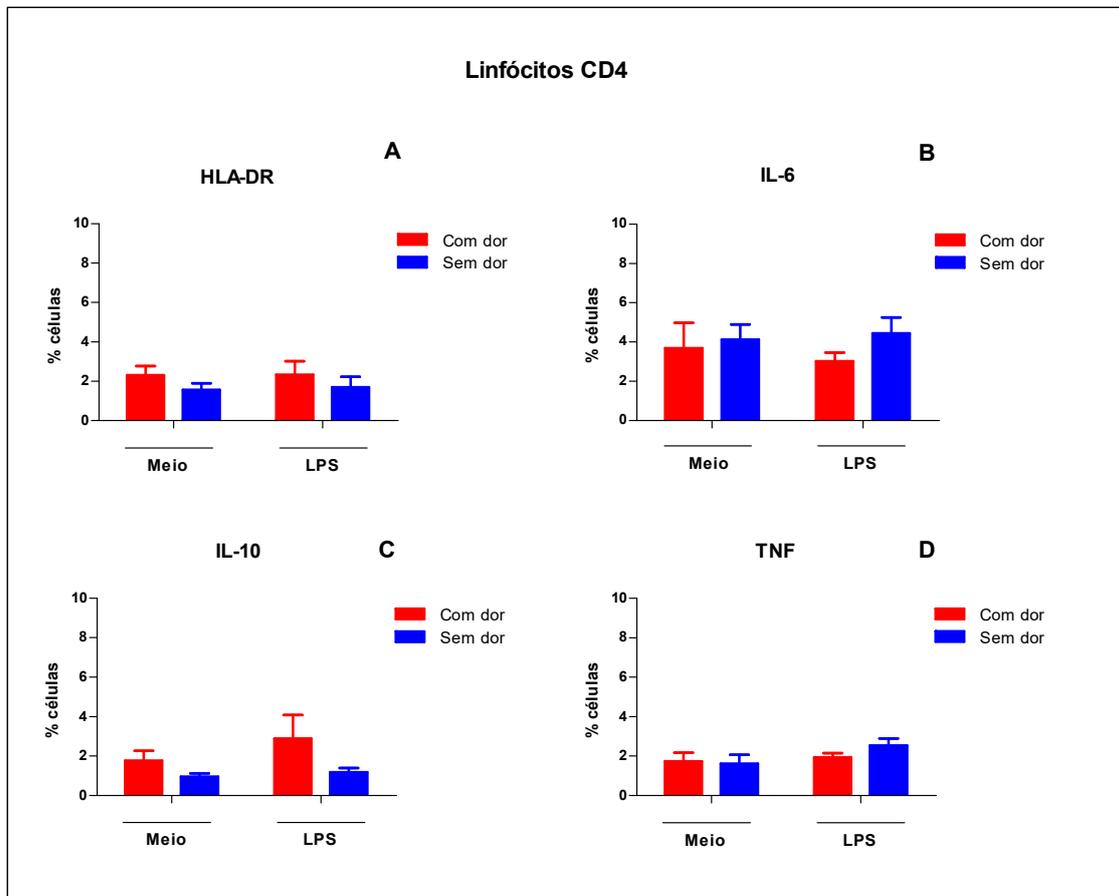
### 5.2.3 - Células da resposta adaptativa

Considerando a população total de linfócitos, não houve diferença na expressão da molécula HLA-DR e das citocinas IL-6, IL-10 e TNF entre os grupos com dor e sem dor, independentemente da presença ou não do estímulo (LPS) (**Figura 5**).



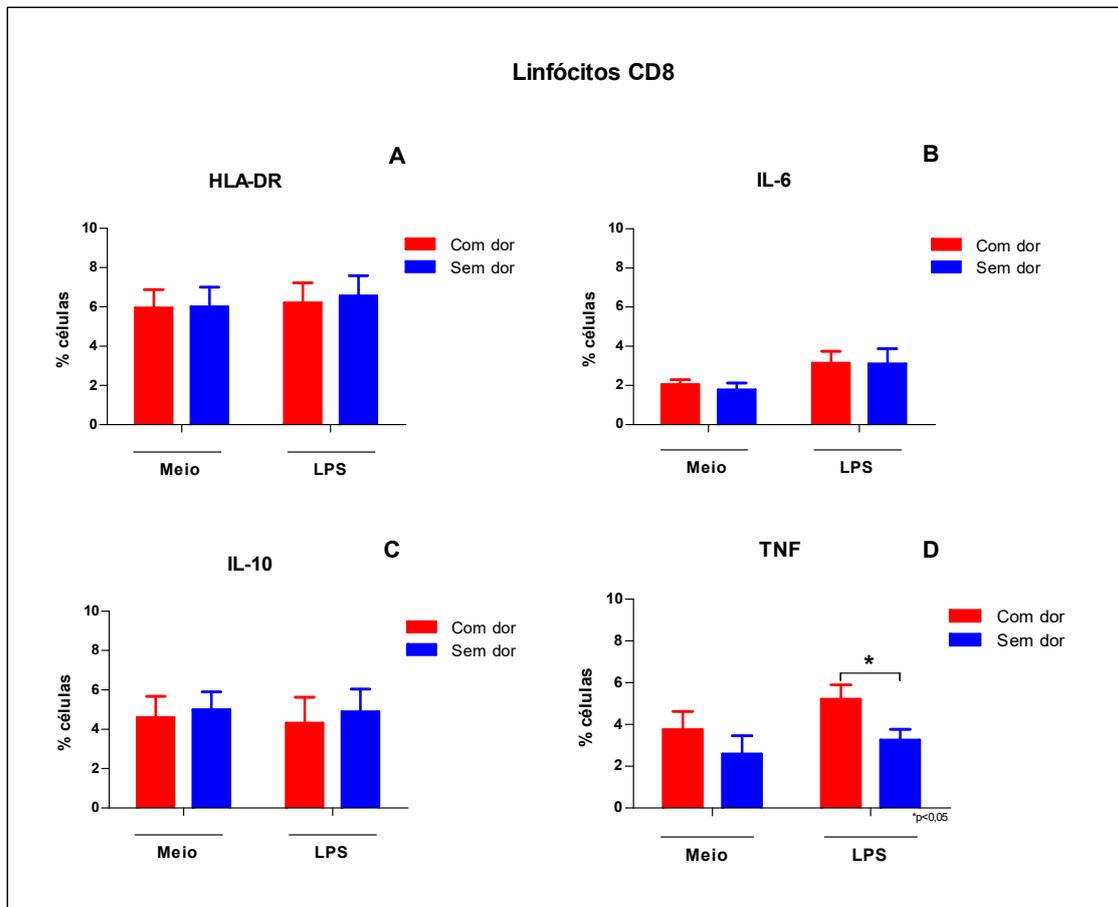
**Figura 5.** Expressão da molécula HLA-DR (A) e das citocinas IL-6 (B), IL-10 (C) e TNF (D) na população de linfócitos dos pacientes com e sem dor na ausência ou presença de estímulo (LPS). *ANOVA two-way*, N=8 por grupo.

Para a população de linfócitos T CD4+, não houve diferença na expressão da molécula HLA-DR e das citocinas IL-6, IL-10 e TNF entre os grupos com dor e sem dor, independentemente da presença ou não do estímulo (LPS) (**Figura 6**).



**Figura 6.** Expressão da molécula HLA-DR (A) e das citocinas IL-6 (B), IL-10 (C) e TNF (D) na população de linfócitos T CD4<sup>+</sup> dos pacientes com e sem dor na ausência ou presença de estímulo (LPS). ANOVA two-way, N=8 por grupo

Na população de linfócitos T CD8<sup>+</sup>, houve maior expressão de TNF no grupo com dor em relação ao grupo sem dor, na presença do estímulo (LPS) (**Figura 7**).



**Figura 7.** Expressão da molécula HLA-DR (A) e das citocinas IL-6 (B), IL-10 (C) e TNF (D) na população de linfócitos T CD8<sup>+</sup> dos pacientes com e sem dor na ausência ou presença de estímulo (LPS). ANOVA two-way, N=8 por grupo

Com o intuito de avaliar o perfil imunológico pró-inflamatório ou regulatório de produção de citocinas, foi realizada a análise da razão da expressão de citocinas pró-inflamatórias (IL-6, TNF) por citocina regulatória (IL-10) entre pacientes com e sem dor na ausência ou presença de estímulo (LPS), conforme evidenciado na **Tabela 6**. Na população de linfócitos T CD4<sup>+</sup>, a razão IL-6/IL-10 foi menor no grupo com dor em comparação ao grupo sem dor. Na população de linfócitos T CD8<sup>+</sup>, a razão TNF/IL-10 foi maior no grupo com dor em relação ao grupo sem dor. Além disso, foi observado que a presença do estímulo (LPS) levou a maiores valores da razão TNF/IL-10 em ambos os grupos, com dor e sem dor (**Tabela 6**).

**Tabela 6** - Razões da expressão de citocinas pró-inflamatórias (IL-6, TNF) por citocina regulatória (IL-10) entre pacientes com e sem dor na ausência ou presença de estímulo (LPS).

Razões	Meio		LPS		Valor-p <sup>1</sup>	Valor-p <sup>2</sup>
	Com dor	Sem dor	Com dor	Sem dor		
Leucócitos totais IL-6/IL-10	2,80±2,03	2,63±2,79	2,55±1,63	2,97±2,64	0,133	0,607
Leucócitos totais TNF/IL-10	1,54±1,30	0,95±0,32	1,32±1,53	0,80±0,10	0,879	0,954
Monócitos IL-6/IL-10	0,98±0,90	1,44±0,96	0,84±0,46	1,11±0,40	0,171	0,368
Monócitos TNF/IL-10	0,77±0,64	1,31±1,15	0,41±0,30	0,82±0,51	0,071	0,106
Neutrófilos IL-6/IL-10	7,05±6,09	13,52±14,20	3,64±1,56	7,72±10,27	0,281	0,995
Neutrófilos TNF/IL-10	2,15±2,88	1,46±0,54	2,83±6,31	0,80±0,60	0,120	0,173
Linfócitos Totais IL-6/IL-10	1,54±1,68	10,71±18,49	1,17±0,65	6,17±8,32	0,059	0,500
Linfócitos Totais TNF/IL-10	1,72±3,59	3,48±5,31	1,45±2,84	1,53±1,79	0,478	0,392
Linfócitos CD4 IL-6/IL-10	2,95±2,46	5,12±2,98	2,16±1,39	4,85±2,94	<b>0,011</b>	0,560
Linfócitos CD4 TNF/IL-10	1,28±0,91	1,78±1,55	1,61±1,21	2,87±2,11	0,111	0,194
Linfócitos CD8 IL-6/IL-10	0,63±0,47	0,47±0,33	1,49±1,65	0,79±0,45	0,188	0,077
Linfócitos CD8 TNF/IL-10	0,86±0,44	0,50±0,29	2,12±1,62	0,80±0,43	<b>0,012</b>	<b>0,018</b>

Dados apresentados em média e desvio padrão. *ANOVA two-way*. N=8 por grupo. <sup>1</sup>Comparação fator Dor; <sup>2</sup>Comparação fator estímulo.

## 6. DISCUSSÃO

A dor é um sintoma não motor muito prevalente na DP, no entanto, ainda são necessários estudos que permitam elucidar os mecanismos subjacentes ao fenômeno doloroso nessa população. Considerando o impacto da produção de citocinas inflamatórias na neurodegeneração, bem como no desencadeamento e manutenção dos quadros algícos, este estudo avaliou a expressão de HLA-DR, IL-10, IL-6 e TNF em leucócitos do sangue periférico de indivíduos com DP, com e sem dor.

A amostra deste estudo foi composta por 16 indivíduos com DP, apresentando idade média e distribuição de gênero compatível com a literatura mundial (STORCH et al., 2013; ALVES et al., 2008; BARBOSA et al., 2013; VALKOVIC et al., 2015). Os grupos apresentaram-se homogêneos com relação às características sociodemográficas. Não foi possível observar discrepância de idade ou disparidade de gênero, bem como diferenças no tempo de estudo e de duração da doença, entre os grupos com e sem dor, o que corrobora dados de estudos recentes com abordagem semelhante (WANJUN et al., 2014; TANG et al., 2016).

Com relação às características clínicas, como estadiamento da doença e nível de independência funcional, função cognitiva e afetiva, presença de fadiga e distúrbios do sono, bem como, uso de terapia dopaminérgica, também não foram encontradas diferenças entre os grupos, o que já foi observado em estudos anteriores (HANAGASI et al., 2011; FIL et al., 2013).

A avaliação da dor mostrou que os pacientes com DP têm experimentado dor acentuada, profunda e crônica, corroborando publicações anteriores (FORD et al., 2010; VALKOVIC et al., 2015; RANA et al., 2016; PAN et al., 2014). A queixa de dor esteve predominantemente nas regiões cervical, lombar e em membros superiores e inferiores e tais resultados encontram correspondência com a maioria dos estudos nessa população (YOUNG BLOOD et al., 2016). No que se refere às circunstâncias de início e características da dor, os resultados do nosso estudo, embora com amostra relativamente reduzida, também concordam com estudos anteriores (SILVA et al., 2008; YOUNG BLOOD et al., 2016; SKOGAR et al., 2012).

Os descritores do questionário de dor McGill mais referidos pelos indivíduos do nosso estudo sugerem experiência de dor relacionada ao movimento, às sensações de calor, compressão, desconforto, cansaço, medo e punição. Outros estudos também relataram características de dor semelhantes nessa população (NEBE e EBERSBACH, 2009; RANA et al., 2016). O fenômeno doloroso em pessoas com DP pode ser diretamente atribuível ao processo da doença, à sensibilização do sistema nervoso, bem como a anomalias estruturais ou biomecânicas, que podem ainda ser exacerbadas pelo comprometimento motor e por fatores emocionais, uma vez que alterações de humor podem impactar a percepção de dor (ALLEN et al., 2015; KLOSSIKA et al., 2006).

A correlação entre os níveis de dor e os escores dos outros desfechos clínicos indicou que a presença ou a intensidade da dor não foram impactadas pela presença de fadiga ou distúrbios do sono. Notadamente, encontramos correlações entre os níveis de dor e escores do UPDRS I, que avalia atividade cognitiva e humor, bem como HY, que se refere ao estadiamento da DP. Em revisão, Fil et al. (2013) destaca o efeito controverso da gravidade da doença sobre a dor, de modo que há estudos que encontraram correlação entre dor e gravidade da doença, assim como estudos que não observaram essa associação. Com relação aos transtornos de humor, nossos resultados corroboram com o trabalho de Rana et al. (2016), que não observou depressão mais grave nos pacientes com DP e dor, comparado àqueles sem dor. Outro estudo, no entanto, observou associação de depressão e dor em casos semelhantes (VALKOVIC et al., 2015).

Ambos os estados de dor crônica (ZHANG e AN, 2007; AUSTIN e MOALEM-TAYLOR, 2010) e DP (MENZA et al., 2010; SCALZO et al., 2009) têm sido associados a respostas imunológicas alteradas. Nesse sentido, nosso estudo fornece dados que demonstram uma disfunção na resposta imune celular em indivíduos com DP, como confirmado pelos resultados da análise da expressão da molécula HLA-DR e citocinas pró e anti-inflamatórias, em consonância com relatórios anteriormente publicados (MOSLEY et al., 2012). Entretanto, nosso estudo mostra também o comportamento de populações celulares da resposta imune inata e adaptativa, frente a estímulo molecular, representado pelo LPS, e frente à presença de dor nessa população, impactada ao mesmo tempo pela DP e senescência.

Inicialmente, observamos ativação basal presente, através da expressão de HLA-DR na população total dos leucócitos, sem necessidade de estímulo, em acordo com achados anteriores (HISANAGA et al., 2001). Na presença de LPS, entretanto, a imunidade celular do indivíduo com DP não apresentou reação aumentada, exibindo ativação semelhante aos níveis basais. De modo geral, em nosso estudo, a presença de dor não levou ao aumento da resposta imune celular na DP e, de forma curiosa, observamos diminuição da expressão da molécula HLA-DR, bem como das citocinas pró inflamatórias IL-6 e TNF e da citocina anti-inflamatória IL-10 nos leucócitos totais dos pacientes com dor, quando comparado aos pacientes sem dor.

Avaliando de forma estratificada a resposta imune inata, observamos que os neutrófilos dos indivíduos que relataram dor, apresentaram menor expressão de IL-6 em relação àqueles sem dor. A IL-6 apresenta níveis esperadamente elevados com o avanço da idade, sobretudo em pacientes com DP, bem como em processos algícos e após contração muscular, com papel central bem estabelecido na reação à lesão neuronal, de forma que sua supressão está relacionada à redução de efeitos neuroregenerativos (SCALZO et al., 2010; ZHANG e AN, 2007; MOTA et al., 2010; STEENBERG, et al., 2000; ZHOU et al., 2016). O fato da amostra do nosso estudo apresentar idade relativamente avançada, acrescida de comprometimento motor, uma diminuição da expressão de IL6 frente à dor, sobretudo na presença de uma doença neurodegenerativa em evolução, acrescenta dados na direção de uma resposta imune celular regulada negativamente na DP. Frente ao estímulo por LPS, os neutrófilos expressaram mais IL-10 que em aquisições basais, revelando também uma resposta predominantemente regulatória da imunidade celular inata. De forma interessante, estudo recente em população sem DP encontrou níveis reduzidos de IL-10 nos indivíduos com dor lombar crônica, em relação aos controles sem dor (LI et al., 2016).

Por outro lado, o processo de envelhecimento concorre para diminuir a funcionalidade dos neutrófilos, principalmente na produção de substâncias dependentes de sinalização de receptores. Da mesma forma, os monócitos são impactados pelo envelhecimento, apresentando alterações funcionais semelhantes aos neutrófilos, de modo que moléculas de sinalização provenientes de monócitos também podem estar diminuídas com o avanço da idade (MOTA et al., 2010). Possivelmente, os monócitos dos indivíduos do nosso estudo apresentaram expressão semelhante das citocinas e HLA-DR em todas as circunstâncias pesquisadas, devido a alterações na resposta

funcional dessas células, em desacordo com dados revisados recentemente que ressaltam aumento da regulação positiva de citocinas em células mononucleares de sangue periférico (PBMCs) de pacientes com DP, tanto na dosagem basal, quanto após estimulação pelo LPS (ALLEN REISH e STANDAERT, 2015).

No que se refere à resposta imune celular adaptativa, o fato de não encontrarmos diferenças na expressão de citocinas na população total de linfócitos entre os indivíduos que apresentavam dor e aqueles que não exibiam este fator, bem como frente ao LPS, pode ser explicado pela cronicidade dos quadros álgico e/ou neurodegenerativo, levando à ativação constante dessas células. Entretanto, ainda que já se encontrassem sob ativação, o possível perfil regulatório poderia estar diminuindo a resposta efetora dessas células. Esses achados concordam com o estudo de Saunders et al. (2012), que destacou alterações na frequência, fenótipos e função das células T, revelando um estado imunológico alterado, com ativação crônica do sistema imune na DP.

Várias condições de dor crônica estão associadas à produção de citocinas pró-inflamatórias sistêmicas (WATKINS e MAIER, 2005; UCEYLER e SOMMER, 2008). Isso poderia explicar o aumento da expressão do TNF pelos linfócitos T CD8 nos pacientes com dor. De forma interessante, com o avanço da idade, o número de linfócitos T periféricos é estável, todavia, ocorre um predomínio de células T de memória, em relação ao número de linfócitos T virgens (MOTA et al., 2010). Ainda que a dor seja um estímulo crônico, pode ser que a resposta imune celular de memória permaneça atuante, não sendo, contudo, suficientemente alta para impactar a resposta em nível do total de linfócitos.

Nosso estudo encontrou diferenças entre o microambiente da resposta imune celular adaptativa nos pacientes com dor no que se refere à razão entre expressão de IL-6/IL-10 pelos linfócitos CD4 e TNF/IL-10 pelos linfócitos CD8. Na DP, a dor determinou um desbalanço na expressão de citocinas pró e anti-inflamatória pelos linfócitos T CD8, no qual o aumento da expressão de TNF levou a um microambiente predominantemente pró-inflamatório.

A IL-10 atua na modulação de outras citocinas como na inibição da liberação de TNF. Inibe ainda a apresentação de antígenos pelos monócitos e macrófagos, bem como a expressão de moléculas do MHC II e tais eventos favorecem o deslocamento da resposta para o perfil anti-inflamatório. No entanto, a imunoregulação exercida pela IL-10 pode ser impactada nas doenças neuroimunitárias através de insuficiência na sinalização ou biodisponibilidade. Da mesma forma, o fator dor em estudos anteriores levou à diminuição dos níveis sanguíneos de IL-10, sugerindo que o RNAm de IL-10 não seja suficientemente traduzido e / ou a IL-10 produzida seja rapidamente utilizada, permanecendo assim insuficiente para controlar a dor e a inflamação associadas (KWILASZ et al., 2015).

Já com relação aos linfócitos TCD4, a resposta foi inversa, a produção de IL-10, citocina anti-inflamatória e reguladora, superou a produção, já diminuída, de IL-6 pelos linfócitos T CD4, determinando microambiente marcadamente anti-inflamatório nos pacientes com dor em relação àqueles sem dor. Esse evento poderia ser explicado pela necessidade de aumento de produção de IL-10, citocina de efeito analgésico bem estabelecido (AUSTIN e MOALEM-TAYLOR, 2010), com objetivo de controle do fenômeno doloroso crônico, pelos linfócitos T CD4, uma vez que a produção de IL-10 é estimulada pela presença de TNF, que também esteve aumentado ao nível dos linfócitos T CD8. Adicionalmente, a ação neuroprotetora de IL-10, necessária no contexto de doenças neurodegenerativas, poderia também ser uma justificativa para tal elevação em seus níveis (KWILASZ et al., 2015).

Alguns tipos de dor crônica podem levar ao desequilíbrio entre as respostas pró e anti-inflamatória a nível dos linfócitos T CD4, através da ação de células T reguladoras (Treg), que poderia desenvolver um microambiente marcadamente anti-inflamatório (LIU et al., 2006; KLEINSCHNITZ et al., 2006; LUCHTING et al., 2014; LUCHTING et al., 2015). As substâncias neuromoduladoras liberadas por células não neuronais modulam a sensibilização central que promove ou atenua a dor, dependendo da especificidade dos mediadores envolvidos (JI et al., 2016). Adicionalmente, a ativação de linfócitos T regulatórios na resposta imune adaptativa é importante para o controle da autoimunidade (LIU et al., 2006; KLEINSCHNITZ et al., 2006; LUCHTING et al., 2014; LUCHTING et al., 2015).

A literatura mundial tem demonstrado que, na DP, os níveis de citocinas inflamatórias estão elevados, tanto em modelos animais (SADEK et al., 2014) , quanto em humanos (WANG et al., 2016). No entanto, a associação de resposta imune celular com sintomas não motores é escassa, sobretudo com relação à dor. Estudos que avaliaram IL-6, IL-10 e TNF na forma expressa pelas células do sangue periférico na DP, ao nosso conhecimento, são raros e não incluem a dor como fator de associação ao perfil imunológico. Como doença crônica que utiliza precursor de dopamina no tratamento convencional, a DP determina a resposta imune celular como alvo de investigação, uma vez que linfócitos T expressam receptores da dopamina, os quais exercem diferentes ações sobre a regulação de suas funções, sobretudo no que se refere à expressão de citocinas pró e anti-inflamatórias (ALBERIO et al., 2012a; ALBERIO et al., 2012b; BESSER et al., 2005.)

## **7. CONCLUSÃO**

Embora a presença da dor não tenha evidenciado associação importante com os desfechos clínicos analisados, o perfil da expressão das citocinas pesquisadas sinaliza uma resposta imunológica atípica em condições dolorosas nos indivíduos com DP. Não foi possível detectar um padrão de imorregulação específico, uma vez que células da imunidade adaptativa apresentaram-se reguladas positiva e negativamente frente à dor. Estudos com amostra mais abrangente são necessários para avaliar os parâmetros de dor e perfil clínico, bem como a resposta inata e adaptativa nesses pacientes a fim de permitir conclusões definitivas e aplicabilidade clínica no manejo da dor nessa população.

## REFERÊNCIAS

- AARSLAND, D.; KURZ, M. W. The epidemiology of dementia associated with Parkinson disease. **J Neurol Sci**, v. 289, p. 18-22. 2010
- ABBOTT, S. M.; VIDENOVIC, A. Chronic sleep disturbance and neural injury: links to neurodegenerative disease. **Nature and Science of Sleep**, v. 8, p. 55-61. 2016
- ALBERIO, T.; PIPPIONE, A. C.; COMI, C., et al. Dopaminergic therapies modulate the T-cell proteome of patients with Parkinson's disease. **IUBMB Life**, v. 64, p. 846-852. 2012 a
- ALBERIO, T.; PIPPIONE, A. C.; COMI, C., et al. Discovery and verification of panels of T-lymphocyte proteins as biomarkers of Parkinson's disease. **Scientific Reports**, v. 2, p. 953. 2012 b.
- ALLEN, N. E.; MOLONEY, N.; VAN VLIET, V.; CANNING, C. G. The Rationale for Exercise in the Management of Pain in Parkinson's Disease. **Journal of Parkinson's Disease**, v. 5, p. 229-239. 2015
- ALLEN REISH, H. E.; STANDAERT, D. G. Role of  $\alpha$ -synuclein in inducing innate and adaptive immunity in Parkinson disease. **Journal of Parkinson's disease**, v. 5, p. 1-19. 2015.
- ALVES, G.; FORSAA, E. B.; PEDERSEN, K. F. et al. Epidemiology of Parkinson's disease. **Journal of Neurology**, v. 255, n. 5, p. 18-32. 2008.
- ASADULLAH, K. SABAT, R.; FRIEDRICH, M. et al. Interleukin-10: an important immunoregulatory cytokine with major impact on psoriasis. **Curr Drug Targets Inflamm Allergy**, v. 3, p. 185-192. 2004.
- ATAIE, A.; MOHAMMAD, S.; ATAEE, R. Polyphenolic Antioxidants and Neuronal Regeneration. **Basic and Clinical Neuroscience**, v. 7, n. 2, p. 81-90. 2016.
- AUSTIN, P. J.; MOALEM-TAYLOR, G. The neuro-immune balance in neuropathic pain: involvement of inflammatory immune cells, immune-like glial cells and cytokines. **J Neuroimmunol**, v.229, n.1-2, p. 26-50. 2010.
- BABA, Y.; KUROIWA, A.; UITTI, R. J. et al. Alterations of T-lymphocyte populations in Parkinson's disease. **Parkinsonism Relat Disord**, v. 11, p. 493-49. 2005.
- BARBOSA, M. T.; CARAMELLI, P.; CUNNINGHAM, M. C. Q. et al. Prevalence and Clinical Classification of Tremor in Elderly - A Community-Based Survey in Brazil. **Movement Disorders**, v. 28, n. 5, p. 640-646. 2013.
- BARBOSA, M. T.; CARAMELLI, P.; MAIA, D. P. et al. Parkinsonism and Parkinson's disease in the elderly; a community-based survey in Brazil (the Bambuí study). **Movement Disorders**, v. 21, p. 800-808. 2006.

- BECK, A. T.; WARD, C. H.; MENDELSON, M.; MOCK, J.; ERBAUGH, J. An inventory for measuring depression. **Arch Gen Psychiatry**, v. 4, p. 561-571. 1961.
- BEISKE, A.G.; LOGE, J.H.; RONNINGEN, A. et al. Pain in Parkinson's disease: Prevalence and characteristics. **Pain**. v. 141, n. 1-2, p.173-7. 2009.
- BERTOLUCCI, P. H. F.; BRUCKI, S. M. D.; CAMPACCI, S. R. et al. O Mini-Exame do Estado Mental em uma população geral: impacto da escolaridade. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 52, p.1-7, 1994.
- BESSER, M. J.; GANOR, Y.; LEVITE, M. Dopamine by itself activates either D2, D3 or D1/D5 dopaminergic receptors in normal human T-cells and triggers the selective secretion of either IL-10, TNFalpha or both. **J Neuroimmunol**, v. 169, n. 1-2, p. 161-171. 2005.
- BEYER, M. K.; JANVIN, C. C.;LARSEN, J. P.; AARSLAND, D. A magnetic resonance imaging study of patients with Parkinson's disease with mild cognitive impairment and dementia using voxel-based morphometry. **Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry**, v. 78, n. 3, p. 254-259. 2007.
- BORSOOK, D. "Neurological Diseases and Pain." **Brain**, v. 135, n. 2, p. 320–344. 2012.
- BROWN, R. G.; DITTNER, A.; FINDLEY, L.; WESSELY, S. C. The Parkinson fatigue scale. **Parkinsonism Relat Disord**, v. 11, n. 1, p. 49-55. 2005.
- BRUNO, A.E.; SETHARES, K.A. Fatigue in Parkinson Disease: An Integrative Review. **Journal of Neuroscience Nursing**, v 47, p. 146-153. 2015.
- CALOPA, M.; BAS, J.; CALLEN, A.; MESTRE M. Apoptosis of peripheral blood lymphocytes in Parkinson patients. **Neurobiol Dis**, v. 38, n.1, p. 1-7. 2010.
- CHAUDHURI, K.; PAL, S.; DIMARCO, A. et al. The Parkinson's disease sleep scale: a new instrument for assessing sleep and nocturnal disability in Parkinson's disease. **Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry**, v. 6, n 73, p. 629-635. 2002.
- COZAC, V. V.; GSCHWANDTNER, U. et al. Quantitative EEG and Cognitive Decline in Parkinson's Disease. **Parkinson's Disease**, vol. 2016, Article ID 9060649, 14 pages. 2016.
- CURY, R. G.; GALHARDONI, R.; TEIXEIRA, M. J. et al. Subthalamic deep brain stimulation modulates the conscious perception of sensory function in Parkinson's disease. **Pain**, v. 157, n. 12, p. 2758-2765. 2016.
- DE LAU, L. M.; BRETELER, M. M. Epidemiology of Parkinson's disease. **The Lancet Neurology**, v. 6, n. 5, p. 525-535. 2006.
- DIATCHENKO, L.; FILLINGIM, R. B.; SMITH, S. B. MAIXNER, W. The phenotypic and genetic signatures of common musculoskeletal pain conditions. **Nature Reviews Rheumatology**, v. 6, n. 9, p. 340-350. 2013.

- FARRAR, J. T.; YOUNG, J. P.; LAMOREAUX, L. et al. Clinical importance of changes in chronic pain intensity measured on an 11-point numerical pain rating scale. **Pain.**, v. 94, n. 2, p. 149-158. 2001.
- FIL, A.; CANO-DE-LA-CUERDA, R.; MUÑOZ-HELLÍN, E. et al. Pain in Parkinson disease: A review of the literature. **Parkinsonism & Related Disorders**, v. 19, n. 3, p. 285-294. 2013.
- FIORE, V. G.; DOLAN, R. J.; STRAUSFELD, N. J. et al. Evolutionarily Conserved Mechanisms for the Selection and Maintenance of Behavioural Activity. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 370, n. 1684, p. 20150053. 2015.
- FOLSTEIN, M.; FOLSTEIN, S.; MCHUGH, P. Mini-mental state. A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. **J. Psychiatr Res**, v. 12, n. 3, p. 189-198. 1975.
- FORD, B. Pain in Parkinson's disease. **Mov. Disord**, v. 25, p. 98-103. 2010.
- FRIEDMAN, J. H.; ALVES, G.; HAGELL, P. et al. Fatigue rating scales critique and recommendations by the Movement Disorders Society task force on rating scales for Parkinson's disease. **Mov. Disord**, v. 25, n. 7, p. 805-822. 2010.
- FRIEDMAN, J. H.; BECK, J. C.; CHOU, K. L. et al. Fatigue in Parkinson's disease: report from a multidisciplinary symposium. **NPJ Parkinson's disease**, v. 2, 15025. 2016.
- FU, R.; LUO, X. G.; REN, Y.; HE, Z. Y; HONG, L. V. Clinical characteristics of fatigued Parkinson's patients and the response to dopaminergic treatment. **Translational Neurodegeneration**, v. 5, n. 1, p. 9. 2016.
- FUNK, N.; WIEGHOFER, P.; GRIMM, S.; SCHAEFER, R.; BÜHRING, H. J.; GASSER, T.; BISKUP, S. Characterization of hematopoietic stem cells and peripheral monocytes in Parkinson's disease 's. **Mov. Disorders**, v. 28, n.3, 392-395. 2013.
- GAO, X.; CHEN, H.; SCHWARZSCHILD, M. A.; ASCHERIO, A. A Prospective Study of Bowel Movement Frequency and Risk of Parkinson's Disease. **American Journal of Epidemiology**, v. 174, n. 5, p. 546-551 2011.
- GARCIA-RUIZ, P. J.; CHAUDHURI, K. R.; MARTINEZ-MARTIN, P. Non-motor symptoms of Parkinson's disease - A review from the past. **Journal of Neurological Sciences**, v.15, p. 30-33. 2014.
- GINALDI, L.; FARAHAT, N. et al. Differential expression of T cell antigens in normal peripheral blood lymphocytes: A quantitative analysis by flow cytometry. **J. Clin. Pathol.**, v. 49, p. 539-544. 1996.
- GOETZ, C. G.; FAHN, S. et al. Movement disorder society-sponsored revision of the unified parkinson's disease rating scale (MDS-UPDRS): Process, format, and clinimetric testing plan. **Mov. Disord**, v. 22, p. 41-47. 2007.

GOETZ, C. G.; TILLEY, B. C. et al. Movement disorder society-sponsored revision of the unified parkinson's disease rating scale (MDS-UPDRS): Scale presentation and clinimetric testing results. **Mov. Disord**, v. 23, p. 2129-2170. 2008.

GORENSTEIN, C.; ANDRADE, L. Validation of a Portuguese version of the Beck Depression Inventory and the State-Trait Anxiety Inventory in Brazilian subjects. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 29, n. 4, p. 453-457. 1996.

HANAGASI, H. A.; AKAT, S.; GURVIT, H.; YAZICI, J.; EMRE, M. Pain is common in Parkinson's disease. **Clin. Neurol. Neurosurg.**, v. 113, p. 11-13. 2011.

HAWKER, G. A.; MIAN, S. et al. Measures of adult pain: Visual Analog Scale for Pain (VAS Pain), Numeric Rating Scale for Pain (NRS Pain), McGill Pain Questionnaire (MPQ), Short-Form McGill Pain Questionnaire (SF-MPQ), Chronic Pain Grade Scale (CPGS), Short Form-36 Bodily Pain Scale (SF-36 BPS), and Measure of Intermittent and Constant Osteoarthritis Pain (ICOAP). **Arthritis Care Res.**, v. 63, p. 240-252. 2011.

HISANAGA, K.; ASAGI, M.; ITOYAMA, Y.; IWASAKI, Y. Increase in peripheral CD4 bright +CD8 dull + T cells in Parkinson disease. **Arch. Neurol.**, v. 58, p. 1580-1583. 2001.

HOEHN, M. M; YAHR, M. D. Parkinsonism: onset, progression and mortality. **Neurology**, v. 17, n. 5, p. 427-442. 1967.

HUGHES, A. J.; DANIEL, S. E.; KILFORD, L.; LEES, A. J. Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: a clinico-pathological study of 100 cases. **Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry**. v. 3, p.181-184. 1992

IASP. Part III: Pain Terms, A Current List with Definitions and Notes on Usage. ISSN 978-0-931092-05-3. 2011.

INSTITUTE OF MEDICINE (US) Committee on Advancing Pain Research, Care, and Education. *Relieving Pain in America: A Blueprint for Transforming Prevention, Care, Education, and Research*. Washington (DC): National Academies Press (US); 2011. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK91497>. Acesso em: 25 agosto 2014.

JI, R. R.; CHAMESSIAN, A.; ZHANG, Y. Q. Pain regulation by non-neuronal cells and inflammation. **Science**, v. 354, n. 6312, p. 572-577. 2016.

JULIUS, D.; BASBAUM, A. I. Molecular mechanisms of nociception. **Nature**, v.413, n.6852, p.203-10. 2001.

KANNARKAT, G. T.; JEREMY M. B., MALÚ G. T. The Role of Innate and Adaptive Immunity in Parkinson's Disease. **Journal of Parkinson's disease**, v. 3, n. 4, p. 493–514. 2013.

KIM, Y.; LEE, W. W.; YUN, J. et al. Musculoskeletal problems in Parkinson's disease: neglected issues. **Parkinsonism Related Disorders**. v.19, n. 7, p. 666-9. 2013.

- KWILASZ, A. J. et al. The Therapeutic Potential of Interleukin-10 in Neuroimmune Diseases. **Neuropharmacology**, v. 96, p.: 55–69. 2015.
- KLEINSCHNITZ, C.; HOFSTETTER, H. H. et al. T cell infiltration after chronic constriction injury of mouse sciatic nerve is associated with interleukin-17 expression. **Exp. Neurol.** V. 200, n. 2, p. 480-5. 2006.
- KLOSSIKA, I.; FLOR, H.; KAMPING, S. et al. Emotional modulation of pain: A clinical perspective. **Pain**, v. 124, p. 264–268. 2006.
- KUMMER, A.; SCALZO, P.; CARDOSO, F. et al. Evaluation of fatigue in Parkinson's disease using the Brazilian version of Parkinson's Fatigue Scale. **Acta. Neurol. Scand.**, v. 123, n. 2, p. 130-6. 2011.
- KUNER, R.; FLOR, H. Structural plasticity and reorganization in chronic pain. **Nature Reviews Neuroscience**, v 18, p. 20-30. 2017.
- KWILASZ, A. J.; GRACE, P. M. et al. The Therapeutic Potential of Interleukin-10 in Neuroimmune Diseases. **Neuropharmacology**, v. 96. P. 55–69. 2015.
- LI, X.; HU, L. The Role of Stress Regulation on Neural Plasticity in Pain Chronification. **Neural Plasticity**, vol. 2016, Article ID 6402942, 9 pages. 2016.
- LIU, H.H.; XIA, X.Y.; WU, Y.M. et al. Detection of peripheral blood Th1/Th2 cell ratio in patients with chronic abacterial prostatitis/chronic pelvic pain syndrome. **Zhonghua Nan Ke Xue**, v. 12, n 4, p. 330–2, 336. 2006.
- LOCK, E. A.; JING, Z.; CHECKOWAY, H. Solvents and Parkinson Disease: A Systematic Review of Toxicological and Epidemiological Evidence. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 266, n.3, p. 345–355. 2013.
- LUCHTING, B.; RACHINGER-ADAM, B. et al. Disrupted TH17/Treg Balance in Patients with Chronic Low Back Pain. **PLoS ONE**, v. 9, n. 8, p. e104883. 2014.
- LUCHTING, B.; RACHINGER-ADAM, B. et al. Anti-inflammatory T-cell shift in neuropathic pain. **Journal of Neuroinflammation**, v. 12, n. 1, p. 12. 2015.
- MARGIS, R.; DONIS, K.; SCHÖNWALD, S. V. et al. Psychometric properties of the Parkinson's Disease Sleep Scale – Brazilian version. **Parkinsonism and Related Disorders**, v.15, p. 495-9. 2009.
- MCNAMARA, P.; STAVITSKY, K.; HARRIS, E. et al. Mood, side of motor symptom onset and pain complaints in Parkinson's disease. **International Journal of Geriatric Psychiatry**, v. 25, n. 5, p. 519-24. 2010.
- MAYEUX, R.; STERN, Y.; WILLIAMS, J. B. W. et al. Clinical and biomchemical features of depression in Parkinson's disease. **Am. J. Psychiatry**, v. 43, p. 756–9. 1986.

MEIRELES, J.; MASSANO, J. Cognitive Impairment and Dementia in Parkinson's Disease: Clinical Features, Diagnosis, and Management. **Frontiers in Neurology**. v. 3, n. 88, p. 1-15. 2012.

MELO, D. M.; BARBOSA, A. J. G. O uso do Mini-Exame do Estado Mental em pesquisas com idosos no Brasil: uma revisão sistemática. **Ciênc. saúde coletiva**, v. 20, n. 12, p. 3865-3876. 2015 .

MELZACK, R. The McGill Pain Questionnaire: major properties and scoring methods. **Pain**, v. 1, n. 3, p. 277-99, 1975.

MENON, B.; NAYAR, R.; KUMAR, S. et al. Parkinson's Disease, Depression, and Quality-of-Life. **Indian Journal of Psychological Medicine**, v. 37, n. 2, p. 144-148. 2015.

MENZA, M.; DOBKIN, R. D.; KUSNEKOV, A. The Role of Inflammatory Cytokines in Cognition and other Non-Motor Symptoms of Parkinson's Diseases. **Psychosomatics**, v. 51, n. 6, p. 474-479. 2010.

MIFFLIN, K. A.; KERR, B. J. The transition from acute to chronic pain: understanding how different biological systems interact. **Can. J. Anaesth.** v. 61, n. 2, p.112-22. 2014.

MIRANDA, C. C. V.; SEDA, J.; FRANCO, L. et al. Nova classificação fisiológica das dores: o atual conceito de dor neuropática. **Rev. dor**, v. 17, n.1, p. 2-4. 2016

MOALEM, G.; TRACEY D. J. Immune and inflammatory mechanisms in neuropathic pain. **Brain Res Rev**, v.51, n.2, p.240-64. 2006.

MOSLEY, R. L.; SAUNDERS, J. A. H.; STONE, D.K.; GENDELMAN, H.E. Inflammation and adaptive immunity in Parkinson's disease. **Cold Spring Harb Perspect Med**. v. 2, n. 1, p. a009381. 2012.

MOTA, S. M. Q.; PORTO, D. B.; FREITAS, M. V. C. et al. Imunossenescência: alterações imunológicas no idoso. **Rev.Bras.Med.**, v. 67, n. 6, p. 183-188. 2010.

NAJAFI, M. R.; CHITSAZ, A.; ASKARIAN, Z.; NAJAFI, M. A. Quality of Sleep in Patients with Parkinson's Disease. **International Journal of Preventive Medicine**. V. 4, n. 2, p. 229-233. 2013

NEBE, A.; EBERSBACH, G. Pain Intensity On and Off Levodopa in Patients with Parkinson's Disease. **Mov. Disord**, v. 15, n. 24, s. 8, p.1233-7. 2009.

NIWA, F.; KURIYAMA, N.; NAKAGAWA, M.; IMANISHI, J. Effects of peripheral lymphocyte subpopulations and the clinical correlation with Parkinson's disease. **Geriatr. Gerontol. Int.**, v. 12, p. 102-107. 2012.

- NUTI, A.; CERAVOLO, R.; PICCINNI, A. et al. Psychiatric comorbidity in a population of Parkinson's disease patients. **Eur. J. Neurol.**, v. 11, p. 315–20. 2004.
- OLIVEIRA, C. M. B. SAKATA, R. K. et al. Citocinas e dor. **Rev. Bras. Anesthesiol**, v. 61, n. 2, p. 260-265. 2011.
- OUNG, Q. W.; MUTHUSAMY, H.; LEE, H. L. et al. Technologies for Assessment of Motor Disorders in Parkinson's Disease: A Review. **Sensors**, v. 15, n. 9, p. 21710–21745. 2015.
- PERKINS, N. M.; TRACEY, D. J. Hyperalgesia due to nerve injury: role of neutrophils. **Neuroscience**. v. 101, n. 3, p.745-757. 2000.
- PAN, W.; LIU, J.; WANG, Q. et al. Clinical Study on Chronic Pain in Parkinson's Disease Patients in Shanghai, China. **Integr. Med. Int.**, v. 1, n. 2, p. 93–101. 2014.
- PAWELEC, G.; BARNETT, Y.; FORSEY, R. et al. T cells and aging. **Front. Biosci.**, v. 7, n. 5, p.1056–1183. 2002
- PEREIRA, J. R.; SANTOS, L. V.; SANTOS, R. M. et al. IL-6 serum levels are elevated in Parkinson's disease patients with fatigue compared to patients without fatigue. **J. Neurol. Sci.**, v. 15, n. 370, p. 153-156. 2016.
- PERLMUTTER, J. S. Assessment of Parkinson Disease Manifestations. **Current protocols in neuroscience** / editorial board, Jacqueline N. Crawley...[et al.] chapter Unit10.1. 2009.
- POLLI, A.; WEIS, L.; BIUNDO, R. et al. Anatomical and functional correlates of persistent pain in Parkinson's disease. **Mov. Disord.**, v. 31, n. 12, p. 1854–1864. 2016.
- PRINGSHEIM, T.; JETTE, N.; FROLKIS, A.; STEEVES, T. D. L. The prevalence of Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis. **Mov. Disord.**, v. 29, n. 13, p. 1583–1590. 2014.
- PURVES, D; AUGUSTINE, G.J; FITZPATRICK, D. et al. Modulation of movement by basal ganglia in **Neuroscience**, 3ª edição, p: 417-434. Sinauer Associates, 2004
- RANA, A. Q.; KABIR, A.; JESUDASAN, M. et al. Pain in Parkinson's disease: analysis and literature review. **Clin. Neurol. Neurosurg.**, v. 115, n. 11, p. 2313-7. 2013.
- RANA, A. Q.; QURESHI, A. R.; KACHHVI, H. B. et al. Increased likelihood of anxiety and poor sleep quality in Parkinson's disease patients with pain. **J. Neurol. Sci.**, v. 15, n. 369, p. 212-5. 2016.
- RAVINA, B.; CAMICOLI, R.; COMO, P. G. et al. The impact of depressive symptoms in early Parkinson disease. **Neurology**, v. 69, n. 4, p. 342–7. 2007.
- REALE, M.; IARLORI, C.; THOMAS, A. et al. Peripheral cytokines profile in Parkinson's disease. **Brain Behav. Immun.**, v. 23, n. 1, p. 55-63. 2009.

- ROSS, G. W.; PETROVITCH, H.; ABBOTT, R. D. et al. Association of olfactory dysfunction with risk for future Parkinson's disease. **Ann. Neurol.**, v. 63, n. 2, p. 167-73. 2008.
- SADEK, H. L.; ALMOHARI, S. F.; RENNO, W. M. The Inflammatory Cytokines in the Pathogenesis of Parkinson's Disease. **J. Alzheimers Dis. Parkinsonism**, v. 4, n. 3, p. 148-155. 2014.
- SANTOS-GARCÍA, D.; ABELLA-CORRAL, J.; ANEIROS-DÍAZ, Á. et al. Pain in Parkinson's disease: prevalence, characteristics, associated factors, and relation with other non motor symptoms, quality of life, autonomy, and caregiver burden. **Rev. Neurol.**, v. 52, n. 7, p. 385-93. 2011.
- SALMOND, R. J.; ZAMOYSKA, R. The influence of mTOR on T helper cell differentiation and dendritic cell function. **Eur. J. Immunol.**, v. 41, p. 2137–2141. 2011.
- SAMII, A.; NUTT, J. G.; RANSOM, B. R. Parkinson's disease. **Lancet**, v. 29, n. 363, p. 1783-93. 2004.
- SAUNDERS, J. A. H.; ESTES, K. A.; KOSLOSKI, L. M. et al. CD4+ Regulatory and Effector/Memory T Cell Subsets Profile Motor Dysfunction in Parkinson's Disease. **Journal of Neuroimmune Pharmacology.**, v. 7, n. 4, p. 927-938. 2012.
- SCALZO, P. L., TEIXEIRA-JÚNIOR, A. L. Basal ganglia participation in tone and locomotion control. **Fisioter. Mov.**, v. 22, n. 4, p. 595-603. 2009 a.
- SCALZO, P. L.; KUMMER, A.; CARDOSO, F. et al. Depressive symptoms and perception of quality of life in Parkinson's disease. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 67, n. 2a, p. 203-8. 2009 b.
- SCALZO, P. L.; KÜMMER, A.; CARDOSO, F.; TEIXEIRA, A. L. Serum levels of interleukin-6 are elevated in patients with Parkinson's disease and correlate with physical performance. **Neurosci Lett.**, v. 468, n. 1, p. 56-8. 2010.
- SCHESTATSKY, P.; KUMRU, H.; VALLS-SOLÉ, J. et al. Neurophysiologic study of central pain in patients with Parkinson disease. **Neurology**, v. 69, n. 23, p. 2162-9. 2007.
- SELVARAJ, V. K.; KESHAVAMURTHY, B. Sleep Dysfunction in Parkinson's Disease. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v. 10, n. 2, p. 9-12. 2016.
- SHLOMCHIK, M. J.; WEISEL, F. Germinal center selection and the development of memory B and plasma cells. **Immunol. Rev.**, v. 247, n. 1, p.52–63. 2012.
- SHULMAN, L. M.; TABACK, R. L.; RABINSTEIN, A. A. et al. Non-recognition of depression and other non-motor symptoms in Parkinson's disease. **Parkinsonism & Related Disorders**, v. 8, n. 3, p. 193–197. 2002.

- SHULMAN, J. M.; DE JAGER, P. L.; FEANY, M. B. Parkinson's disease: genetics and pathogenesis. **Annu. Rev. Pathol.**, v. 6, p. 193-222. 2011.
- SILVA, E.G.; VIANA, M. A.; QUAGLIATO, E. M. A. B. Pain in Parkinson's disease: analysis of 50 cases in a clinic of movement disorders. **Arq. Neuro-Psiquiatr.** v. 66, n. 1, p. 26-29. 2008.
- SKOGAR, Ö.; FALL, P. A.; HALLGREN, G. et al. Parkinson's disease patients' subjective descriptions of characteristics of chronic pain, sleeping patterns and health-related quality of life. **Neuropsychiatric Disease and Treatment**, v. 8, p. 435-442. 2012.
- SKOGAR, O.; LOKK, J. Pain management in patients with Parkinson's disease: challenges and solutions. **Journal of Multidisciplinary Healthcare**, v. 9, p. 469-479. 2016.
- STEENSBERG, A.; VAN HALL, G.; OSADA, T. et al. Production of interleukin-6 in contracting human skeletal muscles can account for the exercise-induced increase in plasma interleukin-6. **The Journal of Physiology**. v. 529, n. 1, p. 237-242. 2000.
- STEVENS, C. H.; ROWE, D.; MOREL-KOPP, M. C. et al. Reduced T helper and B lymphocytes in Parkinson's disease. **J. Neuroimmunol**, v. 252, n.1-2, p. 95-9. 2012.
- STORCH, A.; SCHNEIDER, C.B.; WOLZ, M. et al. Nonmotor fluctuations in Parkinson disease: severity and correlation with motor complications. **Neurology.**, v. 80, n. 9, p. 800-9. 2013.
- TANDBERG, E.; LARSEN, J. P.; AARSLAND, D. et al. The occurrence of depression in Parkinson's disease. A community-based study. **Arch Neurol**. v. 53, p. 175-9. 1996.
- TANG, Y.; GE, J.; LIU, F. et al. Cerebral Metabolic Differences Associated with Cognitive Impairment in Parkinson's Disease. Garg P, ed. **PLoS ONE**. v. 11, n. 4, p. e0152716. 2016.
- THACKER, M. A.; CLARK, A. K.; MARCHAND, F. et al. Pathophysiology of peripheral neuropathic pain: immune cells and molecules. **Anesth. Analg.** v. 105, p. 838-847. 2007.
- TUMAS, V.; RODRIGUES, G. G.; FARIAS, T. L. et al. The accuracy of diagnosis of major depression in patients with Parkinson's disease: a comparative study among the UPDRS, the geriatric depression scale and the Beck depression inventory. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 66, p. 152-6. 2008.
- UCEYLER, N.; VALENZA, R.; STOCK, M. et al. Reduced levels of anti-inflammatory cytokines in patients with chronic widespread pain. **Arthritis Rheum.**, v. 54, p. 2656-2664. 2006.
- UCEYLER, N.; SOMMER, C. Cytokine regulation and pain. Results of experimental and clinical research. **Schmerz**, v. 22, n. 6, p. 652-664. 2008.
- VALLEJO, R.; TILLEY, D. M.; VOGEL, L. et al. The role of glia and the immune system in the development and maintenance of neuropathic pain. **Pain Practice: the official journal of World Insitute of Pain**, v. 10, n3, p. 167-84. 2010.

- VALKOVIC, P.; MINAR, M.; SINGLIAROVA, H. et al. Pain in Parkinson's Disease: A Cross-Sectional Study of Its Prevalence, Types, and Relationship to Depression and Quality of Life. LeDoux MS, ed. **PLoS ONE.**, v. 10, n. 8, p. e0136541. 2015.
- VAROLI, F. K.; PEDRAZZI, V. Adapted version of the McGill Pain Questionnaire to Brazilian Portuguese. **Brazilian Dental Journal**, v. 17, n. 4, p. 328-35. 2006.
- VIDENOVIC, A.; GOLOMBEK, D. Circadian and Sleep Disorders in Parkinson's Disease. **Experimental neurology**. V. 243, p. 45-56. 2013.
- VON HEHN, C. A.; BARON, R.; WOOLF, C. J. Deconstructing the Neuropathic Pain Phenotype to Reveal Neural Mechanisms. **Neuron.**, v. 73, n. 4, p. 638-652. 2012.
- WANG, X. M.; ZHANG, Y. G.; LI, A. L. et al., Relationship between levels of inflammatory cytokines in the peripheral blood and the severity of depression and anxiety in patients with Parkinson's disease. **Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci**, v. 20, n. 18, p. 3853-3856. 2016.
- WAGNER, R.; JANJIGIAN, M.; MYERS, R. R. Anti-inflammatory interleukin-10 therapy in CCI neuropathy decreases thermal hyperalgesia, macrophage recruitment, and endoneural TNF- $\alpha$  expression. **Pain**, v. 74, n. 1, p. 35-42, 1998.
- WANJUN, L.; YONGQIAN, C.; BOWEN, Y.; ZHANG, L. Pain in Parkinson's Disease Associated with COMT Gene Polymorphisms. **Behavioural Neurology**, vol. 2014, Article ID 304203, 7 pages. 2014.
- WASNER, G.; DEUSCHL, G. Pains in Parkinson disease--many syndromes under one umbrella. **Nat. Rev. Neurol.**, v. 17;8, n. 5, p 284-94. 2012.
- WATKINS, L. R.; MAIER, S. F. Immune regulation of central nervous system functions: from sickness responses to pathological pain. **Journal of internal medicine**, v. 257, n. 2, p. 139-155. 2005.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Guidelines on Drawing Blood: Best Practices in Phlebotomy. Geneva: World Health Organization.. 2, Best practices in phlebotomy. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK138665>>. Acesso em: 05 mar. 2016.
- YOUNG BLOOD, M. R.; FERRO, M. M.; MUNHOZ, R. P. et al. Classification and Characteristics of Pain Associated with Parkinson's Disease. **Parkinson's Disease**, vol. 2016, Article ID 6067132, 8 pages. 2016
- ZHANG, J. M.; AN, J. Cytokines Inflammation and Pain. **International anesthesiology clinics**, v. 45, n. 2, p. 27-37. 2007.
- ZHOU Y. Q.; LIU, Z.; LIU, Z. H. et al. Interleukin-6: an emerging regulator of pathological pain. **Journal of Neuroinflammation.**, v. 13, p.141. 2016.

ZHUANG, X.; CHEN, Y.; ZHUANG, X. et al. Contribution of Pro-inflammatory Cytokine Signaling within Midbrain Periaqueductal Gray to Pain Sensitivity in Parkinson's Disease *via* GABAergic Pathway. **Frontiers in Neurology.**, v. 7, p. 104. 2016.

## APÊNDICE A

### ROTEIRO DE AVALIAÇÃO

Data da avaliação: \_\_\_\_\_ ID: \_\_\_\_\_ Horário coleta de sangue: \_\_\_\_\_

Nome: \_\_\_\_\_ Sexo: ( ) F ( ) M

DN: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Raça: \_\_\_\_\_ Escolaridade: \_\_\_\_\_

Naturalidade: \_\_\_\_\_ Moradia nos últimos 10 anos: \_\_\_\_\_

Moradia atual: \_\_\_\_\_

Telefone: \_\_\_\_\_

#### HÁBITOS DE VIDA:

Etilismo: ( ) sim ( ) não / Tempo: \_\_\_\_\_ Tabagismo: ( ) sim ( ) não / Tempo: \_\_\_\_\_

**Faz atividade física?** ( ) sim ( ) não

Há quanto tempo? \_\_\_\_\_ Qual atividade? \_\_\_\_\_ Frequência? \_\_\_\_\_

#### ELEGIBILIDADE

Critério de inclusão:

1-Compreende os comandos verbais ( ) sim ( ) não

Critério de Exclusão:

1-Doenças crônicas (ex. autoimunes) ( ) não ( ) sim Qual?

\_\_\_\_\_

2-Doenças agudas (ex.: infecções) ( ) não ( ) sim Qual?

\_\_\_\_\_

3- Fez uso de antiinflamatórios ou corticóides no último mês?

( ) não ( ) sim Qual? \_\_\_\_\_

Quer participar do estudo? ( ) sim ( ) não

Motivo: \_\_\_\_\_

Está em uso de medicamento para dor? ( ) sim ( ) não

Qual? \_\_\_\_\_

Elegível para o estudo

Grupo DP com dor ( ) não ( ) sim

Grupo DP sem dor ( ) não ( ) sim

Se o paciente for elegível (marcou sim para os critérios de inclusão e não para os de exclusão), iniciar

o procedimento de leitura e de assinatura do Termo de Consentimento do estudo.

**INFORMAÇÕES SOBRE A DOENÇA DE PARKINSON**

Início dos sinais: \_\_\_\_\_ / **Tempo de diagnóstico:** \_\_\_\_\_

**Sinais clínicos no início da DP:** ( ) Tremor ( ) Rigidez ( ) Bradicinesia ( ) Instabilidade Postural

( ) Outros \_\_\_\_\_ Lado de comprometimento inicial: \_\_\_\_\_

**Sinais clínicos atuais:**( ) Tremor ( ) Rigidez ( ) Bradicinesia ( ) Instabilidade Postural

( ) Outros \_\_\_\_\_

Quedas nos últimos seis meses? ( ) Sim ( ) Não Freqüência: \_\_\_\_\_

**Faz uso de L-dopa:** ( ) Sim ( ) Não Qual? \_\_\_\_\_

Início do uso: \_\_\_\_\_ **Dose (atual):** \_\_\_\_\_

**Horário dos comprimidos:** \_\_\_\_\_

Latência (qto tempo para começar o efeito?): \_\_\_\_\_

Duração (o efeito dura até a próxima dose ou termina antes?): \_\_\_\_\_

Tem efeitos colaterais por causa da levodopa? ( ) Sim ( ) Não

( ) Discinesias (movimentos involuntários)

( ) Fenômeno On-Off (momentos bem definidos de efeito e falta de efeito da levodopa)

( ) Flutuação (se o efeito da levodopa oscila entre uma medicação e outra)

( ) Wearing-Off (se há o aumento do tempo para fazer efeito e/ou se termina antes de tomar o próximo)

**Faz uso de outros medicamentos para DP?** ( ) Sim ( ) Não

Quais? (nome, dose, horário) \_\_\_\_\_

**Faz uso de medicamentos para Dor?** ( ) Sim ( ) Não

Quais? (nome, dose, horário)

**Doenças associadas:** ( ) sim ( ) não

Quais? \_\_\_\_\_

**OUTRAS BSERVAÇÕES:**

\_\_\_\_\_

## APÊNDICE B

### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

**Título do Projeto:** *“DOENÇA DE PARKINSON: CORRELAÇÃO ENTRE DOR, PRODUÇÃO DE MEDIADORES INFLAMATÓRIOS E FATORES NEUROTRÓFICOS E POLIMORFISMOS DE GENES CODIFICADORES DE MEDIADORES INFLAMATÓRIOS, FATORES NEUROTRÓFICOS E SEUS RECEPTORES, MOLÉCULAS DAS VIAS ADRENÉRGICAS E SEROTONINÉRGICAS, CANAIS IÔNICOS, ESTRÓGENO E SEUS RECEPTORES”*

Este termo de consentimento pode conter palavras que você não entenda. Peça ao pesquisador que explique as palavras ou informações não compreendidas completamente.

#### 1) Introdução

Você está sendo convidado (a) a participar da pesquisa que pretende estudar a associação entre a doença de Parkinson e diversas substâncias químicas do nosso corpo, assim como genes que podem estar associados a essa doença e à dor que ela acarreta. Sua participação envolverá exames físicos, preenchimento de questionários, entrevistas, coleta de sangue para avaliar as substâncias relacionadas à dor e coleta de raspado da parede interna de sua bochecha para estudo dos genes presentes em suas células.

Se decidir participar da pesquisa, é importante que leia estas informações sobre o estudo e o seu papel nesta pesquisa.

Você foi selecionado por estar em atendimento no Ambulatório de Neurologia do Centro Metropolitano de Especialidades Médicas da Santa Casa de Belo Horizonte/MG e por ter diagnóstico de doença de Parkinson. A sua participação não é obrigatória e você pode não querer participar do estudo. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador ou com a instituição. É preciso entender a natureza e os riscos da sua participação e dar o seu consentimento livre e esclarecido por escrito.

#### 2) Objetivo

O objetivo desse estudo é avaliar a associação entre a dor presente na doença de Parkinson, mediadores químicos presentes no seu corpo e genes em suas células que podem estar associados a essa doença.

### **3) Procedimentos do Estudo**

Se concordar em participar deste estudo, você será solicitado a responder algumas perguntas e entrevistas e a realizar a coleta de sangue e de raspado da bochecha.

### **4) Riscos e Desconfortos**

Para a coleta do sangue, que será realizada por um profissional qualificado, serão respeitados todos os procedimentos técnico-científicos e de biossegurança para o punção e armazenamento do sangue, sem que a coleta ofereça risco. Caso aconteça algum desconforto ou você sinta algum mal estar, o professor responsável pela pesquisa intervirá e, se for necessário, o serviço de atendimento de urgência será acionado. O raspado da pele da parede interna da bochecha é realizado com uma espátula estéril, é um procedimento extremamente simples e não oferece nenhum risco para você.

### **5) Benefícios**

A participação nessa pesquisa não acarretará gasto para você, sendo totalmente gratuita. As informações obtidas por meio desse estudo poderão ser importantes para o entendimento dos mecanismos da dor na doença de Parkinson, possibilitando, no futuro, avanços no diagnóstico e no tratamento da doença. O conhecimento que você adquirir a partir da sua participação na pesquisa poderá beneficiá-lo com informações e orientações futuras em relação à sua doença.

### **6) Custos/Reembolso**

Você não terá nenhum gasto com a sua participação no estudo, da mesma forma que também não receberá pagamento pela sua participação. A sua avaliação e as coletas de sangue e raspado da bochecha acontecerão em um ou dois momentos por membros da equipe da pesquisa.

### **7) Caráter Confidencial dos Registros**

Algumas informações obtidas a partir de sua participação neste estudo não poderão ser mantidas estritamente confidenciais. Além dos pesquisadores que vão fazer as perguntas dos questionários e aplicar os testes, os professores orientadores deste estudo e o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais podem precisar consultar seus registros. Você não será identificado quando o material de seu registro for utilizado, seja para propósitos de publicação científica ou educativa. Ao assinar este consentimento informado, você autoriza as inspeções em seus registros.

## 8) Participação

É importante que você esteja consciente de que sua participação neste estudo é completamente voluntária e de que você pode recusar-se a participar do estudo, sem penalidades ou perda de benefícios aos quais você tenha direito de outra forma. A recusa em participar do estudo não influenciará seus cuidados nesta instituição.

## 9) Para obter informações adicionais

Você receberá uma cópia deste termo onde consta o telefone do pesquisador principal, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação, agora ou a qualquer momento. Caso você tenha mais perguntas sobre o estudo, por favor, entre em contato com os nomes abaixo.

### Pesquisadores Responsáveis:

Camila Megale de Almeida Leite                      Telefone: 9191-7191

Paula Luciana Scalzo                                      Telefone: 8459-6533

Renata Maria Silva Santos                              Telefone: 8534-9525

### COEP: Comitê de Ética em Pesquisa / UFMG

Av. Antônio Carlos, 6.627. Unidade Administrativa II - 2º andar - sala 2005

Telefone: (31) 3409-4592 / Email: coep@prpq.ufmg.br.

## 10) Declaração de Consentimento

Li ou alguém leu para mim as informações contidas neste documento antes de assinar este termo de consentimento. Declaro que fui informado sobre os objetivos do estudo. Declaro que tive tempo suficiente para ler e entender as informações acima. Declaro também que toda a linguagem técnica utilizada na descrição deste estudo de pesquisa foi satisfatoriamente explicada e que recebi respostas para todas as minhas dúvidas. Autorizo a coleta de sangue e de raspado da bochecha e sua utilização neste projeto de pesquisa.

Confirmo também que recebi uma cópia deste formulário de consentimento. Compreendo que sou livre para não participar do estudo, sem perda de benefícios ou qualquer outra penalidade. Dou meu consentimento de livre e espontânea vontade e sem reservas para participar como paciente deste estudo.

\_\_\_\_\_

Nome do participante (em letra de forma)

\_\_\_\_\_

Assinatura do participante ou representante legal

\_\_\_\_\_

Data

Atesto que expliquei cuidadosamente a natureza e o objetivo deste estudo, junto ao participante e/ou seu representante autorizado. Acredito que o participante e/ou seu representante recebeu todas as informações necessárias, que foram fornecidas em uma linguagem adequada e compreensível e que ele/ela compreendeu a explicação.

---

Assinatura do pesquisador

---

Data

## ANEXO - 1

## Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

**Projeto: CAAE – 40288214.2.0000.5149**

**Interessado(a): Profa. Camila Megale de Almeida Leite  
Departamento de Morfologia  
Instituto de Ciências Biológicas - UFMG**

**DECISÃO**

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 25 de fevereiro de 2015, o projeto de pesquisa intitulado **"Doença de Parkinson: correlação entre dor, produção de mediadores inflamatórios e fatores neurotróficos e polimorfismos de genes codificadores de mediadores inflamatórios, fatores neurotróficos e seus receptores, moléculas das vias adrenérgica e serotoninérgica, canais iônicos"** bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto através da Plataforma Brasil.

Profa. Dra. Telma Campos Medeiros Lorentz  
Coordenadora do COEP-UFMG

## ANEXO - 2

## MINI-EXAME DO ESTADO MENTAL

Nome: \_\_\_\_\_

Data de avaliação: \_\_\_\_\_ Avaliador: \_\_\_\_\_

**Orientação**

- |  |     |
|--|-----|
| 1) Dia da Semana (1 ponto)                               | ( ) |
| 2) Dia do Mês (1 ponto)                                  | ( ) |
| 3) Mês (1 ponto)   | ( ) |
| 4) Ano (1 ponto)   | ( ) |
| 5) Hora aproximada (1 ponto)                             | ( ) |
| 6) Local específico (andar ou setor) (1 ponto)           | ( ) |
| 7) Instituição (residência, hospital, clínica) (1 ponto) | ( ) |
| 8) Bairro ou rua próxima (1 ponto)                       | ( ) |
| 9) Cidade (1 ponto)                                      | ( ) |
| 10) Estado (1 ponto)                                     | ( ) |

**Memória Imediata**

Fale três palavras (carro, vaso, tijolo) não relacionadas. Posteriormente pergunte ao paciente pelas 3 palavras. Dê 1 ponto para cada resposta correta. ( )

**Atenção e Cálculo**

(100-7) sucessivos, 5 vezes sucessivamente (93,86,79,72,65)  
(1 ponto para cada cálculo correto) ( )

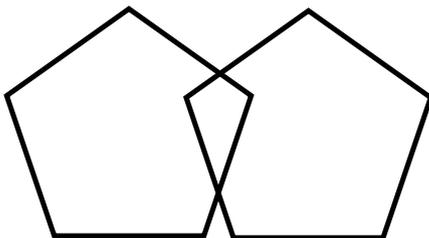
Soletrar a palavra mundo de trás para frente (O-D-N-U-M)

**Evocação**

Pergunte pelas três palavras ditas anteriormente (1 ponto por palavra) ( )

**Linguagem**

- |  |     |
|--|-----|
| 1) Nomear um relógio e uma caneta (2 pontos)   | ( ) |
| 2) Repetir “nem aqui, nem ali, nem lá” (1 ponto)   | ( ) |
| 3) Comando:”pegue este papel com a mão direita, dobre ao meio e coloque no chão (3 pontos) | ( ) |
| 4) Ler e obedecer:”feche os olhos” (1 ponto)   | ( ) |
| 5) Escrever uma frase (1 ponto)  | ( ) |
| 6) Copiar um desenho (1 ponto)   | ( ) |



## ANEXO - 3

### ESCALA DE AVALIAÇÃO UNIFICADA PARA A DOENÇA DE PARKINSON (UPDRS)

#### I. ATIVIDADE MENTAL, COMPORTAMENTO E HUMOR

##### 1) Deterioração Intelectual

0 = Nenhum.

1 = Leve. Esquecimentos constantes com lembranças parciais de acontecimentos, porém sem outras dificuldades.

2 = Perda moderada da memória com desorientação e dificuldade moderada no manejo de situações problemáticas complexas. Deterioração funcional leve, ainda que evidente no domicílio, com necessidade de ajudas ocasionais.

3 = Perda grave da memória com desorientação temporal e, muitas vezes também espacial. Dificuldade severa para resolver problemas.

4 = Perda grave da memória com preservação da orientação apenas no que diz respeito a pessoas. Incapaz de emitir juízo de valor ou de resolver situações problemáticas. Requer muita ajuda nos cuidados pessoais. Não se pode deixar sozinho.

##### 2) Transtornos de Pensamento (devido à demência ou a toxicidade medicamentosa)

0 = Nenhum.

1 = Pesadelos.

2 = Alucinações “benignas” com conservação da introspecção.

3 = Alucinações ou delírios esporádicos ou freqüentes; perda da introspecção; pode ter dificuldades nas atividades cotidianas.

4 = Alucinações persistentes, delírios ou psicose “ativa”. Não é capaz de cuidar de si mesmo.

##### 3) Depressão

0 = Ausente.

1 = Períodos de tristeza ou culpabilidade superiores ao normal, nunca persistindo durante dias ou semanas.

2 = Depressão persistente (uma semana ou mais).

3 = Depressão persistente com sintomas vegetativos (insônia, anorexia, perda de peso, perda de interesse).

4 = Depressão persistente com sintomas vegetativos e pensamentos ou tentativas de suicídio.

##### 4) Motivação / Iniciativa

0 = Normal.

1 = Com menos energia que o habitual, mais passivo.

2 = Perda de iniciativa ou desinteresse em atividades não rotineiras.

3 = Perda de iniciativa ou desinteresse em atividades diárias/rotineiras.

4 = Isolado, sem nenhuma motivação.

#### II. ATIVIDADES DE VIDA DIÁRIA (ESPECIFICAR ON/OFF)

##### 5) Linguagem falada

0 = Normal.

1 = Levemente afetada. Sem dificuldades para ser compreendido.

2 = Alteração moderada. Em algumas ocasiões é necessário pedir para repetir o que disse.

3 = Alteração grave. Frequentemente é necessário pedir para repetir o que está falando.

4 = Ininteligível na maioria das vezes.

##### 6) Sialorréia

0 = Normal.

1 = Aumento leve da saliva, mas evidente na boca; pode ocorrer baba noturna.

2 = Aumento moderado da saliva; pode ter uma baba mínima.

3 = Aumento marcante de saliva com alguma baba.

4 = Baba marcante que requer uso constante de lenços.

##### 7) Deglutição

0 = Normal.

1 = Engasga raramente.

2 = Engasga de forma esporádica.

3 = Requer alimentos macios.

4 = Requer alimentação por sonda nasogástrica ou gastrotomia.

##### 8) Escrita

0 = Normal.

1 = Ligeiramente lenta ou pequena.

2 = Moderadamente lenta ou pequena. Todas as palavras são legíveis.

3 = Alteração grave, nem todas as palavras são legíveis.

4 = A maioria das palavras são ilegíveis.

##### 9) Corte de alimentos e manejo de talheres

0 = Normal.

1 = Um pouco lento e torpe, mas não precisa de ajuda.

2 = Pode cortar a maioria dos alimentos, ainda que de um modo torpe e lento; precisa de certa ajuda.

3 = Os alimentos devem ser cortados por outra pessoa, porém; pode alimentar-se lentamente.

4 = Necessita que o alimentem.

##### 10) Vestir-se

0 = Normal.

1 = Um pouco lento, apesar de não necessitar de ajuda.

2 = Em algumas ocasiões necessita de ajuda para abotoar e colocar os braços nas mangas.

3 = Requer uma ajuda considerável, porém pode fazer algumas coisas sozinho.

4 = Precisa de ajuda completa.

##### 11) Higiene

0 = Normal.

1 = Um pouco lento, mas não precisa de ajuda.

2 = Precisa de ajuda para se barbear ou tomar banho, ou é muito lento nos cuidados de higiene.

3 = Requer ajuda para lavar-se, escovar os dentes, pentear-se e ir ao banheiro.

4 = Precisa de cateter de Foley e outras medidas mecânicas.

##### 12) Dar a volta na cama ou arrumar os lençóis

0 = Normal.

1 = Um pouco lento e torpe, mas não precisa de ajuda.

2 = Pode dar a volta sozinho ou arrumar os lençóis, ainda que com grande dificuldade.

3 = Pode tentar, mas não dá a volta nem arruma os lençóis sozinho.

4 = Ajuda total.

##### 13) Quedas

0 = Nenhuma.

1 = Quedas infreqüentes.

2 = Quedas ocasionais, menos de uma vez por dia.

3 = Quedas uma vez por dia em média.

4 = Quedas mais de uma vez por dia.

##### 14) Bloqueio/congelamento durante a marcha

0 = Nenhum.

1 = Bloqueio/congelamento pouco freqüente durante a marcha; pode experimentar uma hesitação ao começar a andar (“start-hesitation”).

2 = Bloqueio/congelamento esporádico durante a marcha.

- 3 = Bloqueio/congelamento freqüente que ocasionalmente levam a quedas.  
4 = Quedas freqüentes causadas por bloqueio/congelamento.

### 15) Marcha

- 0 = Normal.  
1 = Dificuldade leve. Pode não ocorrer balanceio dos braços ou tender a arrastar uma perna.  
2 = dificuldade moderada, porém necessita de pouco ou nenhuma ajuda.  
3 = Alterações graves da marcha, com necessidade de ajuda.  
4 = A marcha é impossível, ainda que com ajuda.

### 16) Tremor

- 0 = Ausente.  
1 = Leve e pouco freqüente.  
2 = Moderado, incômodo para o paciente.  
3 = Grave, dificulta muitas atividades.  
4 = Marcante, dificulta a maioria das atividades.

### 17) Moléstias sensitivas relacionadas com o parkinsonismo

- 0 = Nenhuma.  
1 = Em algumas ocasiões, tem edema, formigamento ou dor leve.  
2 = Freqüentemente tem edema, formigamento ou dor, não preocupantes.  
3 = Freqüentes sensações dolorosas.  
4 = Dor muito intensa.

## III. EXPLORAÇÃO MOTORA

### 18) Linguagem falada

- 0 = Normal.  
1 = Leve perda de expressão, dicção e/ou volume da voz.  
2 = Monótona, arrastada, mas compreensível, alteração moderada.  
3 = Alteração marcada, difícil de entender.  
4 = Dor muito intensa.

### 19) Expressão facial

- 0 = Normal.  
1 = Hipomímia mínima; poderia ser normal ("cara de jogador de poker")  
2 = Diminuição leve, mas claramente anormal da expressão facial.  
3 = Hipomímia moderada; lábios separados em algumas ocasiões.  
4 = Face fixa ou em máscara, com perda grave ou total da expressão facial; lábios separados 0,6 cm ou mais.

### 20) Tremor em repouso

- 0 = Ausente.  
1 = Leve e pouco freqüente.  
2 = De pequena amplitude e contínuo ou de amplitude moderada e aparição intermitente.  
3 = De amplitude moderada e presente quase continuamente.  
4 = De amplitude marcada e presente quase continuamente.

### 21) Tremor de ação ou postural das mãos

- 0 = Ausente.  
1 = Leve; presente durante a atividade.  
2 = De amplitude moderada, presente durante a atividade.  
3 = De amplitude moderada, presente ao manter uma postura assim como durante a atividade.  
4 = De amplitude marcada, dificulta a alimentação.

### 22) Rigidez (Avaliada através da mobilização passiva das articulações maiores, com o paciente sentado e relaxado. Não avaliar o fenômeno da roda denteada)

- 0 = Ausente.  
1 = Leve ou só percebida quando ativada por movimentos contralaterais ou outros movimentos.  
2 = Leve a moderada.  
3 = Marcada, mas permite alcançar facilmente a máxima amplitude de movimento.  
4 = Grave, a máxima amplitude do movimento é alcançada com dificuldade.

### 23) Destreza digital (O paciente bate o polegar contra o indicador rápido sucessivamente com a maior amplitude possível, cada mão separadamente)

- 0 = Normal.  
1 = Ligeiramente lento e/ou redução da amplitude.  
2 = Alteração moderada. Fadiga clara e precoce. O movimento pode se deter ocasionalmente.  
3 = Alteração grave. Freqüente indecisão ao iniciar o movimento ou paradas enquanto realiza o movimento.  
4 = Apenas pode realizar o exercício.

### 24) Movimento das mãos (O paciente abre e fecha as mãos rápido e sucessivamente com a maior amplitude possível, cada mão separadamente)

- 0 = Normal.  
1 = Lentidão leve e/ou redução da amplitude.  
2 = Alteração moderada. Fadiga clara e precoce. O movimento pode se deter ocasionalmente.  
3 = Alteração grave. Freqüente indecisão em iniciar o movimento ou paradas enquanto realiza o movimento.  
4 = Apenas realiza o exercício.

### 25) Movimentos das mãos rápidos e alternantes (Movimentos de pronação-supinação das mãos, vertical ou horizontalmente com a maior amplitude possível e ambas as mãos simultaneamente)

- 0 = Normal.  
1 = Lentidão leve e/ou redução da amplitude.  
2 = Alteração moderada. Fadiga clara e precoce. O movimento pode se deter ocasionalmente.  
3 = Alteração grave. Freqüente indecisão em iniciar o movimento ou paradas enquanto realiza o movimento.  
4 = Apenas realiza o exercício.

### 26) Agilidade das pernas (O paciente bate o calcanhar contra o solo em sucessão rápida, levantando a perna por completo. A amplitude deveria situar-se em 7 a 8 cm)

- 0 = Normal.  
1 = Lentidão leve e/ou redução da amplitude.  
2 = Alteração moderada. Fadiga clara e precoce. O movimento pode se deter ocasionalmente.  
3 = Alteração grave. Freqüente indecisão em iniciar o movimento ou paradas enquanto realiza o movimento.  
4 = Apenas realiza o exercício.

### 27) Levantar de uma cadeira (O paciente tenta levantar-se de uma cadeira de madeira ou metal de encosto vertical mantendo os braços cruzados sobre o tórax)

- 0 = Normal.  
1 = Lento ou necessita de mais de uma tentativa.  
2 = Levanta-se com apoio nos braços da cadeira.  
3 = Tende a cair para trás e pode tentar várias vezes ainda que se levante sem ajuda.  
4 = Não pode se levantar sem ajuda.

### 28) Postura

- 0 = Erguido normalmente.  
1 = Não totalmente erguido, levemente encurvado, pode ser normal em pessoas idosas.  
2 = Postura moderadamente encurvada, claramente anormal; pode estar inclinado ligeiramente para um lado.  
3 = Postura intensamente encurvada com cifose; pode estar inclinado moderadamente para um lado.  
4 = Flexão marcada com extrema alteração postural.

### 29) Marcha

- 0 = Normal.  
1 = A marcha é lenta, pode arrastar os pés e os passos podem ser curtos, mas não existe propulsão nem festinação.  
2 = Caminha com dificuldade, mas necessita pouca ou nenhuma ajuda; pode existir certa festinação, passos curtos ou propulsão.

3 = Grave transtorno da marcha que exige ajuda.  
4 = A marcha é impossível, ainda que com ajuda.

**30) Estabilidade postural (Observa-se a resposta a um deslocamento súbito para trás, provocado por um empurrão nos ombros, estando o paciente de pé com os olhos abertos e os pés ligeiramente separados. Avisar o paciente previamente)**

0 = Normal.  
1 = Retropulsão, ainda que se recupera sem ajuda.  
2 = Ausência de reflexo postural; poderia ter caído se o avaliador não impedisse.  
3 = Muito instável; tendência a perder o equilíbrio espontaneamente.  
4 = Incapaz de manter-se de pé sem ajuda.

**31) Bradicinesia e hipocinesia (Combinação de lentidão, indecisão, diminuição da oscilação dos braços, redução da amplitude dos movimentos e escassez de movimentos em geral)**

0 = Ausente.  
1 = Lentidão mínima, dando ao movimento um caráter decidido; poderia ser normal em algumas pessoas. Amplitude possivelmente reduzida.  
2 = Grau leve de lentidão e escassez de movimentos, evidentemente anormal. Pode haver diminuição da amplitude.  
3 = Lentidão moderada, pobreza de movimentos ou amplitude reduzida dos mesmos.  
4 = Lentidão marcada e pobreza de movimentos com amplitude reduzida dos mesmos.

#### IV. COMPLICAÇÕES DO TRATAMENTO

##### A. DISCINESIAS

**32) Duração: Qual a proporção do dia em que as discinesias estão presentes (Informações obtidas por história clínica)**

0 = Ausentes.  
1 = 1 a 25% do dia.  
2 = 26 a 50% do dia.  
3 = 51 a 75% do dia.  
4 = 76 a 100% do dia.

**33) Incapacidade: Qual o grau de incapacidade causado pelas discinesias? (Informação obtida pela história clínica, que pode se modificar durante o exame)**

0 = Não são incapacitantes.  
1 = Ligeiramente incapacitantes.  
2 = Moderadamente incapacitantes.  
3 = Gravemente incapacitantes.  
4 = Produzem incapacidade total.

**34) Discinesias dolorosas: Qual é a intensidade da dor?**

0 = Discinesia não dolorosa.  
1 = Leve.  
2 = Moderada.  
3 = Grave.  
4 = Intensa.

**35) Presença de distonia matinal (Informação obtida pela história clínica)**

1 = Não.  
2 = Sim.

##### B. FLUTUAÇÕES CLÍNICAS

**36) Aparecem períodos “off” de forma previsível depois de uma dose de medicamento?**

1 = Não.  
2 = Sim.

**37) Aparecem períodos “off” de forma imprevisível depois de uma dose de medicamento?**

1 = Não.  
2 = Sim.

**38) Aparecem períodos “off” subitamente, por exemplo em poucos segundos?**

1 = Não.  
2 = Sim.

**39) Que parte do dia o paciente passa em fase “off” em média?**

0 = Ausentes.  
1 = 1 a 25% do dia.  
2 = 26 a 50% do dia.  
3 = 51 a 75% do dia.  
4 = 76 a 100% do dia.

##### C. OUTRAS COMPLICAÇÕES

**40) O paciente sofre anorexia, náuseas ou vômitos?**

1 = Não.  
2 = Sim.

**41) O paciente sofre algum transtorno de sono, por exemplo insônia ou hipersonia?**

1 = Não.  
2 = Sim.

**42) O paciente tem sintomas de hipotensão postural?**

1 = Não.  
2 = Sim.

## V. ESTÁGIOS DE HOEHN E YAHR

0. Ausência de sinais patológicos.
  1. Alteração unilateral.
  - 1,5. Alteração unilateral com comprometimento axial.
  2. Alteração bilateral, sem déficit de equilíbrio.
  - 2,5. Alteração bilateral leve com recuperação na prova do empurrão (deslocamento).
  3. Alteração bilateral leve a moderada, certa instabilidade postural, fisicamente independente.
  4. Incapacidade grave, ainda capaz de caminhar ou permanecer de pé sem ajuda.
  5. Confinado a cama ou cadeira de rodas a não ser que receba ajuda.

## VI. ESCALA DE ATIVIDADES DE VIDA DIÁRIA DE SCHWAB E ENGLAND

100% Completamente independente. Capaz de realizar todas as atividades sem lentidão, dificuldade ou limitação. Praticamente normal. Não é consciente de nenhuma dificuldade.

90% Completamente independente. Capaz de realizar todas as atividades com certo grau de lentidão, dificuldade e limitação. Poderia necessitar um tempo duas vezes superior. Começa a ser consciente de suas limitações.

80% Completamente independente na maioria das tarefas. Requer um tempo duas vezes superior. Consciente de sua dificuldade e lentidão.

70% Não é completamente independente. Tem mais dificuldade em algumas tarefas. Para certas atividades requer um tempo de três a quatro vezes superior. Deve dedicar uma grande parte do dia às tarefas.

60% Certa dependência. Pode realizar a maioria das atividades ainda que muito lentamente e com grande esforço. Erros; algumas tarefas são impossíveis.

50% Maior dependência. Necessita de ajuda parcial, mais lento, etc. Dificuldade em todas as tarefas.

40% Muito dependente. Colabora na maior parte das atividades, mas realiza poucas sozinho.

30% Com esforço, às vezes realiza algumas tarefas sozinho ou as começa sozinho. Precisa de uma grande ajuda.

20% Não realiza nenhuma atividade sozinho. Pode ajudar ligeiramente em algumas atividades. Invalidez grave.

10% Totalmente dependente, inválido. Não consegue fazer nada.

0% As funções vegetativas do tipo deglutição, micção e defecação não se realizam normalmente. Permanece na cama.

**ESCALA DE AVALIAÇÃO UNIFICADA PARA A DOENÇA DE PARKINSON (UPDRS)**

<b>NOME:</b>					
<b>DATA:</b>					
	Dopa mg/dia	Duração:			
		ON	OFF	ON	OFF
<b>1</b>	Memória				
<b>2</b>	Alteração do pensamento				
<b>3</b>	Depressão				
<b>4</b>	Motivação/Iniciativa				
	<b>Subtotal 1-4 (máx = 16)</b>				
<b>5</b>	Fala				
<b>6</b>	Salivação				
<b>7</b>	Deglutição				
<b>8</b>	Escrita				
<b>9</b>	Cortar os alimentos				
<b>10</b>	Vestuário				
<b>11</b>	Higiene				
<b>12</b>	Virar-se na cama				
<b>13</b>	Quedas				
<b>14</b>	Congelação				
<b>15</b>	Marcha				
<b>16</b>	Tremor				
<b>17</b>	Sintomas sensitivos				
	<b>Subtotal 5-17 (max = 52)</b>				
<b>18</b>	Fala				
<b>19</b>	Expressão facial				
<b>20</b>	Tremor repouso: face				
	Mãos: <b>D</b>				
	<b>E</b>				
	Pés: <b>D</b>				
	<b>E</b>				
<b>21</b>	Tremor de ação: <b>D</b>				
	<b>E</b>				

22	Rigidez: pescoço				
	MS	<b>D</b>			
	E				
	MI	<b>D</b>			
	E				
23	Destreza digital	<b>D</b>			
	E				

24	Mov. das mãos	<b>D</b>			
	E				
25	Prono/supino	<b>D</b>			
	E				
26	Agilidade pernas	<b>D</b>			
		<b>E</b>			
27	Levantar-se cadeira				
28	Postura				
29	Estabilidade postural				
30	Marcha				
31	Bradicinesia				
	<b>Subtotal 18-31 (máx = 108)</b>				
	<b>Total: 1-31 (máx = 176)</b>				
32	Discinesias – duração				
33	Discinesias – incapacidades				
34	Discinesias – dor				
35	Distonia matinal				
36	“Off” previsíveis				
37	“Off” imprevisíveis				
38	“Off” súbitos				
39	“Off” duração				
40	Anorexia, náusea, vômito				
41	Alteração sono				
42	Sintomas ortostáticos				
	PA	sentado			
		supino			
		de pé			

	<b>Peso</b>				
	<b>FC</b>	sentado			
		de pé			
	<b>Examinador</b>				
	<b>Hoehn &amp; Yahr</b>				
	<b>% AVD</b>				
	<b>% AVD com discinesia</b>				

## ANEXO - 4

## PFS-16

Parkinson's Disease Fatigue Scale (PFS-16)

Paciente: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_

Está impressa abaixo uma série de afirmações sobre fadiga e o impacto que ela pode ter. Quão bem essas afirmações descrevem suas sensações e experiências nas últimas duas semanas? Leia cada item e decida o quanto que você concorda ou discorda delas. Marque a alternativa apropriada. Marque apenas uma alternativa para cada item e tente não deixar de marcar nenhuma.

	<i>Discordo muito</i>	<i>Discordo</i>	<i>Não concordo, nem discordo</i>	<i>Concordo</i>	<i>Concordo muito</i>
Eu tenho que descansar durante o dia	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Minha vida é limitada pela fadiga	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Eu fico cansado mais rapidamente que outras pessoas que eu conheço	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
A fadiga é um dos meus 3 piores sintomas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Eu me sinto completamente exausto	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
A fadiga me deixa relutante a me socializar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Demoro mais a terminar as coisas por causa da fadiga	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Eu tenho a sensação de peso	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Se eu não estivesse tão cansado eu poderia fazer mais coisas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Tudo que faço é um esforço	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Eu me sinto cansado a maior parte do tempo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Eu me sinto totalmente esgotado	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
A fadiga me traz dificuldade para lidar com as atividades diárias	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Eu me sinto cansado até quando eu não fiz nada	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Por causa da fadiga eu faço menos no meu dia do que eu gostaria de ter feito	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Eu fico tão cansado que eu quero me deitar onde quer que eu esteja	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

## ANEXO - 5

## INVENTÁRIO DE DEPRESSÃO DE BECK

Nome: \_\_\_\_\_

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

0. Não me sinto triste.
  1. Eu me sinto triste.
  2. Estou sempre triste e não consigo sair disto.
  3. Estou tão triste ou infeliz que não consigo suportar
0. Não estou especialmente desanimado quanto ao futuro.
  1. Eu me sinto desanimado quanto ao futuro.
  2. Acho que nada tenho a esperar.
  3. Acho o futuro sem esperança e tenho a impressão de que as coisas não podem melhorar.
0. Não me sinto um fracasso.
  1. Acho que fracassei mais do que uma pessoa comum.
  2. Quando olho para trás, na minha vida, tudo o que posso ver é um monte de fracassos.
  3. Acho que, como pessoa, sou um completo fracasso.
0. Tenho tanto prazer em tudo como antes.
  1. Não sinto mais prazer nas coisas como antes.
  2. Não encontro um prazer real em mais nada.
  3. Estou insatisfeito ou aborrecido com tudo.
0. Não me sinto especialmente culpado.
  1. Eu me sinto culpado grande parte do tempo.
  2. Eu me sinto culpado na maior parte do tempo.
  3. Eu me sinto sempre culpado.
0. Não acho que esteja sendo punido.
  1. Acho que posso ser punido.
  2. Creio que serei punido.
  3. Acho que estou sendo punido.
0. Não me sinto decepcionado comigo mesmo.
  1. Estou decepcionado comigo mesmo.
  2. Estou enjoado de mim.
  3. Eu me odeio.
0. Não me sinto, de qualquer modo, pior que os outros.
  1. Sou crítico em relação a mim por minhas fraquezas ou erros.
  2. Eu me culpo sempre por minhas falhas.
  3. Eu me odeio.
0. Não tenho qualquer idéia de me matar.
  1. Tenho idéias de me matar, mas não as executaria.
  2. Gostaria de me matar.
  3. Eu me mataria se tivesse oportunidade.
0. Não choro mais do que o habitual.
  1. Choro mais agora do que costumava.
  2. Agora, choro o tempo todo.
  3. Costumava ser capaz de chorar, mas agora não consigo, mesmo que o queira.
0. Não sou mais irritado agora do que já fui.
  1. Fico aborrecido ou irritado mais facilmente do que costumava.
  2. Atualmente me sinto irritado o tempo todo.
  3. Não me irrita mais com as coisas que costumavam me irritar.

0. Não perdi o interesse pelas outras pessoas.
  1. Estou menos interessado pelas outras pessoas do que costumava estar.
  2. Perdi a maior parte do meu interesse pelas outras pessoas.
  3. Perdi todo o meu interesse pelas outras pessoas.
- 
0. Tomo decisões tão bem quanto antes.
  1. Adio as tomadas de decisões mais do que costumava.
  2. Tenho mais dificuldade em tomar decisões do que antes.
  3. Não consigo mais tomar decisões.
- 
0. Não acho que minha aparência esteja pior do que costumava ser.
  1. Estou preocupado por estar parecendo velho ou sem atrativos.
  2. Acho que há mudanças permanentes na minha aparência que me fazem parecer sem atrativos.
  3. Acredito que pareço feio.
- 
0. Posso trabalhar tão bem quanto antes.
  1. Preciso de um esforço extra para fazer alguma coisa.
  2. Tenho que me esforçar muito para fazer alguma coisa.
  3. Não consigo mais fazer trabalho algum.
- 
0. Consigo dormir tão bem como o habitual.
  1. Não durmo tão bem quanto costumava.
  2. Acordo uma a duas horas mais cedo que habitualmente e tenho dificuldade em voltar a dormir.
  3. Acordo várias horas mais cedo do que costumava e não consigo voltar a dormir.
- 
0. Não fico mais cansado do que o habitual.
  1. Fico cansado com mais facilidade do que costumava.
  2. Sinto-me cansado ao fazer qualquer coisa.
  3. Estou cansado demais para fazer qualquer coisa.
- 
0. Meu apetite não está pior do que o habitual.
  1. Meu apetite não é tão bom quanto costumava ser.
  2. Meu apetite está muito pior agora.
  3. Não tenho mais nenhum apetite.
- 
0. Não tenho perdido muito peso, se é que perdi algum recentemente.
  1. Perdi mais de dois quilos e meio.
  2. Perdi mais de cinco quilos.
  3. Perdi mais de sete quilos.
- Estou tentando perder peso de propósito, comendo menos: Sim ( ) Não ( )
- 
0. Não estou mais preocupado com minha saúde do que o habitual.
  1. Estou preocupado com problemas físicos, tais como dores, indisposição do estômago ou prisão de ventre.
  2. Estou muito preocupado com problemas físico e é difícil pensar em outra coisa.
  3. Estou tão preocupado com meus problemas físicos que não consigo pensar em qualquer outra coisa.
- 
0. Não notei qualquer mudança recente no meu interesse por sexo.
  1. Estou menos interessado por sexo do que costumava estar.
  2. Estou muito menos interessado em sexo atualmente.
  3. Perdi completamente o interesse por sexo.

**Escore:**

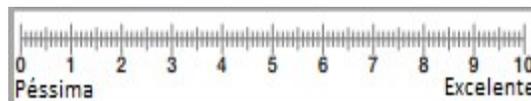
## ANEXO - 6

## Escala de Sono para Doença de Parkinson (PDSS)

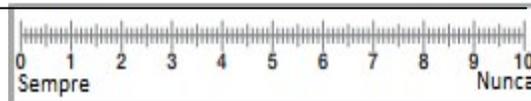
Nome: \_\_\_\_\_

Como você classificaria o que segue, baseado na sua experiência na última semana (coloque um X no local apropriado da linha)

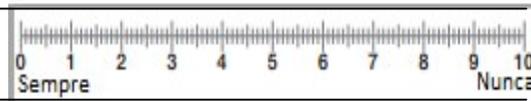
1. A qualidade total de seu sono noturno é:



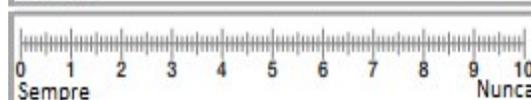
2. Você tem dificuldade em pegar no sono a cada noite?



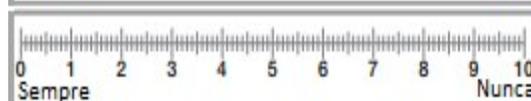
3. Você tem dificuldade em permanecer dormindo?



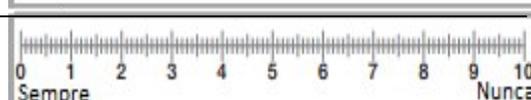
4. Você tem inquietude das pernas ou dos braços à tardinha ou à noite, causando interrupção do sono?



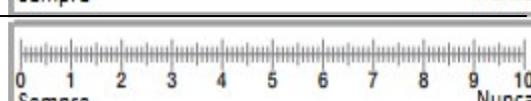
5. Você se remexe na cama?



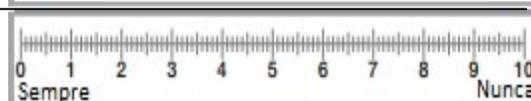
6. Você sofre de sonhos perturbadores à noite?



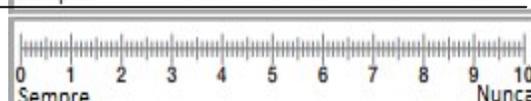
7. Você sofre de alucinação perturbadora à noite (vendo ou ouvindo coisas que lhe dizem não existirem)?



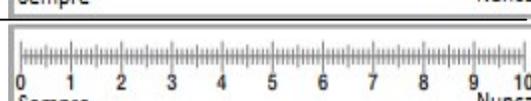
8. Você levanta à noite para urinar?



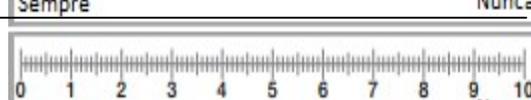
9. Você tem incontinência urinária porque fica incapaz de se mover, devido aos sintomas "off" (perda da ação dos remédios)?



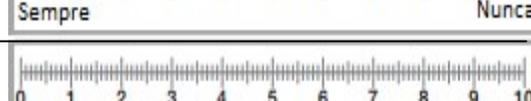
10. Você tem dormência ou formigamento nos braços ou pernas que lhe acordam à noite?



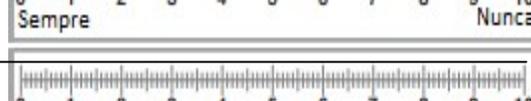
11. Você tem câibras musculares dolorosas em seus braços ou pernas enquanto dorme à noite?



12. Você acorda cedo de manhã numa posição dolorida de pernas e braços?



13. Você tem tremor quando acorda?



14. Você se sente cansado e sonolento após acordar de manhã?



15. Você já adormeceu inesperadamente durante o dia?



## ANEXO - 7

## Questionário de dor McGill

**McGill Pain Questionnaire – Português**

Nome \_\_\_\_\_ Data \_\_\_\_\_ Hora \_\_\_\_\_

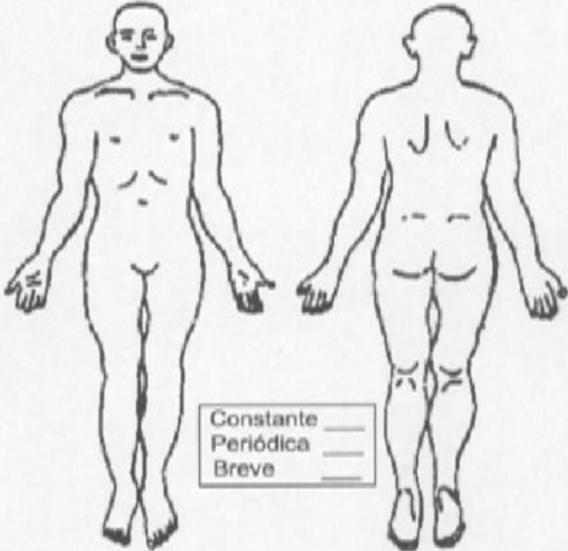
Analgésico(s) \_\_\_\_\_ Dosagem \_\_\_\_\_ Hora da Adm. \_\_\_\_\_

analgésico(s) \_\_\_\_\_ Dosagem \_\_\_\_\_ Hora da Adm. \_\_\_\_\_

Intervalo de Administração dos Analgésicos +4 +1 +2 +3

IAvD: S \_\_\_\_\_ Af \_\_\_\_\_ Av \_\_\_\_\_ M(S) \_\_\_\_\_ M(AfAv) \_\_\_\_\_ M(T) \_\_\_\_\_ PRI (T) \_\_\_\_\_

(1-10) (11-15) (16) (17-19) (20) (17-20) (1-20)

<p>1 Espasmódica _____</p> <p>Tremor _____</p> <p>Pulsátil _____</p> <p>Latejante _____</p> <p>Martelante _____</p>	<p>11 Cansativa _____</p> <p>Exaustiva _____</p> <p>12 Enjoativa _____</p> <p>Sufocante _____</p> <p>13 Amedrontadora _____</p> <p>Apavorante _____</p> <p>Aterrorizante _____</p>	<p>Intensidade Atual de Dor (IAD) _____</p> <p>Comentários:</p>
<p>2 Crescente _____</p> <p>Repentina _____</p> <p>Provocada _____</p>	<p>14 Castigante _____</p> <p>Debilitante _____</p> <p>Cruel _____</p> <p>Perversa _____</p> <p>Mortal _____</p>	
<p>3 Picada _____</p> <p>Agulhada _____</p> <p>Perfurante _____</p> <p>Punhalada _____</p> <p>Lancinante _____</p>	<p>15 Desgraçada _____</p> <p>Enlouquecedora _____</p> <p>16 Incômoda _____</p> <p>Perturbadora _____</p> <p>Desconforto _____</p> <p>Intensa _____</p> <p>Insuportável _____</p>	 <p>Constante _____</p> <p>Periódica _____</p> <p>Breve _____</p>
<p>4 Aguda _____</p> <p>Cortante _____</p> <p>Dilacerante _____</p>	<p>17 Difusa _____</p> <p>Irradiante _____</p> <p>Penetrante _____</p> <p>Que transpassa _____</p> <p>18 Aperto _____</p> <p>Dormente _____</p> <p>Estirante _____</p> <p>Esmagadora _____</p> <p>Demolidora _____</p>	
<p>5 Beliscante _____</p> <p>Pressionante _____</p> <p>Pinçante _____</p> <p>Câibra _____</p> <p>Esmagamento _____</p>	<p>19 Fresca _____</p> <p>Fria _____</p> <p>Congelante _____</p> <p>20 Importunante _____</p> <p>Nauseante _____</p> <p>Angustiante _____</p> <p>Desagradável _____</p> <p>Torturante _____</p>	<p>Sintomas que Acompanham:</p> <p>náusea _____</p> <p>Dor de cabeça _____</p> <p>Tontura _____</p> <p>Sonolência _____</p> <p>Constipação _____</p> <p>Diarréia _____</p> <p>Comentários: _____</p>
<p>6 Fisgada _____</p> <p>Puxão _____</p> <p>Distensão _____</p>	<p>IAD</p> <p>0 Sem dor _____</p> <p>1 Leve _____</p> <p>2 Desconfortante _____</p> <p>3 Angustiante _____</p> <p>4 Horrível _____</p> <p>5 Excruciante _____</p>	
<p>7 Quente _____</p> <p>Queimação _____</p> <p>Escaldante _____</p> <p>Queimadura _____</p>	<p>Comentários: _____</p>	<p>Ingestão de alimentos: Boa _____</p> <p>Alguma _____</p> <p>Pouca _____</p> <p>Nenhuma _____</p> <p>Comentários: _____</p>
<p>8 Formigamento _____</p> <p>Cocceira _____</p> <p>Ardência _____</p> <p>Ferroadada _____</p>	<p>Comentários: _____</p>	<p>Atividades: Boa _____</p> <p>Alguma _____</p> <p>Pouca _____</p> <p>Nenhuma _____</p>
<p>9 Insensibilidade _____</p> <p>Sensibilidade _____</p> <p>Que Machuca _____</p> <p>Dolorida _____</p> <p>Forte _____</p>	<p>Comentários: _____</p>	<p>Comentários: _____</p>
<p>10 Suave _____</p> <p>Tensão _____</p> <p>Esfolante _____</p> <p>Rompimento _____</p>	<p>Comentários: _____</p>	<p>Comentários: _____</p>

**ANEXO - 8**  
**Escala Visual Numérica**

