

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

Vivian Altmann

**INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO VAL66MET DO GENE DO FATOR
NEUROTRÓFICO DERIVADO DO CÉREBRO (BDNF) NO TRATAMENTO
DA DOENÇA DE PARKINSON**

Porto Alegre

2011

Vivian Altmann

**INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO VAL66MET DO GENE DO FATOR
NEUROTRÓFICO DERIVADO DO CÉREBRO (BDNF) NO TRATAMENTO
DA DOENÇA DE PARKINSON**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado ao Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Área de concentração: Genética

Orientador: Mara Helena Hutz

Porto Alegre

2011

SUMÁRIO

RESUMO.....	3
INTRODUÇÃO.....	5
TRABALHO EXPERIMENTAL (ARTIGO).....	13
Abstract	14
Introduction.....	15
Materials and Methods	17
Results.....	18
Discussion.....	19
Table	25
CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	27
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28

RESUMO

A doença de Parkinson (DP), a segunda doença neurodegenerativa mais freqüente e caracteriza-se pela degeneração de neurônios dopaminérgicos da *substantia nigra pars compacta* do estriado, que está relacionada com os sintomas da doença. A Levodopa é a medicação mais eficaz para o controle dos sintomas motores da doença de Parkinson. Entretanto, seu uso continuado, relacionado à plasticidade neuronal, pode provocar o surgimento de fenômenos indesejados, como a flutuação motora, a discinesia e a alucinação. O declínio cognitivo associado à DP é outro fator muito freqüente e também dificulta o manejo e prejudica a qualidade de vida dos pacientes.

O fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) é uma proteína altamente expressa no sistema nervoso central. O BDNF promove sobrevivência, diferenciação, manutenção dos neurônios e plasticidade sináptica estando incluídos os neurônios dopaminérgicos da *substantia nigra*. Um polimorfismo (G196A) na região codificadora deste gene determina a substituição de uma valina por uma metionina no códon 66 da proteína. O objetivo do presente estudo foi determinar a influência do polimorfismo Val66Met do gene BDNF na dose equivalente de levodopa utilizada por pacientes com doença de Parkinson, no desenvolvimento de declínio cognitivo e na ocorrência de discinesias, alucinações e flutuações motoras induzidas por esse medicamento.

Cento e setenta e dois pacientes em atendimento no Ambulatório de Distúrbios do Movimento no Hospital de Clínicas de Porto Alegre com

diagnóstico de doença de Parkinson idiopática foram incluídos no estudo. As amostras de DNA foram extraídas pelo método de *salting out*, a partir de sangue periférico. O polimorfismo foi amplificado pela técnica de PCR. Os produtos de amplificação foram clivados com *Eco72I* e visualizados por eletroforese em gel de agarose a 3,5% corado com brometo de etídio.

As frequências genótípicas foram AA (4,1%), AG (27,3%) e GG (68,6%). Os três genótipos não apresentaram efeito significativo quanto à dose equivalente, a presença de discinesias, alucinações e flutuações motoras. Porém os genótipos apresentaram uma tendência de associação ($P=0,05$) com declínio cognitivo na DP. Outras variantes do BDNF e outros genes podem estar envolvidos na ocorrência dos efeitos colaterais da levodopa.

INTRODUÇÃO

A doença de Parkinson (DP) é a segunda doença neurodegenerativa mais freqüente, ficando atrás apenas da doença de Alzheimer (Lang e Lozano, 1998). Cerca de 5 milhões de pessoas no mundo convivem com essa doença, com uma prevalência de 0-3% (de Lau e Breteler, 2006). Essa doença é progressiva e acomete cerca de 1% da população acima de 65 anos (Lang e Lozano, 1998). Sua incidência e prevalência aumentam com o aumento da idade. No Brasil, um estudo de base populacional identificou uma prevalência de 3,3% para a doença de Parkinson entre maiores de 60 anos (Barbosa et al., 2006). A etiologia dessa doença não é totalmente conhecida, mas cada vez mais evidências sugerem que a DP seja multifatorial, ocorrendo devido a fatores de risco ambientais e genéticos. (Dauer e Przedborski, 2003). Aproximadamente 5-10% dos casos de DP são de causa familiar com um padrão autossômico dominante (Olanow e Tatton, 1999).

A doença foi descrita inicialmente por James Parkinson, em 1817, e até hoje é somente diagnosticada clinicamente, caracterizando-se por sintomas de bradicinesia, tremor de repouso, instabilidade postural e rigidez muscular (Dauer e Przedborski, 2003). Essas alterações costumam ser assimétricas e apresentam caráter progressivo, com tempo de evolução de 10 anos ou mais (Hughes et al., 1992).

A doença de Parkinson caracteriza-se pela degeneração de neurônios dopaminérgicos da *substantia nigra pars compacta* do estriado. A diminuição da concentração de dopamina está relacionada aos sintomas motores da doença

(Dauer e Przedborski, 2003). Ao nível celular ocorre um acúmulo de inclusões citoplasmáticas protéicas eosinofílicas chamadas de “Corpúsculos de Lewy”. Essas inclusões são formadas por acúmulo de material protéico de diversas origens, predominando a alfa-sinucleína. O diagnóstico definitivo da doença só é dado com o exame do cérebro *post-mortem*, onde será encontrada degeneração da *pars compacta* da substância negra (Dauer e Przedborski, 2003).

Acredita-se que a degeneração nigral se inicia 6-8 anos antes dos sintomas clínicos. No momento do diagnóstico, a patologia da doença de Parkinson já se encontra estabelecida e os pacientes apresentam 50-60% de perda neuronal e 70-80% de depleção dopaminérgica. Essa latência entre o início da patologia e o da manifestação clínica pode se dever ao fato de que haja uma redundância das vias dopaminérgicas e mecanismos de compensação que mantêm a função dos núcleos da base estável por vários anos (Schapira e Obeso, 2006).

O tratamento da DP é feito pela reposição farmacológica do neurotransmissor dopamina, a partir de seu precursor, a levodopa. A levodopa é a principal medicação para o controle dos sintomas motores. Ela passa a barreira hematoencefálica e é convertida a dopamina nos neurônios da *substantia nigra*. Os efeitos adversos agudos da levodopa são náusea, vômitos e hipotensão postural, e deve-se a sua conversão periférica para dopamina, através da enzima dopa-decarboxilase. Por essa razão, a levodopa é administrada juntamente com inibidores dessa enzima, que inibe a degradação periférica da droga e reduz a intolerância gastrointestinal, assim permitindo a

entrada da levodopa em maior concentração no cérebro (Kostrzewa et al., 2005). A absorção da levodopa dá-se por transporte ativo no intestino delgado, pela mesma rota dos aminoácidos neutros, como leucina, valina e fenilalanina. Por esse motivo, a ingestão concomitante de alimentos ricos nessas substâncias compete pelo mesmo transportador e pode diminuir a absorção da levodopa (Nutt et al., 1984).

No início do tratamento essa medicação se mostra extremamente eficaz, reduzindo os sintomas da doença. Entretanto, o uso continuado da levodopa pode provocar o surgimento de fenômenos indesejados, como a flutuação motora, a discinesia e a alucinação. Esses efeitos colaterais surgem em torno de metade dos pacientes após cinco anos de uso de medicação. Eles dificultam o manejo terapêutico e prejudicam a qualidade de vida dos pacientes. A ocorrência desses efeitos adversos é um desafio ao médico assistente, uma vez que este deverá lançar mão do uso de doses maiores de levodopa, de esquemas posológicos com doses fracionadas e, eventualmente, do uso de outras medicações (Ferraz, 1999).

O desenvolvimento das discinesias, induzidas pela levodopa ocorre em aproximadamente 40% dos pacientes depois de 4-6 anos de medicação, o que representa um grande problema, pois o tratamento com essa medicação é geralmente de longo prazo (Ahlskog e Muentner, 2001). Algumas pessoas apresentam discinesias severas muito rapidamente, enquanto outras não as apresentam apesar de anos de tratamento. A etiologia da discinesia não está totalmente compreendida (Linazasoro, 2005). Estudos sugerem que a susceptibilidade a discinesia induzida por levodopa é determinada pelo

potencial de plasticidade do cérebro (Cenci et al., 2009). De acordo com essa idéia, a discinesia é uma imagem aberrante da neuroplasticidade, determinada pela idade e por fatores genéticos, que é desencadeada pela combinação da denervação dopaminérgica e da medicação (Linazasoro , 2005).

Flutuação motora é definida como a alternância entre dois estados distintos da resposta motora à levodopa na doença de Parkinson. No estado “on”, o paciente apresenta boa resposta à medicação, com controle do tremor, da rigidez e da bradicinesia. O estado “off” é quando não há efeito da medicação. Esses estados podem ser imprevisíveis e iniciar de maneira abrupta (Fox e Lang, 2008). Em estado fisiológico, a substância negra apresenta um estímulo dopaminérgico contínuo sobre o estriado e outras estruturas cerebrais. No paciente em uso de levodopa, há uma estimulação pulsátil dessas áreas, o que leva a uma reorganização plástica e funcional dos circuitos nigroestriatais, o que pode explicar o surgimento das flutuações (Nutt et al., 2002).

Alucinação visual é outra complicação frequente que prejudica muito a qualidade de vida dos pacientes. Ela acomete cerca de um terço dos pacientes em uso de terapia dopaminérgica no curso da doença (Celesia e Barr, 1970). O mecanismo neuroquímico responsável pelo surgimento dessa complicação é desconhecido. Alguns fatores de risco associados a essa complicação, como comprometimento cognitivo, duração e gravidade da doença já foram descritos. O tratamento com levodopa parece ser determinante para o surgimento dessa complicação (Sanchez-Ramos et al., 1996; Papapetropoulos et al., 2005).

Com o progresso da DP, outras complicações não-motoras podem ocorrer, como alterações cognitivas, que podem progredir ao longo do tempo.

Dentre as alterações cognitivas, a demência associada à DP, é a mais grave manifestação e é muito comum. Estima-se que sua ocorrência em pacientes com DP é de 27% até 78% e ainda tem seis vezes mais risco de desenvolver demência, comparando com indivíduos normais (Aarsland et al., 2003; Aarsland et al., 2005). A demência na doença de Parkinson está associada com a gravidade do comprometimento motor. Com isso, se infere que mecanismos comuns são responsáveis pelas alterações cognitivas na DP (Melo et al., 2007).

O conceito de plasticidade cerebral se refere à capacidade do cérebro de se reorganizar em resposta a um estímulo interno ou externo. Ao nível celular, a plasticidade envolve modificações funcionais e estruturais das sinapses, neurônios e outras células (Cenci et al., 2009). O potencial de plasticidade do cérebro varia entre os indivíduos, sendo dependente da idade e da genética. O entendimento de efeitos agudos e crônicos da levodopa vem crescendo bastante recentemente. A levodopa administrada de uma maneira pulsátil e não-fisiológica pode resultar eventualmente em remodelamento de contato entre neurônios e de vias, produzindo mudanças (Linazasoro, 2005). Um número grande de estudos mostra efetivamente que a levodopa promove a plasticidade cerebral (Cenci et al., 2009). Adicionalmente, muitas evidências mostram o envolvimento de neurotrofinas na plasticidade cerebral (Thoenen, 1995).

A família das neurotrofinas é formada pelo fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) juntamente com o fator de crescimento neuronal (NGF), a neurotrofina-3 (NT-3) e a neurotrofina-4 (NT-4). Essa família consiste de várias proteínas relacionadas estruturalmente e funcionalmente e possuem papel na

diferenciação e sobrevivência de neurônios (Knüsel et al., 1991). As neurotrofinas ao serem inicialmente sintetizadas são chamadas de pro-neurotrofinas e se ligam preferencialmente a receptores transmembrana p75^{NTR}. Uma vez passando pelo processo de clivagem, as pro-neurotrofinas são chamadas de neurotrofinas maduras, que se ligam aos receptores da família tirosina quinase (Trk). Estudos recentes mostram que as pro-neurotrofinas tem efeitos biológicos diferentes das neurotrofinas maduras (Lu et al., 2005).

O fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) foi descoberto em 1982 por Barde et al. O gene do BDNF possui aproximadamente 70kb, consiste de 11 éxons, e está localizado no cromossomo 11p14 (Pruunsild et al., 2007). O BDNF é altamente expresso no sistema nervoso central (Murer et al., 2001).

Esse fator neurotrófico, juntamente com o seu precursor, o proBDNF, são reconhecidos pela função de modular a transmissão sináptica, regulando a sinaptogênese e a plasticidade sináptica (Foltynie et al., 2008; Waterhouse and Xu 2009). A proteína do BDNF interage com uma proteína de membrana tirosina quinase (TrkB), ativando uma cascata de sinalização, que promove a sobrevivência, diferenciação e manutenção dos neurônios, estando incluídos os neurônios dopaminérgicos da *substantia nigra* (Murer et al., 2001; Baydyuk et al., 2011; Altar et al., 1992). Em um estudo em ratos tratados com MPTP, que é uma neurotoxina que causa sintomas da doença de Parkinson em modelos animais, destruindo neurônios dopaminérgicos da *substantia nigra*, se verificou uma maior proteção de neurônios dopaminérgicos em resposta a neurotoxina, quando em contato com fibroblastos que produziam BDNF em relação ao

controle (Levivier et al., 1995). O mesmo se verificou em neurônios de macacos modelo para DP (Tsukahara et al., 1995). Esses achados sugerem que o BDNF poderia ser um bom alvo para o desenvolvimento de um novo medicamento para DP. Além disso, estudos *post-mortem* mostram uma reduzida expressão da proteína do BDNF e de seu RNAm na *substantia nigra* de pacientes com DP em relação a indivíduos não portadores da doença, sugerindo uma relação do BDNF com a sobrevivência dos neurônios dopaminérgicos (Parain et al., 1999, Mogi et al., 1999).

Segundo Murer et al., (2001) a possibilidade que a reduzida expressão de BDNF na doença de Parkinson seja uma consequência de uma terapia crônica com levodopa não é descartada, mas também não é confirmada. A levodopa, por outro lado, foi relacionada com um maior aumento da expressão de RNAm no estriado de ratos em outros estudos (Okazawa et al., 1992; Zhang et al., 2006).

Um polimorfismo (G196A) na região codificadora do gene do BDNF, determina a substituição uma valina por uma metionina no códon 66 da proteína. Esse polimorfismo Val66Met (rs6265) foi previamente associado à secreção atividade-dependente e ao transporte intracelular e extracelular da proteína (Egan et al., 2003; Chen et al., 2004).

Embora esse polimorfismo não esteja associado com a patogênese da doença de Parkinson (Zintzaras e Hadjigeorgiou, 2005), sabe-se que essa variante funciona como moduladora de várias vias implicadas no desenvolvimento de discinesias induzidas por levodopa (Foltynie et al., 2009).

Além disso, está relacionada com déficit cognitivo em amostra de pacientes italianos com doença de Parkinson (Guerini et al., 2009).

Poucos estudos investigaram a influencia do polimorfismo Val66Met (rs6265) com a doença de Parkinson. Os objetivos do presente estudo foram:

- 1- Avaliar a associação do polimorfismo Val66Met do gene BDNF com a dose de levodopa utilizada por pacientes com doença de Parkinson.
- 2- Determinar se esse polimorfismo influencia no desenvolvimento de efeitos adversos dessa medicação

TRABALHO EXPERIMENTAL (Artigo)

Periódico científico escolhido: Genetics and Molecular Biology

Influence of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) val66met polymorphism in Parkinson's disease treatment.

Altmann, V¹; Schuh, AS^{1,2}; Rieck, M¹; Monte, TL²; Rieder, CRM²; Hutz, MH¹.

¹Laboratório de Genética Humana, Departamento de Genética, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

²Serviço de Neurologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil.

Short running title: BDNF and Parkinson's disease

Correspondence to:

Prof. Mara H. Hutz

Departamento de Genética, Instituto de Biociências, UFRGS.

Caixa Postal 15053

91501-970 – Porto Alegre, RS, Brazil.

Phone:55-51-3308-6720

E-mail: mara.hutz@ufrgs.br

Abstract

Chronic levodopa treatment may develop complications like dyskinesias, hallucinations and motor fluctuations in Parkinson's disease patients. Dementia is also an important and frequent consequence of the disease late manifestations.

The brain-derived neurotrophic factor (BDNF) is known to promote the survival, differentiation, maintenance and plasticity of neurons, including *substantia nigra* dopamine neurons. In this study, we determined the influence of a functional polymorphism (Val66Met) in levodopa's side effects.

A hundred and seventy two patients were recruited and genotyped. The genotype frequencies were Met/Met (4.1%), Val/Met (27.3%) and Val/Val (68.6%). Neither, age of onset, equivalent dose, development of dementia, dyskinesias, hallucinations nor motor fluctuations differs significantly among the three BDNF genotype groups. In conclusion, this study did not demonstrate any association between BDNF Val66Met and Parkinson's disease in this southern Brazilian sample.

Keywords: BDNF, Parkinson's disease, Val66Met, levodopa.

Introduction

Parkinson's disease is the second most common neurodegenerative disease after Alzheimer's disease (Lang and Lozano, 1998). Levodopa is the most effective medication to control the motor symptoms. However, this medication may develop complications like dyskinesias, hallucinations and motor fluctuations in patients, which impair their quality of daily life (Ferraz, 1999). Levodopa-induced dyskinesias seems to be a consequence of aberrant neuroplasticity in corticostriatal synapses in response to pulsatile and non-physiological dopaminergic treatment (Foltynie et.al., 2009; Linazasoro, 2005). Other complications, like hallucinations and motor fluctuations are also considered as a drug-induced adverse effect levodopa (Papapetropoulos et al., 2005; Nutt et al., 2002). These adverse effects are responsible for patient's low quality of life.

A common non-motor symptom of PD is dementia that occurs in 27% to 78% of PD's patients. These patients have been shown to have a 6-fold risk of developing dementia compared with those without PD (Aarsland et al., 2003; Aarsland et al., 2005). Besides, levodopa administration appeared to improve cognitive impairment in PD patients (Melo et al., 2007).

The brain-derived neurotrophic factor (BDNF) is a small dimeric protein first discovered in 1982 which is highly expressed in the nervous system (Barde et al., 1982; Murer *et al.*, 2001). BDNF promotes the survival, differentiation, maintenance and plasticity of neurons, including dopamine neurons of *substantia nigra* (Baydyuk et al., 2011; Foltynie et al., 2008; Murer et al., 2001).

In Postmortem brain studies, the expression of BDNF protein and its mRNA is reduced in nigral neurons in Parkinson's disease (Parain et al., 1999; Mogi et al., 1999). However, studies in mice, found that the expression of BDNF mRNA is up-regulated with levodopa treatment (Okazawa ET al, 1992; Zhang ET al., 2006).

A polymorphism (G196A), leading to a valine to a metionine substitution at codon 66 of the protein (Val66Met), has been associated with allele differential activity-dependent secretion of BDNF (Egan et al., 2003; Chen et al., 2004). According to this mechanism, BDNF Val66Met plays a role in human memory and hippocampal function (Egan et al., 2003).

The Val66Met has been reported to be associated with schizophrenia, mood disorders, memory deficits and altered hippocampal function (Egan et al., 2003; Nagahara and Tuszynski et al., 2011).

However few studies have investigated this polymorphism with controversial results in PD pathogenesis (Zintzaras and Hadjigeorgiou, 2005). The met allele has been associated with time of onset of dyskinesias in patients from United Kingdom (Foltynie et al., 2008). The genotype met/met was also associated with cognitive impairment in Italians patients (Guerini et al., 2009).

The aim of the current study is to determine a possible role for the Val66Met polymorphism in levodopa equivalent dose, development of dementia and the occurrence of dyskinesias, hallucinations and motor fluctuations induced by levodopa in PD patients.

Materials and Methods

Patients were assessed in the “Ambulatório de Distúrbios do Movimento” at “Hospital de Clínicas” from Porto Alegre. Only patients according to the UK Parkinson’s disease Society Brain Bank criteria for diagnosis of idiopathic PD and with age of onset after 45 years were included in this study. The following demographic and clinical variables were recorded in all patients: age, gender, age of onset, equivalent levodopa dose, presence of dyskinesias, motor fluctuations and hallucination were evaluated. Current disability was measured by Schwab & England Activities of Daily Living scale (SEADL). Cognitive performances were measured by the Mini Mental State Examination (MMSE). The MMSE score was categorized based on cut-off values from a study performed with a southern Brazilian sample (Kochhann et al, 2010). The cut-off values were 21 for illiterates, 22 for lower education (1-5 years), 23 for middle education (6-11 years) and 24 for higher education (>12 years). This criteria suggests cognitive decline in patients. All patients were in dopaminergic treatment (dopamine/carbidopa or dopamine/benserazide).

Genomic DNA was isolated from peripheral blood using a salting out protocol (Lahiri e Nurnberger, 1991). The Val66Met SNP was amplified as previously described (Pereira et al, 2002). The PCR products were digested with *Eco72I* and visualized in 3.5% agarose gel containing ethidium bromide. The Met allele has 113pb and is not digested, whereas the Val allele is digested producing two fragments: 78pb and 35pb.

All statistical analysis was performed using SPSS v.18.0. Demographic and clinical variables were compared across genotypic groups using one-way analysis of variance (ANOVA) for continuous variables and Chi-Square, or the Fisher's exact test when necessary, for categorical variables. The criterion for significance was set at $P < 0.05$ for all of the tests.

Results

A total of 172 patients were included in this study, 87 male and 85 female, mean age 69.84 range 47-89.

Patients mean age of was 69.84 ± 9.22 and presented a mean SEADL of 71.39 ± 24.44 . 50.9% of patients were male and 49.1% were female. The genotype frequencies were Met/Met (4.1%), Val/Met (27.3%) and Val/Val (68.6%). No deviation from the Hardy-Weinberg equilibrium was observed. The demographics and statistical comparison of patients by genotype is presented in Table 1. The number of individuals in each test was variable due to absence of information and data.

Fifty per cent of the patients had dementia according to the MMSE score. The MMSE score between genotype groups presented a borderline significance ($P=0.054$). Neither, gender, equivalent dose, SEADL, dyskinesias, hallucinations nor motor fluctuations differ significantly among the three BDNF genotype groups.

Discussion

Although BDNF Val66Met is a functional variant and has been associated with allele differential activity-dependent secretion of BDNF (Egan et al., 2003), and it seems to be related to damage prevention of *substantia nigra* dopaminergic neurons (Tsukahara ET al., 1995), no consistent results about the interference of levodopa with the BDNF protein have been published. The current investigation showed a lack of association between BDNF Val66Met polymorphism and levodopa-induced side effects, and equivalent dose. In an *in vivo* study, it was found that levodopa increases the expression of BDNF mRNA in the striatum of healthy mice, suggesting an upregulation of protein BDNF (Okazawa et al., 1992). Effects on expression of BDNF on different doses of levodopa would be an interesting approach.

An association between BDNF Val66Met polymorphism time of onset of dyskinesias was reported in the United Kingdom. In that study, met allele carriers developed earlier dyskinesias. They hypothesized that BDNF levels are influenced by genotype and that Val allele carriers were able to potentiate and depotentiate corticostriatal synapses more effectively than Met carriers, leading to the development of dyskinesias (Foltynie et al., 2008).

Guerini et al (2009) reported an association between BDNF (AA) genotype and a sixfold risk of cognitive impairment in Italian patients. Although non-significant the present study showed similar results when the three genotypes were compared. Non-significance probably was due to sample size or differences in MMSE cut-offs, therefore new studies with larger sample sizes with this and other BDNF variants are warranted.

Acknowledgments

The research was supported by grants from “Financiadora de Estudos e Projetos” (FINEP 01.08.01230.00) and “Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico” (CNPq).

References

- Aarsland D, Andersen K, Larsen JP, Lolk A, Kragh-Sorensen P (2003) Prevalence and characteristics of dementia in Parkinson's disease. *Arch Neurol.* 60:387–392.
- Aarsland D, Zaccai J, Brayne C (2005) A systematic review of prevalence studies of dementia in Parkinson's disease. *Mov Disord.* 10:1255–1263.
- Baydyuk M, Nguyen MT, Xu B (2011) Chronic deprivation of TrkB signaling leads to a selective late-onset nigrostriatal dopaminergic degeneration. *Experimental Neurology* 228: 118-125.
- Chen Z, Patel PD, Sant G, Meng C, Teng KK, Hempstead BL, Lee FS (2004) Variant brain-derived neurotrophic factor (BDNF) (Met66) alters the intracellular trafficking and activity-dependent secretion of wild-type BDNF in neurosecretory cells and cortical neurons. *The Journal of Neuroscience* 24(18): 4401-4411.
- Egan M, Kojima M, Callicott J, Goldberg T, Kolachana B, Bertolino A, Zaitsev E, Gold B, Goldman D, Dean M, Lu B, Weinberger D (2003) The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. *Cell* 112: 257-269.
- Ferraz HB (1999) Tratamento da doença de Parkinson. *Rev Neurociências* 7(1):6-12.
- Foltynie T, Cheeran B, Williams-Gray CH, Edwards MJ, Schneider SA, Weinberger D, Rothwell JC, Barker RA, Bhatia KP (2008) BDNF val66met influences time to onset of levodopa induced dyskinesia in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 80: 141-144.

- Guerini FR, Beghi E, Riboldazzi G, Zangaglia R, Pianezzola C, Bonoe G, Casali C, Di Lorenzo C, Agliardi C, Nappig G, Clerici M and Martignoni E (2009) BDNF Val66Met polymorphism is associated with cognitive impairment in Italian patients with Parkinson's disease. *European Journal of Neurology* 16: 1240–1245.
- Kochhann R, Varela JS, Lisboa CSM, Chaves MLF (2010) The Mini Mental State Examination Review of cutoff points adjusted for schooling in a large Southern Brazilian sample. *Dement Neuropsychol* 4(1): 35-41.
- Lahiri DK, Nurnberger JI (1991) A rapid nonenzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucl Ac Res* 19:5444.
- Lang AE, Lozano AM (1998) Parkinson's disease. First of two parts. *N. Engl. J. Med.* 339: 1044-1053.
- Linazasoro, G. (2005) New ideas on the origin of L-dopa-induced dyskinesias: age, genes and neural plasticity. *Pharmacological Sciences* 2: 391-397.
- Melo LM, Barbosa ER, Caramelli P (2007) Cognitive impairment and dementia in Parkinson's Disease: clinical characteristics and treatment. *Rev. Psiqu. Clín* 34(4): 176-183.
- Mogi M, Togari A, Kondo T, Mizuno Y, Komure O, Kuno S, Ichinose H, Nagatsu T (1999) Brain-derived growth factor and nerve growth factor concentrations are decreased in the substantia nigra in Parkinson's disease. *Neuroscience Letters* 270: 45-48.
- Murer M G., Yanb Q., Raisman-Vozari R. (2001) Brain-derived neurotrophic factor in the control human brain, and in Alzheimer disease and Parkinson's disease. *Progress in Neurobiology* 63: 71-124.

- Nagahara AH, Tuszynski MH (2011) Potential therapeutic uses of BDNF in neurological and psychiatric disorders. *Nat Rev Drug Discov.* 10(3):209-19.
- Nutt JG, Carter JH, Lea ES, and Sexton GJ (2002) Evolution of the response to levodopa during the first 4 years of therapy. *Annals of Neurology* 51(6): 686-693.
- Okazawa H, Murata M, Watanabe M, Kamei M, Kanazawa I (1992) Dopaminergic stimulation up-regulates the in vivo expression of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in the striatum. *FEBS Lett* 313: 138-142.
- Papapetropoulos S, Argyriou AA, Ellul J (2005) Factors associated with drug-induced visual hallucinations in Parkinson's disease *Journal of Neurology* 252(10): 1223-1228.
- Parain K, Murer MG, Yan Q, Faucheux B, Agid Y, Hirsch E, Raisman-Vozari R (1999) Reduced expression of brain-derived neurotrophic factor protein in Parkinson's disease substantia nigra. *NeuroReport* 10: 557-561.
- Pereira MN, Muglia P, King N, Macciardi F, Kennedy JL (2002) The Brain-Derived Neurotrophic Factor Gene Confers Susceptibility to Bipolar Disorder: Evidence from a Family-Based Association Study *Am. J. Hum. Genet.* 71: 651-655.
- Prunnsild P, Kazantseva A, Aid T, Palm K, Timmusk T (2007) Dissecting the human BDNF locus: Bidirectional transcription, complex splicing, and multiple promoters. *Genomics* 90: 397-406.
- Tsukahara T, Takeda M, Shimohama S, Ohara O, Hashimoto N (1995) Effects of brain-derived neurotrophic factor on 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-

tetrahydropyridine-induced parkinsonism in monkeys. *Neurosurgery* 37:733-739.

Zintzaras E, Hadjigeorgiou G M, 2005. The role of G196A polymorphism in the brain-derived neurotrophic factor gene in the cause of Parkinson's disease: a meta-analysis. *J. Hum. Genet.* 50: 560-566.

Zhang X, Andren PE, Svenningsson P (2006) Repeated l-DOPA treatment increases c-fos and BDNF mRNAs in the subthalamic nucleus in the 6-OHDA rat model of Parkinson's disease. *Brain Res.* 1095(1):207-10.

Table

Table 1 – Demographics and statistical comparison of patients by genotype

	N	Codominant model			χ^2 /ANOVA ¹	Dominant model		χ^2 /ANOVA ²
		AA	AG	GG		AA+AG	GG	
Gender (M/F)	172	7(5/2)	47(27/20)	118 (55/63)	P=0.249	54 (32/22)	118 (55/63)	P=0.124
Age of onset (years)	172	63.29	62.91	60.60	P=0.331	62.96	60.60	P=0.137
Equivalent L-dopa dose (mg)	165	619.79	778.92	729.72	P=0.587	757.91	729.72	P=0.914
Dyskinesia	166	2	15	43	P=0.763	17	43	P=0.124
Hallucination	166	2	12	28	P=0.965	14	28	P=0.821
Motor Fluctuations	166	4	31	78	P=0.789	35	35	P=0.700
MMSE	140	1/6	23/35	47/99	P=0.054	24/41	47/99	P=0.234
Schwab & England (0-100)	163	77.86	67.44	72.34	P=0.410	68.85	72.34	P=0.400

BDNF, Brain-derived neurotrophic factor; L-dopa, levodopa; MMSE, Mini Mental State Examination; M, male; F, female.

¹Comparison among the three genotype groups.

² Comparison among the two groups.

Dyskinesia, Hallucination e Motor Fluctuations were classified by its presence.

Values are mean (range) or number.

One-way analysis of variance (ANOVA) was used for continuous variables and Chi-Square, or the Fisher's exact test, for categorical variables.

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

A doença de Parkinson é uma doença extremamente complexa, provavelmente multifatorial, que envolve o envelhecimento, fatores ambientais e genéticos. Ela possui um tratamento medicamentoso sintomático eficaz a curto e a longo prazo. Porém, esse tratamento a longo prazo provoca efeitos colaterais que prejudicam a qualidade de vida dos pacientes.

Os efeitos colaterais a longo prazo estudados, como a presença de discinesias, flutuações motoras e alucinações são considerados os principais. Embora os efeitos colaterais sejam muito estudados, a patogênese dos efeitos colaterais da levodopa ainda permanece um enigma.

A proteína do BDNF possui uma função importante e vários estudos a relacionaram de forma positiva para a doença de Parkinson. Um tratamento por essa neurotrofina ou por ativadores de seu receptor já está também sendo pesquisado.

Este estudo mostrou ausência de associação do polimorfismo Val66Met do gene BDNF com os efeitos colaterais e com a dose de levodopa.

Futuramente, as análises podem ser refeitas para maior tamanho amostral. Outros polimorfismos nesse gene poderiam estar associados com os efeitos induzidos pela levodopa e poderão ser futuramente estudados. Além disso, esses efeitos podem estar relacionados a outros genes, o que ainda precisa ser elucidado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aarsland D, Andersen K, Larsen JP, Lolk A, Kragh-Sorensen P (2003) Prevalence and characteristics of dementia in Parkinson's disease. *Arch Neurol.* 60:387–392.
- Aarsland D, Zaccai J, Brayne C (2005) A systematic review of prevalence studies of dementia in Parkinson's disease. *Mov Disord.* 10:1255–1263.
- Ahlskog JE, Muenter MD (2001) Frequency of levodopa-related dyskinesias and motor fluctuations as estimated from the cumulative literature. *Mov. Disord* 16: 448-58.
- Altar CA , Boylan CB, Jackson C, Hershenon S, Miller J, Wiegand SJ, Lindsay RM, Hyman C (1992) Brain-derived neurotrophic factor augments rotational behavior and nigrostriatal dopamine turnover in vivo. *Proc Natl Acad Sci* 89: 11347-11351.
- Barbosa MT, Caramelli P, Maia DP, Cunningham MCQ, Guerra HL, Lima-Costa MF, Cardoso F (2006) Parkinsonism and Parkinson's disease in the elderly: a community-based survey in Brazil (the Bambuí study). *Movement Disorders* 21(6): 800-808.
- Baydyuk M, Nguyen MT, Xu B (2011) Chronic deprivation of TrkB signaling leads to a selective late-onset nigrostriatal dopaminergic degeneration. *Experimental Neurology* 228: 118-125.
- Celesia GG, Barr AN (1970) Psychosis and other psychiatric manifestations of levodopa therapy. *Archives of Neurology* 23(3): 193-200.

- Cenci MA, Ohlin KE, Rylander D (2009) Plastic effects of L-dopa treatment in the basal ganglia and their relevance to the development of dyskinesia. *Parkinsonism and Related Disorders* 15(3), 559-563.
- Chen Z, Patel PD, Sant G, Meng C, Teng KK, Hempstead BL, Lee FS (2004) Variant brain-derived neurotrophic factor (BDNF) (Met66) alters the intracellular trafficking and activity-dependent secretion of wild-type BDNF in neurosecretory cells and cortical neurons. *The Journal of Neuroscience* 24(18): 4401-4411.
- Dauer W, Przedborski S (2003) Parkinson's Disease: Mechanisms and Models. *Neuron* 39: 889-909.
- Egan M, Kojima M, Callicott J, Goldberg T, Kolachana B, Bertolino A, Zaitsev E, Gold B, Goldman D, Dean M, Lu B, Weinberger D (2003) The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. *Cell* 112: 257-269.
- Ferraz HB (1999) Tratamento da doença de Parkinson. *Rev Neurociências* 7(1):6-12.
- Foltynie T, Cheeran B, Williams-Gray CH, Edwards MJ, Schneider SA, Weinberger D, Rothwell JC, Barker RA, Bhatia KP (2010) BDNF val66met influences time to onset of levodopa induced dyskinesia in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 80: 141-144.
- Fox SH, Lang AE (2008) Levodopa-related motor complications-phenomenology. *Movement Disorders* 23 (3): 509-514.
- Guerini FR, Beghi E, Riboldazzi G, Zangaglia R, Pianezzola C, Bonoe G, Casali C, Di Lorenzo C, Agliardi C, Nappig G, Clerici M and Martignoni E

- (2009) BDNF Val66Met polymorphism is associated with cognitive impairment in Italian patients with Parkinson's disease. *European Journal of Neurology* 16: 1240–1245.
- Hughes AJ, Daniel SE, Kilford L, Lees AJ (1992) Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: a clinico-pathological study of 100 cases. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 55(3): 181-184.
- Knüsel B, Winslow JW, Rosenthal A, Burton LE, Seid DP, Nikolics K, Hefti F (1991) Promotion of central cholinergic and dopaminergic neuron differentiation by brain-derived neurotrophic factor but not neurotrophin 3. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 88: 961-965.
- Kostrzewa RM, Nowak P, Kostrzewa JP, Kostrzewa RA, Brus R (2005) Peculiarities of L-DOPA treatment of Parkinson's disease. *Amino Acids* 28:157-164.
- Lang AE, Lozano AM (1998) Parkinson's disease. First of two parts. *N. Engl. J. Med.* 339: 1044-1053.
- de Lau LML e Breteler MMB (2006) Epidemiology of Parkinson's disease. *Lancet Neurology* 5(6): 525-535.
- Levivier M, Przedborski S, Bencsics C, Kang UJ (1995) Intrastratial implantation of fibroblasts genetically engineered to produce brain-derived neurotrophic factor prevents degeneration of dopaminergic neurons in a rat model of Parkinson's disease. *The Journal of Neuroscience* 15 (12): 7810-7820.
- Linazasoro, G. (2005) New ideas on the origin of L-dopa-induced dyskinesias: age, genes and neural plasticity. *Pharmacological Sciences* 2: 391-397.

- Lu B, Pang TP, Woo NH (2005) The yin and the yang of neurotrophin action. *Nature* 6: 603-614.
- Melo LM, Barbosa ER, Caramelli P (2007) Cognitive impairment and dementia in Parkinson's Disease: clinical characteristics and treatment. *Rev. Psiqu. Clín* 34(4): 176-183.
- Mogi M, Togari A, Kondo T, Mizuno Y, Komure O, Kuno S, Ichinose H, Nagatsu T (1999) Brain-derived growth factor and nerve growth factor concentrations are decreased in the substantia nigra in Parkinson's disease. *Neuroscience Letters* 270: 45-48.
- Murer M G., Yanb Q., Raisman-Vozari R. (2001) Brain-derived neurotrophic factor in the control human brain, and in Alzheimer disease and Parkinson's disease. *Progress in Neurobiology* 63: 71-124.
- Nutt JG, Woodward WR, Hammerstad JP, Carter JH, Anderson JL (1984) The "on-off" phenomenon in Parkinson's disease. Relation to levodopa absorption and transport. *The New England Journal of Medicine* 310(8): 483-488.
- Nutt JG, Carter JH, Lea ES, and Sexton GJ (2002) Evolution of the response to levodopa during the first 4 years of therapy. *Annals of Neurology* 51(6): 686-693.
- Olanow CW, Tatton WG (1999) Etiology and Pathogenesis of Parkinson's disease. *Annu. Rev. Neurosci.* 22:123-44.
- Okazawa H, Murata M, Watanabe M, Kamei M, Kanazawa I (1992) Dopaminergic stimulation up-regulates the in vivo expression of brain-

- derived neurotrophic factor (BDNF) in the striatum. *FEBS Lett* 313: 138-142.
- Papapetropoulos S, Argyriou AA, Ellul J (2005) Factors associated with drug-induced visual hallucinations in Parkinson's disease *Journal of Neurology* 252(10): 1223-1228.
- Parain K, Murer MG, Yan Q, Faucheux B, Agid Y, Hirsch E, Raisman-Vozari R (1999) Reduced expression of brain-derived neurotrophic factor protein in Parkinson's disease substantia nigra. *NeuroReport* 10: 557-561.
- Sanchez-Ramos, J R, R Ortoll, e G W Paulson. (1996) Visual hallucinations associated with Parkinson disease. *Archives of Neurology* 53(12): 1265-1268.
- Schapira, AHV e Obeso J (2006) Timing of treatment initiation in Parkinson's disease: a need for reappraisal? *Annals of Neurology* 59(3): 559-562.
- Thoenen H (1995) Neurotrophins and neuronal plasticity. *Science* 270 (5236):593-8.
- Tsukahara T, Takeda M, Shimohama S, Ohara O, Hashimoto N (1995) Effects of brain-derived neurotrophic factor on 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced parkinsonism in monkeys. *Neurosurgery* 37:733-739.
- Waterhouse EG, Xu B (2009) New insights into the role of brain-derived neurotrophic factor in synaptic plasticity. *Molecular and Cellular Neuroscience* 42:81-89.

Zintzaras E, Hadjigeorgiou G M, 2005. The role of G196A polymorphism in the brain-derived neurotrophic factor gene in the cause of Parkinson's disease: a meta-analysis. *J. Hum. Genet.* 50: 560-566.

Zhang X, Andren PE, Svenningsson P (2006) Repeated l-DOPA treatment increases c-fos and BDNF mRNAs in the subthalamic nucleus in the 6-OHDA rat model of Parkinson's disease. *Brain Res.* 1095(1):207-10.