



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE FISIOTERAPIA

RENALY DA COSTA RODRIGUES

**MECANISMOS CELULARES NEUROINFLAMATÓRIOS ASSOCIADOS AOS
PROCESSOS NEURODEGENERATIVOS NA DOENÇA DE PARKINSON: UMA
REVISÃO SISTEMÁTICA**

CAMPINA GRANDE

2018

RENALY DA COSTA RODRIGUES

**MECANISMOS CELULARES NEUROINFLAMATÓRIOS ASSOCIADOS AOS
PROCESSOS NEURODEGENERATIVOS NA DOENÇA DE PARKINSON: UMA
REVISÃO SISTEMÁTICA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Fisioterapia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Fisioterapia.

Área de concentração: Neurologia.

Orientador (a): Prof^ª. Dr^ª. Carlúcia Ithamar Fernandes Franco.

Coorientador (a): Mestranda Mírian Celly Medeiros Miranda David.

CAMPINA GRANDE

2018

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

R696m Rodrigues, Renaly da Costa.
Mecanismos celulares neuroinflamatórios associados aos processos neurodegenerativos na Doença de Parkinson [manuscrito] : uma revisão sistemática / Renaly da Costa Rodrigues. - 2018.
28 p. : il. colorido.

Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Fisioterapia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2018.
"Orientação : Profa. Dra. Carlúcia Ithamar Fernandes Franco, Coordenação do Curso de Fisioterapia - CCBS."

1. Neurodegeneração. 2. Doença de Parkinson. 3. Inflamação.

21. ed. CDD 616.833

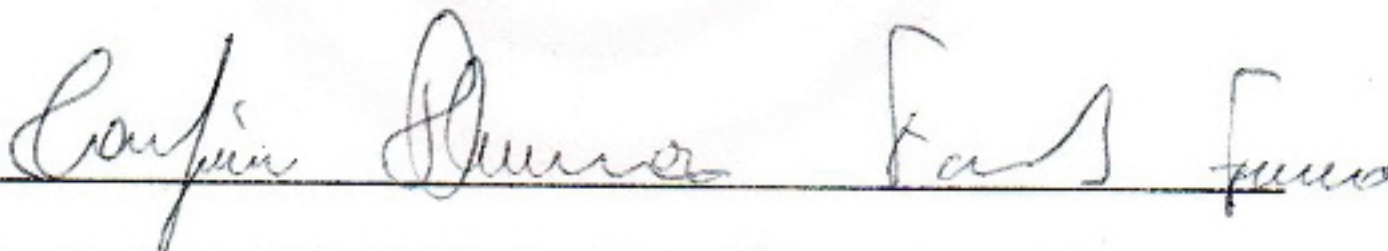
RENALY DA COSTA RODRIGUES

**MECANISMOS CELULARES NEUROINFLAMATÓRIOS
ASSOCIADOS AOS PROCESSOS NEURODEGENERATIVOS NA
DOENÇA DE PARKINSON: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

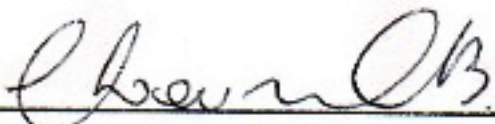
Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado, na modalidade de artigo científico, ao departamento de Fisioterapia da Universidade Estadual da Paraíba como requisito para obtenção do título de Bacharel em Fisioterapia.

Aprovado em 20/06/2018.

Banca Examinadora



Profª. Dra. Carlúcia Ithamar Fernandes Franco
Orientador(a) UEPB



Profª. Dra. Clarissa Loureiro Campêlo Bezerra
Examinador(a) UEPB



Mestranda Maíra Lopes da Costa
Examinador(a) UEPB

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	06
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	07
3	METODOLOGIA.....	11
3.1	<i>Critério de Elegibilidade.....</i>	12
3.2	<i>Seleção dos Estudos.....</i>	12
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	14
5	CONCLUSÃO.....	19
6	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	23
	APÊNDICE I – DESCRIÇÃO DOS GENES.....	26
	APÊNDICE II – ABREVIATURAS.....	28

MECANISMOS CELULARES NEUROINFLAMATÓRIOS ASSOCIADOS AOS PROCESSOS NEURODEGENERATIVOS NA DOENÇA DE PARKINSON: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

Renaly da Costa Rodrigues*
Mírian Celly Medeiros Miranda David**
Prof^a Dr^a Carlúcia Ithamar Fernandes Franco***

RESUMO

A Doença de Parkinson (DP) é uma afecção neurológica degenerativa caracterizada pela perda de neurônios dopaminérgicos da substância negra e severo processo inflamatório. Evidências sugerem que as células microgliais e astrocitárias contribuem para a degeneração no encéfalo, provocando respostas inflamatórias excessivas. Dada a relevância da interação micróglia-astrócitos na regulação da neuroinflamação, é importante identificar mediadores envolvidos neste processo, como citocinas pró-inflamatórias, proteínas e genes. Neste cenário, o presente estudo teve como objetivo identificar a ação biológica da neuroinflamação no processo de degeneração na DP. Foi realizada uma Revisão Sistemática de artigos publicados nos últimos dez anos a partir de buscas nas bases de dados *PUBMED*, *Google Acadêmico*, *Cochrane*, *Scopus* e *ScienceDirect*. A busca ocorreu entre os meses de fevereiro e maio de 2018, por dois avaliadores independentes, através dos descritores: *Neuroinflammation*, *Neurodegeneration*, *Cellular Events*, *Microglia*, *Astrocytes*, *Mast cells*, *Parkinson's Disease*, *Post Mortem*. Incluíram-se artigos completos nos idiomas português, inglês ou espanhol, que analisassem tecidos cerebrais *post mortem* de indivíduos com DP comparando com controles normais pareados por idade de óbito e excluíram-se estudos de revisão, modelo animal e que tinham finalidade exclusivamente terapêutica. Após análise dos dados foram eleitos 08 artigos, cujo nível de concordância entre os avaliadores foi verificado através do Método de Porcentagem (62,5% de concordância entre avaliadores). Foram elencados mediadores químicos da inflamação em células microgliais e astrocitárias, além de genes expressos a respostas inflamatórias e imunes, mostrando que, embora os mecanismos inflamatórios participem dos fenômenos de reparo tecidual, também estão envolvidos em processos inflamatórios crônicos, podendo contribuir para o processo de degeneração neuronal na DP.

Palavras-chave: Inflamação. Neurodegeneração. Micróglia. Astrócitos. Doença de Parkinson. *Post Mortem*.

* Aluna de Graduação em Fisioterapia na Universidade Estadual da Paraíba – Campus I, Campina Grande, Paraíba, Brasil.

Email:renalycr@gmail.com

** Mestranda em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento pela Universidade Federal de Pernambuco – Campus I, Recife, Pernambuco, Brasil.

*** Professora Doutora do Departamento de Fisioterapia da Universidade Estadual da Paraíba - Campus I, Campina Grande, Paraíba, Brasil.

1 INTRODUÇÃO

A Doença de Parkinson (DP) é uma afecção neurodegenerativa, de causa multifatorial, que ocorre devido à perda de neurônios na substância negra produtora de dopamina. O médico inglês James Parkinson foi o que primeiro descreveu a doença, no ano de 1817. É caracterizada clinicamente, por sintomas progressivos de início tardio que cursa com quatro sintomas principais: rigidez, tremor de repouso, bradicinesia e instabilidade postural, os quais levam a incapacidade funcional e ao comprometimento de qualidade de vida do indivíduo. (BERARDELLI et al., 2001; BRAAK et al., 2003; JAY et al., 2016).

A bradicinesia é responsável pela lentidão dos movimentos, além da dificuldade em planejar, iniciar e executar o movimento, sendo a principal manifestação clínica da DP, o que indica distúrbio nos gânglios da base. A rigidez muscular é global e plástica, apresentando resistência articular (fenômeno de “roda dentada”), além do tremor, que atinge as extremidades distais dos membros superiores e inferiores, afetando principalmente as mãos, conferindo gestos semelhantes ao de “contar dinheiro” (BRAAK et al., 2003; NAGATSU; SAWADA, 2007; TIWARI, 2017).

Do ponto de vista fisiopatológico, a DP caracteriza-se pela perda progressiva de neurônios dopaminérgicos e a maior parte dos casos ocorre devido ao avanço da idade, sendo este um fator de risco importante. É uma doença de caráter multifatorial que engloba fatores de neuroinflamação, neurodegeneração e genéticos, que lesionam a substância negra *pars compacta* (SNpc), as vias nigroestriatais e os núcleos da base (CROISIER et al., 2005; DANIELE et al., 2015; HINDLER, 2010; RYAN et al., 2017; SAWADA; IMAMURA; NAGATSU, 2006).

Considerando que a inflamação é uma reação de autodefesa do corpo humano, com objetivo de eliminar ou anular estímulos lesivos e reparar a integridade do tecido, a neuroinflamação é um processo inflamatório no tecido nervoso que permite a comunicação entre o Sistema Imune e o Sistema Nervoso Central (SNC), provocando respostas celulares e moleculares à exposição a um ambiente danoso. Inicialmente, a neuroinflamação é uma resposta que auxilia na prevenção do dano tecidual, entretanto, a persistência do processo de inflamação colabora para o desenvolvimento de doenças, contribuindo para um quadro de depleção de neurônios, provocando degeneração (IMAMURA et al., 2003; MINGHETTI, 2005; RANSOHOFF, 2016).

A neuroinflamação é um componente da resposta imune do SNC a agentes agressores, sendo marcada pela ativação de células gliais, micróglia e astrócitos, além de outras células,

que liberam mediadores inflamatórios, como citocinas e proteínas, que tem sido associada a várias doenças neurodegenerativas (DNs). A resposta imune adaptativa está implicada nas DNs que contribuem para o dano tecidual (AMOR et al., 2010; CROISIER et al., 2005; MCGEER et al., 1988).

No SNC, micróglia e astrócitos são consideradas as principais células cerebrais envolvidas na neuroinflamação, promovendo resposta de sobrevivência ou apoptose neuronal. Estas células sintetizam e secretam proteínas e citocinas pró e anti-inflamatórias, como interleucina-1 β (IL-1 β), interleucina-6 (IL-6), fator de necrose tumoral- α (TNF- α), proteína de ligação ao cálcio (S100B), proteína ácida fibrilar glial (GFAP), interleucina-2 (IL-2), além de ativarem outras vias de mediadores intracelulares. Outras citocinas e alguns genes também estão envolvidos no processo de neuroinflamação, os quais tem sido alvo de estudos em tecidos de cérebro *post mortem* para verificar a influencia das mesmas no processo de neuroinflamação e degeneração na DP (JAY et al., 2016; MCGEER et al., 1988; RYAN et al., 2017; SAWADA; IMAMURA; NAGATSU, 2006).

Estudos realizados em encéfalos *post mortem* na DP contribuem para o entendimento da patogênese da doença em níveis celulares e moleculares. Evidências sugerem a presença de neuroinflamação a partir da ativação de células microgлияis, astrocítárias e de seus mediadores neuroinflamatórios como citocinas, biomarcadores e genes presentes na substância negra (SN) se encontram envolvidos no processo de inflamação na doença (HARTMANN, 2004; NAGATSU; SAWADA, 2007). Dessa forma, o presente estudo de revisão tem como objetivo identificar os mecanismos e/ou eventos celulares e suas respectivas moléculas envolvidos no processo neuroinflamatório que contribuem para o processo de degeneração em indivíduos portadores de DP através da análise de tecidos cerebrais *post mortem*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

Doenças neurodegenerativas são afecções que se identificam por causarem morte neuronal, afetando, desta forma, neurônios do encéfalo. Caracterizada por disfunção progressiva do sistema nervoso, a degeneração neuronal tem inicio marcado por sintomas leves, com alterações funcionais cognitivas e motoras. O envelhecimento (atrofia senil) é fator de risco para doenças neurodegenerativas, prejudicando a capacidade de reparo celular neuronal, além de processos de inflamação (HINDLER, 2010; JAY et al., 2016).

O início da degeneração é marcado por eventos leves, e à medida que a neurodegeneração progride, os sintomas avançam progressivamente. O padrão de perda neuronal nas DNs é seletivo, afetando um ou mais grupos de neurônios, assim, as manifestações clínicas são ditadas pelo perfil de disfunção neuronal: afetam os neurônios corticais cerebrais, apresentando perda de memória, linguagem, conhecimento e planejamento, já quando afetam os núcleos da base, em particular a via nigroestriatal, tem um importante papel no sistema regulatório positivo e negativo das vias sinápticas, associando-se a distúrbios do movimento, rigidez e anormalidades posturais (JAY et al., 2016; NAGATSU; SAWADA, 2007).

Uma ligação comum entre as DNs é a ativação crônica da resposta imune, incluindo aquelas que são mediadas pela micróglia, levando à degeneração progressiva. A inflamação ocorre como uma resposta local impulsionada pela micróglia, na ausência de infiltração de leucócitos (DANIELE et al., 2015; RANSOHOFF, 2016; SANCHEZ-GUAJARDO et al., 2013). A neuroinflamação pode se tornar um processo prejudicial, contribuindo para a patogênese de vários distúrbios do SNC, incluindo DNs crônicas. A neuroinflamação desempenha um papel fundamental na modificação da patologia em DNs, e a compreensão desses mecanismos são fundamentais para elucidar os processos biológicos comuns correspondentes à degeneração de neurônios (JAY et al., 2016; MINGHETTI, 2005).

A DP é uma DN crônica, progressiva, irreversível e de alta prevalência. É considerada um distúrbio de esfera extrapiramidal e é caracterizada pela perda contínua de neurônios dopaminérgicos. A DP é identificada clinicamente por bradicinesia, rigidez muscular e tremor, além de instabilidade postural e marcha festinante (passos curtos e rápidos), característica motora observada em condições que têm em comum o dano do sistema dopaminérgico nigroestriatal (BRAAK et al., 2003, 2006; NAGATSU; SAWADA, 2007).

A fisiopatologia consiste de alterações envolvendo a substância negra e os gânglios da base. Os neurônios dopaminérgicos da substância negra se projetam para o corpo estriado, cuja degeneração é associada à redução do conteúdo de dopamina. A magnitude do comprometimento motor é equivalente à deficiência de dopamina (BRAAK et al., 2003; HINDLER, 2010).

Na DP, a principal característica neuropatológica é a degeneração neuronal seguida de perda de neurônios dopaminérgicos, localizados na SNpc, indicando, microscopicamente, uma despigmentação na porção ventrolateral desta estrutura, resultando na degeneração dos neurônios dopaminérgicos. Outra característica, que é encontrada em encéfalos *post mortem* de portadores de DP, é a presença de corpúsculos de Lewy, que são acúmulos de proteínas,

como a parkina e a α -sinucleína, que resultam na depleção da produção de dopamina no corpo estriado, e consequente destruição da via nigroestriatal (BERARDELLI et al., 2001; HINDLER, 2010; TIWARI, 2017).

Braak et al. (2003), sugeriram que o processo patológico da DP se iniciava no núcleo motor dorsal do vago e olfativo anterior, com progressão na área rostral e caudal, sendo distribuída em seis estágios. No estágio 1, as alterações bulbares e no núcleo olfativo anterior. No estágio 2, o comprometimento sulco-pontino. No estágio 3, a degeneração no mesencéfalo. No estágio 4, as lesões saem do tronco encefálico e atingem, principalmente, o mesocórtex temporal e a amígdala. No estágio 5, as alterações acometem o neocórtex com destaque para as áreas pré- frontais e de associação sensitivas. No estágio 6, a etapa mais avançada, ocorre o comprometimento difuso das áreas corticais primárias (BRAAK et al., 2003, 2006).

O processo de neuroinflamação desempenha papel importante no processo de degeneração de neurônios nigroestriatais, correspondentes à DP. A neurodegeneração mediada por inflamação consiste na ativação da micróglia, que uma vez ativados liberam mediadores químicos com ação neurotóxica e pró-inflamatória, dentre eles, citocinas, quimiocinas e eicosanóides que podem lesar neurônios e células gliais. A inflamação no SNC está envolvida na patogênese de DNs agudas e crônicas, incluindo a DP (IMAMURA et al., 2003; RYAN et al., 2017; SAWADA; IMAMURA; NAGATSU, 2006).

A neuroinflamação aguda compreende, principalmente, ativação da micróglia e astrócitos, ocorrendo liberação de citocinas e quimiocinas, porém, a depender da magnitude da resposta inflamatória, pode ser contida de forma rápida sem causar grandes danos neuronais. Por outro lado, a neuroinflamação crônica ocorre devido à persistência de estímulos lesivos, que ativa de forma permanente a micróglia, provocando liberação de mediadores pró-inflamatórios. A persistência da atividade pró-inflamatória pode levar a um grave dano e posterior apoptose neuronal, devido às respostas inapropriadas contra tecidos próprios ou falha de resposta adequada (AMOR et al., 2010; CROISIER et al., 2005; MCGEER et al., 1988; NEUROCHEMISTRY, 2016).

De acordo com a relevância do processo inflamatório, a perda de função ou apoptose neuronal pode ocorrer de forma rápida e intensa, levando a perda cognitiva permanente e progressiva (AMOR et al., 2010; MINGHETTI, 2005; SAWADA; IMAMURA; NAGATSU, 2006). Uma das principais características morfológicas na inflamação crônica é a destruição tecidual mediada por células inflamatórias. O macrófago é a célula predominante na inflamação crônica, sendo componente do sistema mononuclear fagocítico, o qual assume

diversas formas morfológicas em diferentes tecidos, incluindo micróglia no SNC (AMOR et al., 2010; JAY et al., 2016; MCGEER et al., 1988).

A imunidade inata, componente constitutivo do SNC e dependente de células residentes como a micróglia e astrócitos, correspondem à primeira linha de defesa do organismo contra invasão de patógenos, e é efetiva no controle da infecção até que as células do sistema imune adaptativo sejam capazes de iniciar uma resposta específica contra o antígeno. Micróglia e astrócitos apresentam papel fundamental no processo de neuroinflamação, e são reconhecidos como participantes ativos em várias doenças neurodegenerativas crônicas (JAY et al., 2016; RANSOHOFF, 2016; SAWADA; IMAMURA; NAGATSU, 2006).

A micróglia está envolvida na resposta imune e inflamatória do SNC, com destaque para o controle de processos inflamatórios, reparo e regeneração (MINGHETTI, 2005). Desempenhando importante função nas doenças encefálicas, a micróglia altera sua morfologia quando ativada, tomando forma ameboide e, como resposta, libera mediadores pró-inflamatórios (citocinas, quimiocinas, proteínas, TNF- α e radicais livres), o que pode levar a degeneração e apoptose neuronal (CROISIER et al., 2005; GONZÁLEZ et al., 2014; MCGEER et al., 1988).

Os astrócitos são células gliais especializadas, abundantes no SNC, e são responsáveis pelo reparo, maturação neuronal e formação de cicatriz no cérebro, um processo chamado gliose. Em resposta a uma lesão, os astrócitos se submetem a hipertrofia e hiperplasia, seu núcleo aumenta, tornando-se vesicular e o nucléolo fica proeminente, alterando sua morfologia. Um dos papéis mais importantes dos astrócitos é a vigilância imunológica, ativando uma resposta inflamatória para a defesa do corpo (GONZÁLEZ et al., 2014; JAY et al., 2016; RANSOHOFF, 2016).

As análises em tecido *post mortem* de encéfalos de indivíduos com DP mostram que há mudanças inflamatórias causadas por micróglia ativada (HLA-DR), bem como aumento de mediadores neuroinflamatórios na SNpc, indicando um papel de neuroinflamação na doença (MCGEER et al., 1988). Compreende-se que a HLA-DR esteja presente no cérebro em quadros de DP para produzir citocinas pró-inflamatórias e neuroinflamação, promovendo a apoptose de neurônios dopaminérgicos na SNpc (IMAMURA et al., 2003). Segundo Sawada et al. (2006), a HLA-DR pode ter o objetivo de neuroproteção no estágio inicial da DP e à medida que a neuroinflamação persiste junto à progressão da doença, ela se torna neurotóxica (SAWADA; IMAMURA; NAGATSU, 2006).

A descoberta da deficiência de dopamina na via nigroestriatal a partir de estudos *post mortem* em encéfalos de indivíduos com DP no ano de 1960 foi um marco para as pesquisas realizadas sobre a doença (JAY et al., 2016; NAGATSU; SAWADA, 2007). Três achados em encéfalos *post mortem* sugerem a diminuição de neurônios dopaminérgicos: (1) altos níveis de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α e IL-6; (2) níveis de fatores relacionados a apoptose aumentados e (3) redução da quantidade de neurotrofinas (NAGATSU; SAWADA, 2007).

A análise cerebral *post mortem* possui algumas implicações, pois ainda há muitos fatores incontrolláveis nas amostras, portanto, alguns pontos no desenvolvimento dos estudos devem ser considerados, como: (1) informação clínica sobre o indivíduo, pois os medicamentos administrados a ele podem ocasionar alterações cerebrais ao nível do conteúdo estudado, visto que pacientes com DP são tratados com L-DOPA ou com agonistas do receptor de dopamina; (2) causa da morte somática ou a condição do indivíduo antes da mesma; (3) o intervalo *post mortem* pode alterar os resultados das análises, tanto porque afetará o tecido como pelos compostos, como a dopamina, que são instáveis e facilmente degradados, assim, o atraso *post mortem* deve ser curto, preferencialmente dentro das primeiras 12hrs; (4) a idade e o intervalo *post mortem* dos indivíduos do grupo controle devem ser semelhantes aos com DP; (5) as regiões dos cérebros e o método de dissecação cerebral deve ser igual para ambos, casos e controles e (6) um grande número de amostras é necessário para obter-se análises estatísticas adequadas (NAGATSU; SAWADA, 2007).

Apesar dos desafios e limitações, o estudo do cérebro humano é um pré-requisito para a compreensão da DP, pois representam uma maneira eficiente de melhorar nossa compreensão quanto à fisiopatologia da doença. Os estágios de Braak dos cérebros coletados são altamente heterogêneos, o que nos permite um conhecimento verdadeiro sobre os processos de neuroinflamação e progressão de neurodegeneração na DP.

3 METODOLOGIA

A pesquisa tratou-se de uma Revisão Sistemática¹, conduzida de acordo com o protocolo predefinido seguindo-se *guideline* metodológica do *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* (HIGGINS; GREEN, 2011). A estratégia de seleção dos artigos foi realizada de acordo com definições de busca pré-determinada pelos revisores. Foi

¹ Número de registro PROSPERO: CRD42018092807.

utilizado o método de porcentagem para verificar a concordância entre os avaliadores, havendo concordância de 62,5% entre avaliadores.

Dois pesquisadores (R.C/M.C), de forma separada, realizaram a busca por artigos de acordo com algoritmos de busca em cinco bases de dados eletrônicas relevantes para o tema abordado: Pubmed, Google Acadêmico, *Cochrane*, *Scopus* e *ScienceDirect* (**Tabela 1**). A busca ocorreu no período de fevereiro a maio de 2018, onde se aplicou a combinação dos seguintes descritores: “*Neuroinflammation*” AND “*Neurodegeneration*” AND “*Cellular Events*” OR “*Microglia*” OR “*Astrocytes*” OR “*Mast Cells*” AND “*Parkinson’s Diseases*” AND “*Post Mortem*”.

3.1 Critério de Elegibilidade

Foram incluídos artigos completos, publicados nos últimos 10 anos, nos quais foram realizados estudos em tecidos encefálicos *post mortem* de indivíduos com DP e controles normais pareados por idade de óbito, com mínimo de um desfecho direta ou indiretamente relacionado aos mecanismos celulares e moleculares envolvidos com a neuroinflamação no processo neurodegenerativo na DP, nos idiomas português, inglês ou espanhol.

Os critérios de exclusão corresponderam a estudos realizados com tecido *post mortem* de animal ou estudos com modelo animal, que apresentaram finalidade terapêutica exclusiva e que realizaram análises em tecidos encefálicos *post mortem* de outras patologias que não seja a DP.

3.2 Seleção dos Estudos

Dois pesquisadores (R.C/M.C), separadamente, realizaram a busca por artigos de acordo com os critérios de inclusão e exclusão, selecionando-os, primeiramente, a partir da leitura dos títulos e resumos dos estudos obtidos com as buscas. Os estudos selecionados foram lidos na íntegra e submetidos novamente aos mesmos critérios. No caso de discordância entre os revisores para os artigos selecionados após leitura na íntegra, um terceiro revisor decidiria a seleção ou não do artigo em questão (C.I).

Após finalizar a busca pelos artigos nas bases de dados, foi selecionada uma média de oito artigos pelos avaliadores da pesquisa. Após eleger os estudos com base nos critérios de inclusão e exclusão, foram selecionados oito artigos para análise (**Figura 1**). Todos os dados

Tabela 1: Estratégia de Busca.

BASE DE DADOS		AVALIADOR 1		AVALIADOR 2	
Conceito Pesquisado	Equação de busca	Nº de artigos	Equação de busca	Nº de artigos	
PUBMED					
Doença de Parkinson, Neurodegeneração e Neuroinflamação	<i>Neuroinflammation AND Neurodegeneration AND Cellular Events OR Microglia OR Astrocytes OR Mast cells AND Parkinson's Disease AND Post Mortem</i>	14	<i>((((((Neuroinflammation[Abstract]) AND Neurodegeneration[Abstract]) AND Cellular Events[Abstract]) OR Microglia[Abstract]) OR Astrocytes[Abstract]) OR Mast Cells[Abstract]) AND Parkinson's Disease[Abstract]) AND Post mortem[Abstract]</i>	14	
GOOGLE ACADÊMICO					
Doença de Parkinson, Neurodegeneração e Neuroinflamação	<i>"Neuroinflammation AND Neurodegeneration" AND "Cellular Events" OR "Microglia" OR "Astrocytes" OR "Mast cells" AND "Parkinson's Disease" AND "Post Mortem"</i>	350	<i>Neuroinflammation[ABSTRACT] AND Neurodegeneration[ABSTRACT] AND "Parkinson's Disease"[TITLE] AND "Cellular Events" OR Microglia OR "Mast cells" OR Astrocytes AND "Post mortem"[ABSTRACT]</i>	958	
COCHRANE					
Doença de Parkinson, Neurodegeneração e Neuroinflamação	<i>"Neuroinflammation" AND "Neurodegeneration" AND "Cellular Events" OR "Microglia" OR "Astrocytes" OR "Mast cells" AND "Parkinson's Disease" AND "Post Mortem"</i>	80	<i>Parkinson's Disease" AND Neuroinflammation AND Neurodegeneration AND "Cellular Events" OR Microglia OR Astrocytes OR "Mast cells" AND "Post mortem" in Title, Abstract, Keywords , Publication Year from 2008 to 2018 in Trials'</i>	85	
SCOPUS					
Doença de Parkinson, Neurodegeneração e Neuroinflamação	<i>Neuroinflammation AND Neurodegeneration AND "Cellular Events" OR Microglia OR Astrocytes OR "Mast cells" AND "Parkinson's Disease" AND "Post Mortem"</i>	7	<i>(TITLE-ABS-KEY ("Parkinson's Disease") AND TITLE-ABS-KEY (neuroinflammation) AND ALL (neurodegeneration) AND ALL (microglia) OR ALL (astrocytes) OR ALL ("Mast Cells") OR ALL ("Cellular Events") AND ALL ("Post mortem")) AND DOCTYPE (ar) AND PUBYEAR > 2007</i>	38	
SCIENCE DIRECT					
Doença de Parkinson, Neurodegeneração e Neuroinflamação	<i>("Neuroinflammation" AND "Neurodegeneration") AND ("Cellular Events" OR "Microglia" OR "Astrocytes" OR "Mast cells") AND ("Parkinson's Disease" AND "Post Mortem")</i>	267	<i>"Parkinson's Disease" AND Neuroinflammation AND Neurodegeneration AND ("Cellular events" OR Microglia OR Astrocytes OR "Mast cells") AND "Post mortem"</i>	270	

Fonte: Dados da Pesquisa.

relacionados aos mediadores pró-inflamatórios, micróglia, astrócitos e dados gerais dos tecidos encefálicos *post mortem* dos oito artigos selecionados estão sumarizados na **Tabela 2**.

A síntese de todos os estudos selecionados está descritos na **Tabela 3**.

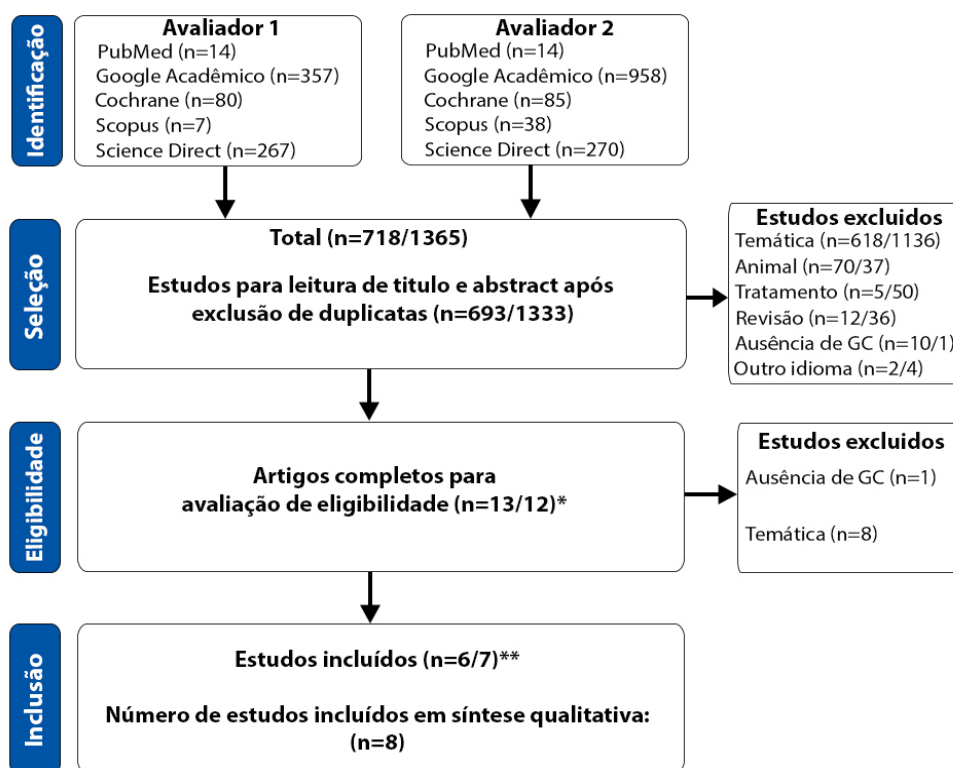


Figura 1: Fluxograma de seleção dos artigos. GC: grupo controle; *7 artigos foram similares nas pesquisas de ambos avaliadores; **5 artigos foram similares nas pesquisas de ambos avaliadores, com três distintos, onde após discussão entre os avaliadores, optou-se pela inclusão dos três artigos. Fonte: Dados da Pesquisa.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Considerando as características dos processos de inflamação e degeneração em DNs e trazendo estes fatores para a realidade na DP, evidências *post mortem* de tecidos encefálicos de indivíduos acometidos pela doença sugerem a presença de degeneração a partir da neuroinflamação (MCGEER et al., 1988; SAWADA; IMAMURA; NAGATSU, 2006; TIWARI, 2017). Portanto, As áreas encefálicas selecionadas em todos os estudos correspondem às regiões afetadas pela neurodegeneração na DP, de acordo com o estágio de progressão da doença (BRAAK et al., 2004; BRAAK; DEL TREDICI, 2008). Os estudos que selecionaram as análises de acordo com o estagiamento da DP estabelecido por Braak foram o de Hurley et al. (2015), Doorn et al. (2014) e Garcia-Esparcia et al. (2014).

A predominância das análises nos estudos no que diz respeito às áreas encefálicas utilizadas foi a SNpc, uma vez que a DP é caracterizada pela perda de neurônios nessa região

(BRAAK; DEL TREDICI, 2008; DOORN et al., 2014; MCGEER et al., 1988). Santoro et al. (2016), Durrenberger et al. (2014) e Sathe et al. (2012) realizaram pesquisas exclusivamente na SNpc, região onde foi identificado vários mediadores pró-inflamatórios, incluindo citocinas e proteínas, além da expressão de genes que participam do processo de inflamação, ressaltando que a neuroinflamação crônica é responsável pela perda progressiva de neurônios em condições degenerativas.

A marca da neuroinflamação no encéfalo é a ativação microglial, dessa forma, a micróglia assume um fenótipo tanto pró-inflamatório como anti-inflamatório, e dependendo de sua ativação fenotípica, secreta citocinas específicas, que são as principais moléculas sinalizadoras da inflamação (CROISIER et al., 2005; DOORN et al., 2014; GONZÁLEZ et al., 2014). O desequilíbrio entre sinais pró e anti-inflamatórios favorece um processo inflamatório crônico, com continuada ativação da micróglia, que nestas condições libera citocinas e proteínas pró-inflamatórias como interleucina 2 e 13 (IL2 e IL13), receptores toll like 2 e 4 (TLR2 e TLR4), proteínas S100B e proteína HMGB1 (DOORN et al., 2014; RYDBIRK et al., 2017; SANTORO et al., 2016).

A diversidade das respostas inflamatórias mediadas por citocinas e proteínas mediante ativação microglial demonstra que os achados encontrados nos estudos apoiam ainda mais a neuroinflamação na patogênese da DP (AMOR et al., 2010; GONZÁLEZ et al., 2014). Doorn et al. (2014) analisaram os diferentes fenótipos e ativação da micróglia, que sob condições neurodegenerativas ocorrem mudanças conformacionais de uma morfologia ramificada em células de forma ameboide, adquirindo funções como fagocitose e de síntese de citocinas, expressando TLR2 e acúmulo de α -sinucleína, indicando extensa perda de neurônios dopaminérgicos nos casos de DP quando comparado aos controles normais.

Garcia-Esparcia et al. (2014) compararam e avaliaram a expressão de citocinas e mediadores da resposta imune, selecionando-os de acordo com sua expressão. Os achados mostraram que as respostas microgliais são limitadas no Putâmen, CF e na AGA, além de possuírem menor formação de agregados de α -sinucleína quando em comparação com a SNpc, onde respostas neuroinflamatórias intrínsecas em células da glia e micróglia podem ser consideradas agentes desencadeadores da neuroinflamação na DP. Já Santoro et al. (2016) realizaram estudos para identificar a proteína HMGB1, que é secretada por micróglia ativada como um mediador de citocinas da neuroinflamação. Os estudos realizados revelaram a expressão da proteína HMGB1, afirmando que esta proteína está envolvida na patogênese da DP.

Tabela 2: Características das variáveis dos estudos selecionados.

ARTIGOS	Dados Post-Mortem				Estágios de Braak	Mediadores Celulares Pró-Inflamação		Genes**	TM
	Intervalo (h)	DP/CN (N)	Pareados por Idade (DP/CN)	Áreas Encefálicas		Micróglia	Astrocitos		
DOORN et al. 2014	3 a 9:35 - apenas um estudo foi <17hrs (CN)	14/17	59 a 96/62 a 92	SNpc e Hipocampo	4 a 6	α -sinucleína, TLR2, CD68 e Iba1	Não verificado	TLR2	Não Informou
GARCIA-ESPARCIA et al. 2014	CN: 9 \pm 6 DP: 8 \pm 6	56/43	50 a 88/30 a 86	SNpc, Putâmên, CF e Área de Giro Angular	3 a 6	Micróglia ativada	Não verificado	TLR4, TLR7, IL6, IL6ST, IL8, IL1B, IL10, TNF, IL10RA, IL10RB, CTSC, TNFRSF1A, C3AR1, ITGB2* e INPP5D	Não Informou
SANTORO et al. 2016	CN: 25 \pm 10 DP: 38 \pm 10	6/5	79 \pm 2/80 \pm 3	SNpc	Não selecionado	HMGB1, RAGE, TLR2 e TLR4	Não verificado	não verificado	Não Informou
DURRENBERGER et al. 2014	CN: 22 \pm 15 DP: 39 \pm 6	12/7	81 \pm 4 e 66 \pm 17	SNpc	Não selecionado	HLA-DRA	TGF- β	HLA-DRA, HLADRAB4, IL13RA1, TIMP1, TNFRSF1A, TNFRSF14 e TYROBP	Não Informou
SATHE et al. 2012	Não informou	6/5	Não Informou	SNpc	Não selecionado	RAGE	S100B e GFAP	S100B	Não Informou
RYDBIRK et al. 2017	CN: 22 \pm 20 DP: 26 \pm 18	31/17	79 \pm 7/76 \pm 11	Córtex Pré-frontal Dorsomedial	Não selecionado	IL-2, IL-13 e G-CSF	GFAP	BDNF, CD14, CD18*, GFAP, GSK3B, MBP, NFKBIA, NR4A2, RBFOX3, RELA, SNCA, S100B	Não Informou
TONG et al. 2015	CN: 12 \pm 1 DP: 14 \pm 2	10/10	75 \pm 2/70 \pm 3	SNpc, Putâmên, CF e NC	Não selecionado	α -sinucleína	GFAP	não verificado	Não Informou
HURLEY et al. 2015	CN: 28 \pm 15 DP: 18 \pm 4	29/14	78 \pm 6/77 \pm 9	NMDV, LC, SNpc, CCA e CMP	4 a 6	Micróglia ativada, tripsina-2, serpin-A3 e A5, IBA1 e HLA-DR	GFAP	PAR2	L-DOPA e/ou Agonista de Dopamina

CCA: Córtex Cingulado Anterior; CF: Córtex Frontal; CMP: Córtex Motor Primário; CN: controle normal; DP: Doença de Parkinson; GFAP: Proteína ácida fibrilar glial; HLA-DRA e DR: Antígeno leucocitário humano; Iba1: proteína Iba1; IL2 e 13: Interleucina 2 e 13; TLR2, 4 e 7: Receptor toll like 2, 4 e 7; TM: Indivíduo com DP sob tratamento medicamentoso; LC: Locus Ceruleus; N: Amostra; NMDV: Núcleo Motor Dorsal do Vago; RAGE: Receptor para produtor finais de glicação avançada; SNpc: Substância negra *Pars Compacta*. *Mesmo gene, que possui variação de siglas; *Mesmo gene, que possui variação de siglas; **Genes relacionados a respostas imunes/inflamatórias e a DP. Fonte: Dados da Pesquisa.

Ainda, Hurley et al. (2015) analisaram ativadores de proteínas endógenas (tripsina-2), inibidores de proteinase (serpin-A5 e serpin-A3), marcadores celulares IBA1 (micróglia) e HLA-DR (micróglia ativada). Na SNpc, todas as proteínas analisadas foram reduzidas, refletindo a perda significativa de neurônios dopaminérgicos nessa área. A marca da neuroinflamação no encéfalo é a presença de micróglia ativada, dessa forma, ocorreram mudanças na expressão de serpinas e tripsina-2, refletindo o aumento do número de micróglia ativada de acordo com o avanço da DP, sendo assim, essas alterações refletem o processo de neuroinflamação instalado.

Além da micróglia, os astrócitos também respondem a processos inflamatórios e lesão tecidual elevando a síntese de proteínas e citocinas, podendo provocar processos neurodegenerativos. Os astrócitos reativos são identificados pela expressão da proteína ácida fibrilar glial (GFAP) no SNC, além da ativação da proteína S100, um marcador astrocitário (FREEMAN, 2010; SETH; KOUL, 2008).

Assim, Sathe et al. (2012) identificaram que a proteína S100B, produzida e secretada pelos astrócitos, apresenta papel na fisiopatologia da DP, apresentando níveis elevados na SNpc, sendo envolvida na neuroinflamação desta patologia. A S100B co-localiza com GFAP, um marcador astrocitário, que participa do processo de neuroinflamação. A S100B foi localizada principalmente em astrócitos positivos para GFAP, corroborando com a literatura (FREEMAN, 2010). RAGE (presente em células microgliais) é um membro da superfamília de imunoglobulinas que pode ser ligada a S100B, levando à ativação da cascata inflamatória, contribuindo para o processo de inflamação na DP (SATHE et al., 2012).

Tong et al. (2015) investigaram os níveis de proteínas GFAP e sua relação com a α -sinucleína. Os níveis de marcadores astrocitários na SNpc de indivíduos com DP foram menores do que os presentes no grupo controle, corroborando para a hipótese de que o acúmulo de α -sinucleína na DP suprime a ativação de astrócitos (HALLIDAY; STEVENS, 2011). No Núcleo Caudado e no Putâmen os níveis dos marcadores astrogliais se igualaram à extensão da perda neuronal relatada na literatura (KIELY et al., 2013; MCGEER et al., 1988).

No que diz respeito aos marcadores genéticos, o estudo de Rydbirk et al. (2017) verificaram a expressão de genes e proteínas relacionados à DP. Os genes SNCA, MBP, GSK3B, NR4A2, NFKBIA, RBFOX3, GFAP, S100B, BDNF, RELA, CD14 e CD18 fazem parte do processo de neuroinflamação. O SNCA, gene da α -sinucleína, é expresso em diferentes células do sistema imune, inclusive na micróglia, e defeitos no gene GSK3B tem associação direta à neurodegeneração na DP. Da mesma forma, evidenciou-se expressão

aumentada de S100B, corroborando com o estudo de Sathe et al. (2012), e marcadores como o GFAP, que também foi alvo de análise nos estudos de Hurley et al. (2015), Tong et al. (2015) e Sathe et al. (2012).

Os níveis das citocinas IL2 (DP: 6.281; controle: 3.377) e G-CSF (DP: 26.980 e controle: 58.580) foram as mais modificadas, indicando que alterações proteicas é uma consequência dos processos degenerativos e inflamatórios. A IL2 é sintetizada na micróglia e nos astrócitos, evidenciando o quanto esta proteína está associada à neuroinflamação; por outro lado, a proteína G-CSF, considerada um neuroprotetor, tem seus níveis significativamente baixos, comprovando atividade inibidora na DP quando comparado ao controle normal. As análises realizadas tiveram o objetivo de identificar os níveis de expressão gênica e proteica, além do local de deposição das citocinas. Foi possível observar que os níveis de citocinas (marcadores inflamatórios), foram maiores em indivíduos com DP, indicando respostas neuroinflamatórias (RYDBIRK et al., 2017).

Outro estudo relacionado à identificação de genes presentes em distúrbios neurodegenerativos foi o de Durrenberger et al. (2014). Os genes HLA-DRA e HLADRB4 desempenham papel no sistema imunológico, e os genes IL13RA1, TIMP1, TNFRSF1A, TNFRSF14 e TYROBP são relacionados a proteínas que promovem processos inflamatórios, através de citocinas, ou que possuem respostas diretas relacionadas à citocinas, conectando, dessa forma, a interação entre ativação do sistema imune, resposta inflamatória e degeneração.

De modo geral, os genes encontrados refletiram em processos degenerativos e em regulação das respostas imunes e inflamatórias, podendo contribuir para o processo de neurodegeneração. Micróglia e astrócitos apresentam resposta rápida a perturbações, expressando de forma aumentada marcadores como HLA-DR, fator de crescimento β (TGF- β) e citocinas, que em casos crônicos exacerbam respostas inflamatórias, causando dano e/ou estresse celular.

As análises em tecidos encefálicos *post mortem* de indivíduos com DP mostraram, em todos os estudos, que há resposta neuroinflamatória mediada por micróglia ativada, astrócitos e expressão de genes, indicando grave processo de degeneração na DP. Foi verificado dado de tecidos encefálicos *post mortem* de indivíduos com DP e controles sem alterações neurológicas pareadas por idade de óbito, havendo média de idade entre todos os indivíduos de 73 ± 23 anos. As amostras cerebrais foram coletadas e tratadas de acordo com padrões éticos de Institutos e Faculdades da Europa e dos EUA.

Quanto ao intervalo de coleta dos tecidos encefálicos *post mortem* de todos os estudos, houve uma variação de três a 48 horas, entretanto, os únicos estudos que apresentaram todos os intervalos abaixo de 12h foi o de Doorn et al. (2014), e o estudo de Garcia-Esparcia et al. (2014), que evidenciou amostras de até 14h de intervalo *post mortem*, permitindo compreender que o atraso de coleta do tecido não afetou de forma significativa a qualidade dos mesmos.

Quanto à causa do óbito de indivíduos do grupo sem alterações neurológicas, apenas Tong et al. (2015) trouxeram esses dados, evidenciando que doenças cardiovasculares, broncopneumonia e edema pulmonar foram as responsáveis por causa de óbito nesse grupo; entretanto, não evidenciou-se diferenças significativas no intervalo *post mortem* ou na idade de óbito. Já o estudo de Hurley et al. (2015), apresentou informações clínicas sobre os indivíduos com DP, cujos pacientes receberam tratamento com L-DOPA e/ou agonistas de dopamina antes do óbito. Sathe et al. (2012) não informaram a idade dos indivíduos do grupo controle e acometidos com DP.

5 CONCLUSÃO

A natureza multifatorial da DP tem emergido com os estudos dos mecanismos biológicos que contribuem para o processo de apoptose neuronal. Estes mecanismos incluem: ativação das células gliais (astrócitos), células do sistema imune (micróglia), defeitos e alterações genéticas neuronais e síntese de mediadores químicos neuroinflamatórios como citocinas e quimiocinas. Estas condições estão intimamente ligadas à agregação anormal de proteínas como a α -sinucleína e marcadores de disfunção de células neuronais, como as proteínas S100B e HMGB1, que são capazes de ativar a neuroinflamação, ao ser reconhecido por mediadores expressos nas células da imunidade inata do SNC (micróglia) e de astrócitos.

Evidências na literatura indicam que apesar dos mecanismos neuroinflamatórios participarem dos fenômenos de reparação tecidual, também estão envolvidos em processos de neurodegeneração quando expostos a processos inflamatórios crônicos do SNC. A resposta inflamatória, associada ao aparecimento e progressão da perda de células no trato nigrostriatal dopaminérgico e os mecanismos imunológicos e expressão desregulada de genes são cada vez mais reconhecidos como cruciais na patogênese da DP.

Tabela 3: Síntese dos estudos selecionados.

ARTIGOS	OBJETIVOS	ANÁLISES REALIZADAS	RESULTADOS	CONCLUSÃO
DOORN et al. 2014	Estudar os fenótipos e ativação da micróglia na SNpc e HC de indivíduos com DP (estágio de Braak 4-6) e CN	Imunohistoquímica/ imunofluorescência e análises semiquantitativas/estatísticas	↑ α -sinucleína na micróglia amebóide presente no HC e SNpc na DP ↓ na expressão de TLR2 microglial de acordo com a progressão da DP TLR2 diferencialmente expresso entre SN e HC, consistente com padrão específico de ativação microglial ↑ Iba1 e CD68	As mudanças no fenótipo microglial e na expressão de TLR2 nas áreas da SNpc e HC indicam que o TLR2 desempenha uma função nas respostas mediadas pela micróglia que são importantes para a progressão da DP
GARCIA-ESPARCI A et al. 2014	Avaliar expressão de 25 RNAm: membro do sistema complemento (C1QL1, C1QTNF7, C3AR1), fator estimulante de colônia (CYBA, CST7, INPP5D, CSF1R, CSF3R), família Toll (TLR4, TLR7), citocinas (IL8, IL6, IL6ST, IL1B, TNF α (TNFRSF1A e TNF), IL10 (IL10, IL10RA, IL10RB), TGF β (TGF β 1, TGF β 2), catapsinas (CTSS e CTSC) e integrina (CLEC7A, ITGB2) de acordo com a progressão da DP	Western Blotting, PCR, ELISA, Eletroforese em gel e imunohistoquímica	Regulação negativa de C3AR1, TLR7 e TNF α e positiva de C1QTNF7 e IL10RA no PT Regulação negativa de CSF3R e TLR4 e positiva de CTSS, CYBA, IL10RA e CLEC7A no CF Regulação positiva de C3AR1, CST7, CSF3R, IL10RA e ITGB2 na AGA a partir do estágio 3 de Braak ↑ da expressão de IL6 e ↓ de IL10 Receptor IL5, IL6 e IL17 na micróglia e IL5, IL10 e M-CSF em neurônios	As respostas neuroinflamatórias estão sujeitas a variações regionais nos mesmos estágios da patologia relacionada à DP, implicando que distintas respostas inflamatórias ocorrem em diferentes regiões do cérebro
SANTORO et al. 2016	Verificar os níveis da proteína HMGB1 durante o dano tecidual de células imunes e não-imunes e sua interação com RAGE	Western Blotting, PCR e imunohistoquímica	O HMGB1 é detectável em células neuronais e gliais de tecido encefálico <i>post mortem</i> , e níveis mais altos estão presentes em indivíduos com DP	A HMGB1 contribui para a progressão da doença provocando a ativação da micróglia e aumento da gliose na SNpc. Níveis aumentados de proteína HMGB1 na SNpc sustentam a hipótese de que a HMGB1 está envolvida na patogênese da DP
DURRENBERGER et al. 2014	Identificar a expressão de genes relacionados à patogênese na DP	PCR e Microarranjo de DNA	A categoria mais representada pelos genes identificados foi a resposta imune (30% dos genes) O TGFBR2 e IL13RA1 foram suprarregulados	Vários genes desregulados foram identificados, sugerindo alterações em processos biológicos. A identificação dos genes mostrou alterações na regulação das respostas imunes e da inflamação

SATHE et al. 2012	Identificar a expressão do gene S100B, além dos níveis de proteína S100B, e do receptor RAGE	Imunohistoquímica/ imunocoloração e imunofluorescência	↑ níveis da proteína S100B na SNpc de indivíduos com DP em comparação com o CN. Níveis elevados de RNAm S100B também foram observados na SNpc, sugerindo que o aumento da expressão de S100B pode contribuir para a patogênese da DP	A ligação de S100B a RAGE pode levar à neurodegeneração e à ativação da cascata inflamatória, contribuindo assim potencialmente para a amplificação da inflamação na DP
RYDBIRK et al. 2017	Verificar os níveis de proteína de 18 citocinas (IL-2, 4-8, 10, 12, 13, 17, G-CSF, GM-CSF, IFN- γ , MCP-1, MIP-1 α e 1 β , TNF- α) e 5 neurotrofinas (BDNF, GDNF, bFGF, PDGF-BB, VEGF), além do marcador S100B no CPFdm em encéfalos de pacientes com DP	Ensaio imunoenzimático e multiplex, <i>Western Blotting</i> e PCR	↓ G-CSF, GM-CSF, IL6 ↑ MCP-1, IL-2, IL-7 ↑ proteína IL2 na DP comparado com o CN ↓ IL13 e G-CSF na DP quando comparado ao CN Já para IL8 os dados não foram significativos	No CPFdm de indivíduos com DP foi identificada uma resposta neuroinflamatória ativa demonstrada pela presença de micróglia reativa e expressão proteica aberrante das citocinas IL-2, IL-13 e G-CSF ↑ nos níveis de RNAm de S100B e RET Neurotrofinas não são tão afetadas no CPFdm, indicando que a neuroinflamação pode ser o evento inicial para o processo de neurodegeneração
TONG et al. 2015	Detectar marcadores astroglicais e sua relação com a α -sinucleína na DP	<i>Western Blotting</i> , <i>one-way ANOVA</i>	↓ níveis de GFAP em 5 indivíduos com DP Níveis de GFAP no CF foi igual para DP e CN	GFAP apresentou resultados abaixo na DP comparado ao CN, sendo resultado consistente com alguns relatos na literatura, podendo estar relacionada com a progressão da doença
HURLEY et al. 2015	Verificar a expressão de PAR2 e ativadores de proteínas endógenas (tripsina-2, mastócitos triptase) e inibidores de proteinase (Serpina-5, Serpin-A13) em áreas encefálicas resistentes à neurodegeneração na DP, nos diferentes estágios de Braak	Imunohistoquímica/ imunocoloração, Microscopia de Luz e ANOVA	Expressão de PAR-2, tripsina-2, serpin-A5 e serpin-A13 foi encontrada em neurônios e micróglia ↓ nos neurônios positivos para serpin-A5 no NMDV ↓ expressão de Serpin-A13 no LC e no CMP, enquanto a expressão de PAR2, tripsina-2 e ambas as serpinas foi reduzida em neurônios dentro da SNpc	Houve expressão alterada de PAR2 e algumas proteínas que podem controlar a função de PAR2 na DP em comparação com controles de idade corrigida

CF: Córtex Frontal; CPFdm: Córtex Pré-frontal dorsomedial; AGA: Área de Giro Angular; PT: Putâmen; SNpc: substância negra *pars compacta*; DP: Doença de Parkinson; CN: Controle normal; CMP: Córtex Motor Primário; LC: Locus Coeruleus; NMDV: Núcleo Motor Dorsal do Vago. Fonte: Dados da Pesquisa.

NEUROINFLAMMATORY CELL MECHANISMS ASSOCIATED TO NEURODEGENERATIVE PROCESSES OF PARKINSON'S DISEASE: A SYSTEMATIC REVIEW

Renaly da Costa Rodrigues*
Mírian Celly Medeiros Miranda David**
Prof^a Dr^a Carlúcia Ithamar Fernandes Franco***

ABSTRACT

Parkinson's disease (PD) is a degenerative neurological disorder characterized by the loss of dopaminergic neurons from the substantia nigra along with severe inflammatory process. Evidence suggests that microglial and astrocytic cells contribute to brain degeneration by causing excessive inflammatory responses. Because microglia-astrocyte interaction is relevant to the regulation of neuroinflammation, it is important to identify mediators involved in this process, such as pro-inflammatory cytokines, proteins and genes. In this scenario, the present study aimed to identify the biological action of neuroinflammation in the process of degeneration in PD. A Systematic Review of articles published in the last ten years was done from searches in PUBMED, Academic, Cochrane, Scopus and ScienceDirect databases. The search occurred between February and May 2018, by two independent evaluators using the following descriptors: *Neuroinflammation, Neurodegeneration, Cellular Events, Microglia, Astrocytes, Mast cells, Parkinson's Disease, Post Mortem*. We only included published papers (in Portuguese, English or Spanish languages) that analyzed post-mortem brain tissues of individuals with PD comparing with normal controls matched by age of death, excluding revision studies, animal model and that had exclusively therapeutic purpose. After analyzing the data, we selected 08 articles, whose level of agreement among the evaluators was verified through the Percentage Method (62.5% of inter-rater concordance). Inflammation chemical mediators were observed in microglial and astrocytic cells, as well as genes expressed to inflammatory and immune responses showing that, although inflammatory mechanisms participate in tissue repair phenomena, they are also involved in chronic inflammatory processes, and may contribute to the neuronal degeneration process in PD.

Key-words: Inflammation. Neurodegeneration. Microglia. Astrocytes. Parkinson's Disease, *Post Mortem*.

* Aluna de Graduação em Fisioterapia na Universidade Estadual da Paraíba – Campus I, Campina Grande, Paraíba, Brasil.

Email:renalycr@gmail.com

** Mestranda em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento pela Universidade Federal de Pernambuco – Campus I, Recife, Pernambuco, Brasil.

*** Professora Doutora do Departamento de Fisioterapia da Universidade Estadual da Paraíba - Campus I, Campina Grande, Paraíba, Brasil.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMOR, S. et al. Inflammation in neurodegenerative diseases. **Immunology**, p. 154–169, 2010.

BERARDELLI, A. et al. Pathophysiology of bradykinesia in Parkinson's disease. **Brain**, v. 125, p. 2131–2146, 2001.

BRAAK, H. et al. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. **Neurobiology of Aging**, v. 24, p. 197–211, 2003.

BRAAK, H. et al. Stages in the development of Parkinson's disease-related pathology. **Cell and Tissue Research**, v. 318, n. 1, p. 121–134, 2004.

BRAAK, H. et al. Pathology associated with sporadic Parkinson's disease – where does it end? In: SPRINGER, V. (Ed.). **Parkinson's Disease Related Disorders. Journal of Neuronal Transmission**. [s.l: s.n.]. p. 89–97.

BRAAK, H.; DEL TREDICI, K. Invited Article: Nervous system pathology in sporadic Parkinson disease. **Neurology**, v. 70, n. 20, p. 1916–1925, 2008.

CROISIER, E. et al. Microglial inflammation in the parkinsonian substantia nigra: relationship to alpha-synuclein deposition. **Journal of Neuroinflammation**, v. 8, p. 1–8, 2005.

DANIELE, S. G. et al. Activation of MyD88-dependent TLR1/2 signaling by misfolded alpha-synuclein, a protein linked to neurodegenerative disorders. **Science Signaling**, v. 8, n. 376, p. 1–13, 2015.

DOORN, K. J. et al. Microglial phenotypes and toll-like receptor 2 in the substantia nigra and hippocampus of incidental Lewy body disease cases and Parkinson's disease patients. **Acta Neuropathologica Communications**, v. 2, n. 1, p. 1–17, 2014.

DURRENBERGER, P. F. et al. Common mechanisms in neurodegeneration and neuroinflammation: a BrainNet Europe gene expression microarray study. **Journal of Neuronal Transmission**, v. 122, n. 7, p. 1055–1068, 2014.

FREEMAN, M. R. Specification and morphogenesis of astrocytes. **Science**, v. 330, n. 6005, p. 774–778, 2010.

GARCIA-ESPARCIA, P. et al. Complex deregulation and expression of cytokines and mediators of the immune response in Parkinson's disease brain is region dependent. **Brain Pathology**, v. 24, n. 6, p. 584–598, 2014.

GONZÁLEZ, H. et al. Neuroimmune regulation of microglial activity involved in neuroinflammation and neurodegenerative diseases. **Journal of Neuroimmunology**, v. 274, n. 1, p. 1–13, 2014.

HALLIDAY, G. M.; STEVENS, C. H. Glia: Initiators and progressors of pathology in

Parkinson's disease. **Movement Disorders**, v. 26, n. 1, p. 6–17, 2011.

HARTMANN, A. Postmortem studies in Parkinson's Disease. **Dialogues in Clinical Neuroscience**, v. 6, n. 3, p. 281–293, 2004.

HIGGINS, J.; GREEN, S. Chapter 22: Overview of reviews. Cochrane handbook for systematic reviews of interventions. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, v. 4, p. 187–235, 2011.

HINDLER, J. V. Ageing, neurodegeneration and Parkinson's disease. **Age and Ageing**, v. 39, n. 2, p. 156–161, 2010.

HURLEY, M. J. et al. Altered Expression of Brain Proteinase-Activated Receptor-2 , Trypsin-2 and Serpin Proteinase Inhibitors in Parkinson's Disease. **Journal of Molecular Neuroscience**, v. 57, n. 1, p. 48–62, 2015.

IMAMURA, K. et al. Distribution of major histocompatibility complex class II-positive microglia and cytokine profile of Parkinson's disease brains. **Acta Neuropathologica**, v. 106, n. 6, p. 518–526, 2003.

JAY, T. R. et al. Neuroinflammation and Neurodegenerative Diseases. In: PILLAI, J. A. (Ed.). **Neurodegenerative Diseases: Unifying Principales**. [s.l: s.n.]. p. 40–56.

KIELY, A. P. et al. A-synucleinopathy associated with G51D SNCA mutation: A link between Parkinson's disease and multiple system atrophy? **Acta Neuropathologica**, v. 125, n. 5, p. 753–769, 2013.

MCGEER, P. L. et al. Reactive microglia are positive for HLA-DR in the substantia nigra of Parkinson's and Alzheimer's disease brains. **Neurology**, v. 38, n. 8, p. 1285–1291, 1988.

MINGHETTI, L. Role of inflammation in neurodegenerative diseases. **Current Opinion in Neurology**, v. 18, n. 3, p. 315–321, 2005.

NAGATSU, T.; SAWADA, M. Biochemistry of post mortem brains in Parkinson's Disease: historical overview and future prospects. In: GERLACH, M. et al. (Eds.). **Neuropsychiatric Disorders An Integrative Approach**. [s.l: s.n.]. p. 113–120.

NEUROCHEMISTRY, J. O. F. Neurotransmitters and neurotrophic factors Lewy bodies and PD-linked genes. **Journal of Neurochemistry**, v. 139, n. S1, p. 27–58, 2016.

RANSOHOFF, R. M. How neuroinflammation contributes to neurodegeneration. **Science**, v. 353, n. 6301, p. 168–175, 2016.

RYAN, K. J. et al. NEURODEGENERATION A human microglia-like cellular model for assessing the effects of neurodegenerative disease gene variants. **Science Translational Medicine**, v. 7635, n. December, p. 1–13, 2017.

RYDBIRK, R. et al. Neurobiology of Disease Cytokine profile in the prefrontal cortex of Parkinson's Disease and Multiple System Atrophy patients. **Neurobiology of Disease**, v. 106, p. 269–278, 2017.

SANCHEZ-GUAJARDO, V. et al. Neuroimmunological processes in Parkinson's disease and their relation to α -synuclein: microglia as the referee between neuronal processes and peripheral immunity. **ASN Neuro**, v. 5, n. 2, p. 113–139, 2013.

SANTORO, M. et al. In-vivo evidence that high mobility group box 1 exerts deleterious effects in the 1-methyl-4-. **Neurobiology of Disease**, n. February, 2016.

SATHE, K. et al. S100B is increased in Parkinson's disease and ablation protects against MPTP-induced toxicity through the RAGE and TNF- α pathway. **Brain**, v. 135, n. 11, p. 3336–3347, 2012.

SAWADA, M.; IMAMURA, K.; NAGATSU, T. Role of cytokines in inflammatory process in Parkinson's disease. In: SPRINGER, V. (Ed.). . **Parkinson's Disease Related Disorders. Journal of Neuronal Transmission**. [s.l: s.n.]. p. 373–374.

SETH, P.; KOUL, N. Astrocyte, the star avatar: redefined. **Journal of Biosciences**, v. 33, n. 3, p. 405–421, 2008.

TIWARI, P. C. The potential role of neuroinflammation and transcription factors in Parkinson disease. **Dialogues in Clinical Neuroscience**, v. 19, n. 1, p. 71–80, 2017.

TONG, J. et al. Neurobiology of Disease Low levels of astroglial markers in Parkinson's disease : relationship to α -synuclein accumulation. **Neurobiology of Disease**, v. 82, p. 243–253, 2015.

APÊNDICE I – DESCRIÇÃO DOS GENES

GENES	DESCRIÇÃO
TLR2, TLR4, TLR7	A proteína codificada por estes genes é um membro da família do receptor TLR que desempenha papel fundamental no reconhecimento de patógenos e ativação da imunidade inata. A ativação de TLRs leva a uma regulação positiva das vias de sinalização para modular a resposta inflamatória. Os vários TLRs exibem diferentes padrões de expressão.
IL6	Codifica uma citocina que funciona na inflamação e na maturação de células B. A proteína codificada por este gene é produzida principalmente em locais de inflamação aguda e crônica, induzindo resposta inflamatória transcrional.
IL6ST	Media os sinais que regulam a resposta imune. A proteína codificada por este gene é um transdutor de sinal compartilhado por muitas citocinas, funcionando como parte do complexo receptor de citocinas.
IL8	Este gene é membro da família das quimiocinas CXC, e sua proteína é um importante mediador de respostas inflamatórias.
IL1B	Este gene faz parte da família IL1 e a proteína que ele codifica é membro da família das citocinas da IL1, é um importante mediador de respostas inflamatórias.
IL10	A proteína codificada por este gene é uma citocina produzida por monócitos e linfócitos, tem efeito na imunorregulação e inflamação. Mutações nesse gene estão associadas a maior suscetibilidade a doenças.
IL10RA	A proteína que este gene codifica medeia o sinal imunossupressor da IL10, inibindo a síntese de citocinas pró-inflamatórias, promovendo a sobrevivência de células mieloides progenitoras.
IL10RB	Este gene é um receptor de citocinas classe II, e a proteína que ele codifica pertence à família de receptores de citocinas.
C3AR1	A proteína codificada por este gene é acoplada a proteína G para C3a, que é uma anafilatoxina liberada durante a ativação do sistema complemento.
TNF	Este gene codifica uma citocina pró-inflamatória que pertence à superfamília do TNF, é secretada principalmente por macrófagos. TNFRSF1A é um de seus receptores.
TNFRSF1A	Mutações nesse gene causam afecções neurológicas e a proteína que ele codifica desempenha função na apoptose e inflamação.
ITGB2	Defeitos nesse gene provocam déficit de adesão leucocitária e a proteína que ele codifica tem papel na resposta imune.
CTSC	Este gene codifica uma enzima que coordena a ativação de serinas e proteases em células do sistema imune.
INPP5D	Mutações neste gene estão associadas a defeitos no sistema imune e a proteína que ele codifica é um regulador negativo de células mieloides.
HLA-DRA e HLA-DRB4	Pertencem a cadeia beta de HLA classe II, são heterodímeros que constituem de uma cadeia alfa e uma beta. Desempenham função no sistema imune, apresentando peptídeos derivados de proteínas extracelulares e são expressas em células apresentadoras de antígenos (ex: macrófagos).
IL13RA1	A proteína codificada é uma subunidade do receptor da IL13, que regula negativamente a atividade dos macrófagos, inibindo a produção de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias.
TIMP1	A expressão desse gene induz respostas a citocinas e a proteína que ele codifica está envolvida na degradação da matriz extracelular.
TNFRSF14	A proteína que este gene codifica atua em vias de transdução de sinais que ativam a resposta imune e inflamação. O gene é um membro da superfamília de receptores TNF.
TYROBP	A proteína codificada por este gene desempenha função na transdução de sinais, mielinização cerebral e inflamação.

S100B	Expressão alterada desse gene é presente em várias afecções neurológicas. A proteína codificada é envolvida na regulação de vários processos celulares.
PAR2	Este gene codifica um membro da família de proteínas do receptor 1 acoplado à proteína G. A proteína codificada é importante na resposta inflamatória e na imunidade inata e adaptativa.
BDNF	A expressão deste gene é reduzida em indivíduos com DP. A ligação da proteína codificada por este gene ao seu receptor promove a sobrevivência neuronal no cérebro adulto.
CD14	A proteína codificada por este gene é um antígeno de superfície que é preferencialmente expresso em monócitos e macrófagos, fazendo parte da imunidade inata.
CD18/ITGB2*	A proteína deste gene desempenha função na resposta imune e defeitos nesse gene provocam deficiência de adesão leucocitária.
GFAP	A proteína que este gene codifica faz parte dos filamentos intermediários de astrócitos maduros, é usada como marcador para distinguir astrócitos de outras células da glia durante o desenvolvimento.
GSK3B	Defeitos nesse gene são associados à DP.
MBP	A proteína relacionada a este gene é presente no sistema imunológico, e constitui a bainha de mielina dos oligodendrócitos e das células de Schwann.
NFKBIA	Este gene codifica um membro da família do inibidor NF-kappa-B, e sua proteína se relaciona com dímeros REL, para inibir os complexos NF-kappa-B/REL, que estão envolvidos nas respostas inflamatórias.
NR4A2	Mutação nesse gene é relacionada a distúrbios referentes à disfunção dopaminérgica, incluindo DP. A proteína codificada atua como fator de transcrição.
RBFOX3	Mutações nesse gene estão relacionadas a afecções neurológicas. O antígeno produzido por esse gene é utilizado como marcador de neurônios pós-mitótico.
RELA	NF-kappa-B é composto de NFKB1 ou NFKB2 ligado a REL, RELA ou RELB. É envolvido em vários processos biológicos.
S100B	Defeito nesse gene está envolvido com várias afecções neurológicas, incluindo DP.
SNCA	Defeitos nesse gene estão envolvidos na patogênese da DP.

*Mesmo gene, que possui variação de siglas. CXC: Cisteína Animoácido Cisteína; DP: Doença de Parkinson; HLA: Antígeno Leucocitário Humano; IL1: Interleucina 1; IL10: Interleucina 10; IL13: Interleucina 13; NF-kappa-B: Fator Nuclear kappa-B; NFKB1: Nuclear Factor kappa B subunit 1; NFKB2: Nuclear Factor kappa B subunit 2; REL: REL proto-oncogene NK-kB subunit; RELA: RELA proto-oncogene NF-kB subunit; RELB: RELB proto-oncogene NF-kB subunit; TLR: Toll-like receptor; TNF: Fator de Necrose Tumoral; TNFRSF1A: TNF receptor superfamily member 1A. Fonte: *National Center for Biotechnology Information*. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Acesso em: Março a Junho de 2018.

APÊNDICE II – ABREVIATURAS

GENE	NOME	GENE	NOME
ALOX5AP	<i>Arachidonate 5-lipoxygenase activating protein</i>	IL10RB	<i>Interleukin 10 receptor subunit beta</i>
BDNF	<i>Brain Derived Neurotrophic fator</i>	INPP5D	<i>Inositol polyphosphate-5-phosphatase D</i>
CD14	<i>CD14 molecule</i>	ITGB2*	<i>Integrin subunit beta 2</i>
CD68*	<i>Integrin subunit beta 2</i>	MBP	<i>Myelin basic protein</i>
CLEC7A	<i>C-type lectin domain family 7</i>	NEFL	<i>Neurofilament light</i>
CSF1R	<i>Colony stimulating factor 1 receptor</i>	NFKBIA	<i>NFKB inhibitor alpha</i>
CSF3R	<i>Colony stimulating factor 3 receptor</i>	NR4A2	<i>Nuclear receptor subfamily 4 group A member 2</i>
CST7	<i>Cystatin F</i>	NTRK2	<i>Neurotrophic receptor tyrosine kinase 2</i>
CTSC	<i>Cathepsin C</i>	OLIG1	<i>Oligodendrocyte transcription factor 1</i>
CTSS	<i>Cathepsin S</i>	OLIG2	<i>Oligodendrocyte transcription factor 2</i>
CYBA	<i>Cytochrome b-245 alpha chain</i>	PAR2	<i>Protease-activated receptor 2</i>
CYP2J2	<i>Cytochrome P450 family 2 subfamily J member 2</i>	RBFOX3	<i>RNA binding fox-1 homolog 3</i>
C1QL1	<i>Complement C1q like 1</i>	RELA	<i>RELA proto-oncogene, NF-kB subunit</i>
C1QTNF7	<i>C1q and TNF related 7</i>	RET	<i>RET proto-oncogene</i>
C3AR1	<i>Complement C3a receptor 1</i>	SNCA	<i>Synuclein alpha</i>
GDNF	<i>Glial cell derived neurotrophic fator</i>	SST	<i>Somatostatin</i>
GFAP	<i>Glial fibrillary acidic protein</i>	S100B	<i>S100 calcium binding protein B</i>
GFRA1	<i>GDNF family receptor alpha 1</i>	TGFβ1	<i>Transforming growth factor beta 1</i>
GSK3B	<i>Glycogen synthase kinase 3 beta</i>	TGFβ2	<i>Transforming growth factor beta 2</i>
HLA-DRA	<i>Major histocompatibility complex, class II, DR alpha</i>	TIMP1	<i>TIMP metalloproteinase inhibitor 1</i>
HLADRB4	<i>Major histocompatibility complex, class II, DR beta 4</i>	TLR2	<i>Toll like receptor 2</i>
IL1B	<i>Interleukin 1 beta</i>	TLR4	<i>Toll like receptor 4</i>
IL6	<i>Interleukin 6</i>	TLR7	<i>Toll like receptor 7</i>
IL6ST	<i>Interleukin 6 signal transducer</i>	TNF	<i>Tumor necrosis factor</i>
IL8	<i>Interleukin 8</i>	TNFRSF1A	<i>TNF receptor superfamily member 1A</i>
IL10	<i>Interleukin 10</i>	TNFRSF14	<i>TNF receptor superfamily member 14</i>
IL10RA	<i>Interleukin 10 receptor subunit alpha</i>	TYROBP	<i>TYRO protein tyrosine kinase binding protein</i>
IL13RA1	<i>Interleukin 13 receptor subunit alpha 1</i>		

*Mesmo gene, que possui variação de siglas; Fonte: *National Center for Biotechnology Information*. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Acesso em: Março a Junho de 2018.