



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE MORFOLOGIA E FISIOLOGIA ANIMAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL TROPICAL**

**ESTUDO DO PERFIL DE GENES DE REPARO DO DNA EM PACIENTES
COM A DOENÇA DE PARKINSON.**

SAMANTHA AMORIM CÂNDIDO

RECIFE

2020



UFRPE

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE MORFOLOGIA E FISIOLOGIA ANIMAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL TROPICAL**

SAMANTHA AMORIM CÂNDIDO

**ESTUDO DO PERFIL DE GENES DE REPARO DO DNA EM PACIENTES
COM A DOENÇA DE PARKINSON.**

Dissertação apresentada para o Programa de Pós-graduação em Ciência Animal Tropical da Universidade Federal Rural de Pernambuco (PGCAT-UFRPE), como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal Tropical.

Orientador: Prof^o. Dr^o. Paulo Roberto Eleutério De Souza

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a Maria de Mascena Diniz Maia

RECIFE
2020

SAMANTHA AMORIM CÂNDIDO

**ESTUDO DO PERFIL DE GENES DE REPARO DO DNA EM PACIENTES
COM A DOENÇA DE PARKINSON.**

Aprovado em:

BANCA EXAMINADORA:

Profº Drº Paulo Roberto Eleutério de Souza
Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE
Presidente da Banca Avaliadora

Profº Drº Pabyton Gonçalves Cadena
Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE
Membro Interno – Titular

Profª Drª Fernanda Cristina Bezerra Leite
Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE
Membro Externo – Titular

Profª Drª Maria de Mascena Diniz Maia
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Suplente

Profº Drº Nadja Maria Jorge Asano
Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE
Suplente

RECIFE
2020

*Nas grandes batalhas da vida, o primeiro passo para
a vitória é o desejo de vencer.”*

Mahatma Gandhi

Agradecimentos

À minha família, em especial aos meus pais, Maria Eliana de Amorim Cândido e Fábio José Lira Cândido, os responsáveis pela pessoa que me tornei, o alicerce de todas as minhas conquistas e os detentores da minha admiração e amor eterno.

Ao meu esposo, Leandro Augusto de Souza Junior, meu melhor amigo, companheiro, meu maior incentivo para continuar caminhando em busca dos meus sonhos e o responsável pelos meus maiores sorrisos e meu amor mais sincero.

Ao laboratório Genoma, meu orientador Paulo Roberto Eleutério de Souza e aos colegas de trabalho Laura Maria, Elaine Bandeira, Carlos Campos e Erinaldo Santos, pelas oportunidades concedidas, pelo apoio e conhecimentos compartilhados.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco que me acolheu durante estes oito anos, me proporcionando grandes experiências e ensinamentos. E a todos os grandes professores e professoras que me deram o privilégio de poder compartilhar de seus conhecimentos.

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE)

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	8
LISTA DE TABELAS.....	10
RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	12
1. INTRODUÇÃO.....	13
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	15
2.1 Doença de Parkinson.....	15
2.2 Epidemiologia.....	16
2.3 Fisiopatologia.....	17
2.4 Sintomatologia e diagnóstico.....	19
2.5 Tratamento.....	25
2.6 Estresse oxidativo.....	28
2.7 Via de reparo por excisão de bases (BER).....	32
2.7.1 Mecanismos de atuação da BER.....	33
2.8 Genes de reparo na doença de Parkinson.....	37
2.8.1 Gene APE1.....	37
2.8.2 Gene XRCC1.....	41
OBJETIVOS.....	45
REFERÊNCIAS.....	46
ARTIGO.....	64

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Figura esquemática dos tipos de medicamentos farmacológicos empregados na terapêutica da DP.....	26
Figura 2 – Metabolização do oxigênio (O ₂) na mitocôndria a partir de sua redução tetravalente até a formação de H ₂ O.....	29
Figura 3 – Reações de formação do radical hidroxila (OH•). i. Peróxido de hidrogênio com cobre; ii. Reação de Fenton; iii. Reação de Haber-Weiss.....	30
Figura 4. Danos no DNA e respostas de reparo. Vias de reparo do DNA (em cima) e exemplos de danos no DNA correspondentes (em baixo). APTX, aprataxina; BER, reparo de excisão de base; DSBR, reparo de quebra de fita dupla de DNA; HR, recombinação homóloga; MGMT, O ⁶ metilguanina-DNA metiltransferase; MMR, reparo de incompatibilidade; NER, reparo por excisão de nucleotídeo; NHEJ, união final não-homóloga; PNKP, polinucleotídeo-quinase 3-fosfatase; SSBR, reparo de quebra de fita simples de DNA; SSBs, quebras de fita simples de DNA; TC-NER, NER acoplado à transcrição; TDP1, tirosil-DNA fosfodiesterase 1; G-Me, O ⁶ -etilguanina; T ^T , dímero de timina; Eu inosina; U, uracilo; Vá, 8-oxoguanina.....	34
Figura 5 – Esquema simplificado das etapas do reparo por excisão de bases (BER) e as respectivas proteínas envolvidas.....	36
Figura 6 – Representação esquemática do mecanismo das sub-vias de curta distância (SN-BER) e longa (LP-BER) de reparo por excisão de base (BER). A endonucleaseapurínica/pirimidínica 1 (APE1) / fator efetor redox 1 (Ref-1) funciona como uma endonuclease AP no SN-BER, iniciada pela DNA glicosilase (DG) monofuncional e como uma fosfodiesterase 30 na LP-BER, iniciada pela bifuncional DG. Pol b, XRCC1 e ligase III são necessárias para o SN-BER realizar o reparo de SN, enquanto antígeno nuclear de célula em proliferação (PCNA), Pol d / e, endonuclease de retalho 1 (FEN-1) e ligase I são necessários para que o LP-BER conduza o reparo multinucleotídeo em células de mamíferos.....	38
Figura 7 – Capacidade multifuncional da endonuclease AP humana (APE1) de atuar na via de reparo por excisão de bases (BER), regulação do fator de transcrição e sinalização oxidativa.....	39
Figura 8 – Atividade da APE1 endonuclease (preto) e exonuclease (azul) na verificação de incompatibilidades e remoção de danos (vermelho) na região na 3'.....	40

Figura 9 – Localização do gene XRCC1 no cromossomo 19 (19q13.2).....	42
Figura 10 – Demonstração da ligação das proteínas, envolvidas na via BER, no domínio correspondente (NTD, BRCT1 e BRCT2) do gene XRCC1.....	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Critérios do Banco de Cérebros da Sociedade de Parkinson do Reino Unido para o diagnóstico clínico da Doença de Parkinson.....	22
Tabela 2. Escala de Hoehn e Yahr, determinando os estágios (1-5) de progressão da doença de acordo com os seus sinais clínicos.....	24

ARTIGO

Tabela 1. Distribution of the genotypic frequencies of the <i>APE1</i> rs1130409 and <i>XRCC1</i> rs25487 gene polymorphisms in patients treated with high and low doses of Levodopa.....	79
Tabela 2. Univariate analyzes of the ratio of <i>APE1</i> rs1130409 and <i>XRCC1</i> rs25487 on the occurrence of motor fluctuation, dyskinesia and visual hallucination in patients with Parkinson's disease.....	80
Tabela 3. Multiple Poisson regression model adjusted for patients treated with high or low doses of Levodopa and clinical variables, polymorphisms <i>APE1</i> rs1130409 and <i>XRCC1</i> rs25487.....	81

RESUMO

A doença de Parkinson (DP) é a segunda desordem neurodegenerativa mais comum entre a população idosa, não possui cura e a terapia ouro para os sintomas motores da doença é a levodopa (L-DOPA). A longo prazo a L-DOPA pode levar ao surgimento de sintomas adversos, como flutuação motora, discinesia e alucinações visuais. E estudos demonstram uma possível associação entre o estresse oxidativo (OE) e a terapia com L-DOPA. A via de reparo por excisão de bases (BER) é responsável por controlar os danos causados pelo OE, sendo as proteínas APE1 e XRCC1 fundamentais neste processo. Variações nos genes que codificam estas proteínas podem influenciar na eficiência do reparo, tornando o cérebro suscetível aos danos causados pelo OE. Desta forma, o presente estudo objetivou avaliar a relação entre a presença dos polimorfismos nos genes Asp148Glu e Arg399Gln dos genes *APE1* e *XRCC1*, respectivamente, com o surgimento de flutuação motora, discinesia e alucinações visuais decorrentes da resposta farmacológica a L-DOPA, em pacientes com a DP. Foram avaliados 110 pacientes submetidos à terapia com L-DOPA por um período de 5 anos. Os pacientes foram estratificados em dois grupos de acordo com a dosagem diária de L-DOPA, grupo I tomando ≤ 600 mg/dia e o grupo II tomando >600 mg/dia. Os polimorfismos Asp148Glu e Arg399Gln dos genes *APE1* e *XRCC1*, foram analisados através da técnica de qPCR e PCR-RFLP, respectivamente. A análise de regressão logística demonstrou associação com maior duração da terapia com L-DOPA (PR 1,1; IC -1,1-1,19; $p = 0,001$), surgimento de flutuação motora (PR 1,7; IC 1,3- 2,2; $p = 0,001$) e a presença do genótipo polimórfico AA do gene *XRCC1* (PR 1,54; IC 1,04-2,27; $p = 0,028$). Além da presença do genótipo GA para o gene *XRCC1* conferindo proteção em pacientes tratados com altas doses de L-DOPA (PR 0,7; IC 0,5-0,9; $p = 0,022$). Nossos dados sugerem que esta variação no gene *XRCC1* pode influenciar na resposta farmacológica da L-DOPA em pacientes com a DP, enquanto que a variação no gene *APE1* não parece influenciar no tratamento.

ABSTRACT

Parkinson's disease (PD) is the second most common neurodegenerative disorder among an elderly population, it has no cure and gold therapy for motor symptoms of the disease is levodopa (L-DOPA). In the long term, L-DOPA can lead to adverse symptoms, such as motor fluctuation, dyskinesia and visual hallucinations. And studies show a possible association between oxidative stress (OE) and L-DOPA therapy. The base excision repair (BER) pathway is responsible for controlling the damage caused by OE, the APE1 and XRCC1 proteins being fundamental in this process. Variations in the genes that encode these proteins can affect the efficiency of the repair, making the brain susceptible to damage caused by OE. Thus, the present study aimed to evaluate the relationship between the presence of polymorphisms in the Asp148Glu and Arg399Gln genes of the *APE1* and *XRCC1* genes, respectively, with the appearance of motor fluctuation, dyskinesia and visual hallucinations with response of the pharmacological response to L-DOPA, in PD patients. 110 patients were obtained from L-DOPA therapy over a period of 5 years. Patients were stratified into two groups according to the daily dosage of L-DOPA, group I taking $\leq 600\text{mg} / \text{day}$ and group II taking $> 600\text{mg} / \text{day}$. The Asp148Glu and Arg399Gln polymorphisms of the *APE1* and *XRCC1* genes were performed using the qPCR and PCR-RFLP technique, respectively. The analysis of logistic regression association with longer duration of therapy with L-DOPA (PR 1.1; CI -1.1-1.19; $p = 0.001$), appearance of motor fluctuation (PR 1.7; CI 1.3-2.2; $p = 0.001$) and the presence of the polymorphic genotype AA of the *XRCC1* gene (PR 1.54; CI 1.04-2.27; $p = 0.028$). In addition to the presence of the GA genotype for the *XRCC1* gene providing protection in patients treated with high doses of L-DOPA (PR 0.7; CI 0.5-0.9; $p = 0.022$). Our data occurred that this variation in the *XRCC1* gene can influence the pharmacological response of L-DOPA in patients with PD, whereas the variation in the *APE1* gene does not seem to influence the treatment.

INTRODUÇÃO

A doença de Parkinson (DP) é a segunda desordem neurodegenerativa mais comum entre a população acima dos 60 anos de idade. Sua prevalência mundial é de cerca de 1% e no Brasil acomete aproximadamente 200 mil pessoas (MUNCHAU, 2000). É uma neuropatologia degenerativa, progressiva e crônica, responsável por causar a perda de neurônios dopaminérgicos na substância negra pars compacta (SNpc) gerando um conjunto de sintomas motores como bradicinesia, tremor e instabilidade postural, ocasionando graves prejuízos na qualidade de vida dos pacientes (ALDAKHEEL; KALIA; LANG, 2014; BRAAK et al., 2003; KALIA; SANKAR; LOZANO, 2013). É uma doença idiopática e os fatores relacionados ao seu surgimento ainda são pouco esclarecidos, o que configura um fator agravante no desenvolvimento de terapias direcionadas a cura desta patologia (BJÖRKLUND; DUNNETT, 2007).

As medidas terapêuticas atuais apenas permitem o alívio dos sintomas motores e são baseadas no emprego de fármacos que visam repor os níveis de dopamina cerebral, sendo a L-dihidroxitifenilalanina (L-DOPA), um precursor dopaminérgico, o medicamento padrão ouro no tratamento da DP (GOLDSTEIN, 2009). Entretanto, o uso prolongado desta terapia farmacológica pode levar ao surgimento de adversos, como discinesias, flutuação motora e alucinações visuais (BRUNTON; BRUNTON; CHABNER, 2012).

CALABRESE et al. (2005) demonstraram que algumas condições celulares e moleculares podem estar envolvidas na patogênese da DP, das quais se destacam o próprio envelhecimento celular, presença de agregados de α -sinucleína, disfunções mitocondriais, apoptose e o estresse oxidativo. Cérebros *post-mortem* de pacientes diagnosticados com a DP tendem a apresentar altos níveis de espécies reativas de oxigênio (ROS) derivadas do metabolismo do oxigênio na mitocôndria das células neuronais, este acúmulo de ROS no cérebro provoca a condição de estresse oxidativo responsável por induzir danos na dupla fita do DNA, modificações de bases e aberrações cromossômicas (KIM et al., 2012).

A demanda de oxigênio e a característica pós-mitótica do cérebro, o tornam mais predispostos aos danos causados pelo estresse oxidativo. Além disto, estudos demonstraram que o próprio metabolismo da dopamina na SNpc e altas concentrações de drogas do tratamento da DP podem influenciar na formação de ROS (ALI;

BINIENDA; IMAM, 2011). O mecanismo responsável por atuar na manutenção dos neurônios expostos ao estresse oxidativo é a via de reparo por excisão de bases (BER). A BER atua a partir de um conjunto de proteínas encarregadas de reconhecer, reparar e/ou sinalizar para outras proteínas as lesões genômicas. Dentre todas as proteínas envolvidas na BER, a APE1 e XRCC1, se destacam pelo seu papel fundamental no processamento e reparo de danos (ZHARKOV, 2008).

A endonuclease apurínica/pirimidínica 1 (APE1) é uma proteína multifuncional, caracterizada por possuir dois sítios operacionais distintos. O primeiro atua como uma endonuclease responsável por reparar os sítios abásicos (AP) originados pela ação do estresse oxidativo ou alquilação do DNA. E o outro desempenha uma função redox, atuando na ligação de fatores de transcrição como p53, NF- κ B, HIF-1, Myb, PAX, Egr-1 e AP-1 (DYRKHEEVA; LEBEDEVA; LAVRIK, 2016). Já a proteína de complementação cruzada de reparo de raios-X 1 (XRCC1) atua como sinalizadora da cascata enzimática da via BER, sendo indispensável no recrutamento das proteínas que iniciam e finalizam (glicosilases, APE1, DNA ligase IIIa, DNA polimerase β , PARP1 e PARP 2) o processo de reparo (CALDECOTT, 2019a).

Alguns estudos demonstraram que variantes polimórficas nos genes que codificam as proteínas APE1 e XRCC1 influenciam na eficácia do reparo, através da alteração de endonucleases e inibição da comunicação entre as proteínas, gerando um risco aumentado de desenvolver neuropatologias (GENCER et al., 2012; HADI, 2000; VODICKA, 2003). Entretanto, existem poucos estudos que avaliem a associação destas variantes com a doença de Parkinson, e até o momento não existem estudos que as relacionem com o surgimento de efeitos adversos decorrentes da progressão desta patologia. O que fundamenta a proposta deste estudo em avaliar a associação dos polimorfismos de *APE1* (rs1130409) e *XRCC1* (rs25487) com a progressão e o surgimento de sintomas adversos na DP, visando contribuir com dados que orientem a promoção de terapias direcionadas e aumentem a qualidade de vida dos pacientes.

1. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Doença de Parkinson

A doença de Parkinson (DP) foi descrita pela primeira vez em 1817, pelo médico inglês James Parkinson, como uma síndrome neurológica inicialmente denominada como “paralisia agitante” (LAMÔNICA; FUKUSHIRO; MIGUEL, 1997). Inicialmente observou-se que consistia em uma doença de evolução lenta, caracterizada por movimentos trêmulos involuntários, alteração da marcha, tendência a inclinar o corpo para frente e redução do tônus muscular, afetando os sentidos e o intelecto (PARKINSON, 2002). Após cinco décadas o neurologista francês Jean-Martin Charcot, ao desenvolver pesquisas sobre a “paralisia agitante”, além de sugerir sua renomeação para doença de Parkinson, a distinguiu da Esclerose Múltipla (EM) pelo tipo de tremor, definiu os quatro sinais cardinais da doença, apresentou parâmetros para o diagnóstico e o primeiro tratamento farmacológico eficiente no tratamento do tremor, utilizando um precursor dos alcaloides de beladona que possuem atividade anticolinérgica (GOETZ, 2011).

De modo geral, a DP corresponde a uma doença neurodegenerativa, crônica e progressiva que afeta o Sistema Nervoso Central (SNC), sendo caracterizada pela redução de neurônios dopaminérgicos na substância negra compacta (SNpc) e presença de disfunção monoaminérgica múltipla que abrange os sistemas dopaminérgicos, colinérgicos, noradrenérgicos e serotoninérgicos, acarretando em distúrbios de movimento como rigidez, acinesia, bradicinesia, tremor de repouso e instabilidade postural, além de sintomas não motores que podem anteceder ao diagnóstico da DP em quase uma década (MCLAUGHLIN et al., 2014; TEIVE, 2019). Entretanto, cerca de 90% dos casos de DP são esporádicos, ou seja, não demonstram uma herança genética familiar e possuem etiologia idiopática, sendo seu surgimento associado a um conjunto de fatores ambientais e genéticos ainda não esclarecidos (KALIA; LANG, 2015; PEREIRA; GARRETT, 2010; SOUZA et al., 2001).

Estudos vêm sendo desenvolvidos no sentido de elucidar os mecanismos que influenciam no processo neurodegenerativo da DP, sendo o processo de envelhecimento a causa mais óbvia na vulnerabilidade de neurônios dopaminérgicos, tendo em vista que o envelhecimento acarreta em déficits naturais dos processos celulares (ALI; BINIENDA; IMAM, 2011; HOROWITZ; GREENAMYRE, 2010; KIM et al., 2012).

Porém, a DP se apresenta como uma patologia multifatorial, podendo ser acometida também por fatores externos como neurotoxinas ambientais, habitação em zona rural, utilização de água de poço e exposição a pesticidas, além de fatores internos como anormalidades mitocondriais, defeitos na oxidação fosforilativa, ausência de fatores neurotróficos, excesso de ferro livre, estresse oxidativo e mutações genéticas (DE LAU; BRETELER, 2006; SOUZA et al., 2001; TEIVE, 2019).

2. 2 Epidemiologia

A doença de Parkinson é a segunda desordem neurodegenerativa mais comum entre a população idosa no mundo, perdendo apenas para a doença de Alzheimer (DE LAU; BRETELER, 2006). Possui uma variável quanto ao surgimento de suas manifestações clínicas, podendo ocorrer de forma precoce ou tardia, tendo como média de início os 60 anos idade (VAN DER VEEN; TANG, 2015). Considerada como uma doença cosmopolita pela portaria Nº 228 do Ministério da Saúde, a DP afeta ambos os sexos, todas as classes econômicas e raças, sendo a sua abrangência determinada pela exposição ambiental e hábitos culturais da população. Estudos têm demonstrado que negros e asiáticos são menos predispostos a desenvolver a DP do que caucasianos, provavelmente pelo diferencial na expectativa de vida, e que a doença possui uma frequência de acometimento maior no sexo masculino (DE LAU; BRETELER, 2006).

No Brasil, a DP não é determinada como uma doença de notificação compulsória, o que proporciona apenas dados estimados de sua prevalência, o estudo mais recente apontou que há cerca de 220 mil pacientes com a doença (IBGE, 2013). Em países industrializados esta prevalência varia entre 0-3% na população geral, com aproximadamente 1675.703 casos por 100.000 habitantes e 1% na população acima de 60 anos, apresentando cerca de 31.970 casos por 100.000 habitantes. Nos países mais populosos do mundo a prevalência de indivíduos com DP com mais de 50 anos é de aproximadamente 4,1 a 4,6 milhões, com perspectivas de duplicar para 8,7 a 9,3 milhões até 2030 (WIRDEFELDT et al., 2011). Já para indivíduos de 80 a 85 anos de idade esta prevalência sobe para 8,5%, aumentando para 14,3% em indivíduos acima de 85 anos, com estimativas de que 36 mil novos casos ocorram anualmente no Brasil (FIOCRUZ, 2008; SOUZA et al., 2011).

Os dados de incidência variam principalmente de acordo com o aumento da idade, correspondendo a aproximadamente 3% em pacientes com idade igual ou superior a 64 anos (SOUZA et al., 2014). Os casos notificados da DP para 2011 foram de 16-19 por 100.000 pessoas ao ano, porém estudos de incidência da DP direcionados à população acima de 60 anos demonstram cerca de 410-529 casos por 100.000 pessoas ao ano, havendo uma redução destas estimativas na população próxima aos 80 anos, devido principalmente ao acúmulo de doenças próprias do processo de envelhecimento que dificultam o diagnóstico da doença de Parkinson (DE LAU; BRETELER, 2006; WIRDEFELDT et al., 2011).

A doença de Parkinson tende a expandir principalmente pelo aumento da expectativa de vida da população brasileira, que demonstrou um crescimento de 21% no número de indivíduos acima dos 65 anos (SOUZA et al., 2001). Dados do IBGE estimaram que em 2015 a população total de idosos fosse de 34,5% (16.143.832) com probabilidade de converter-se para 206,16% (54.411.600) em 2060, um aumento de 361,81%, o que representa um aumento de 440,80% (881.457) no número de indivíduos diagnosticados com a DP em 2060 (IBGE, 2013). Levando em consideração que a DP é progressiva e não possui cura, estes dados demonstram uma grande preocupação, tendo em vista as exigências de saúde relativas à doença. Pacientes diagnosticados com Parkinson exigem do Sistema Único de Saúde (SUS) encargos permanentes de consultas, internamentos, medicamentos e acompanhamento domiciliar, além da incapacidade de contribuir produtivamente para o Estado (BOVOLENTA; FELÍCIO, 2016).

1.3 Fisiopatologia

A característica mais proeminente na determinação da DP é a perda progressiva de neurônios dopaminérgicos na substância negra pars compacta (SNpc) e a partir da perda de mais de 60% destes neurônios que surgem os sinais cardinais da doença (DICKSON et al., 2009; TEIVE, 2019). As vias dopaminérgicas envolvidas no processo neurodegenerativo da DP são a nigroestriatal, mesolímbica e mesocortical. A progressão da doença afeta de forma gradual estas vias, iniciando pela nigroestriatal responsável por prejudicar as funções motoras ocasionando as principais manifestações clínicas da doença, o tremor, rigidez e bradicinesia. As vias subsequentes estão mais comumente

associadas a atividades não motoras, a via mesolímbica sob as condições patológicas da DP provocam transtornos de comportamento, aprendizagem, memória e perda da sensação de prazer. Já a mesocortical altera os estímulos de atenção, podendo provocar demência, psicose e hiperatividade (AARSLAND; ALVES; LARSEN, 2005).

A região responsável pelo controle dos movimentos e da aprendizagem no cérebro são os núcleos de base (NB), localizado no encéfalo. São constituídos por estruturas subcorticais do telencéfalo, diencéfalo e mesencéfalo (núcleo caudado, putâmen, globo pálido, núcleo subtalâmico e SN), atuando de forma interligada com outros circuitos que envolvem os núcleos subtalâmico, ventrais e a substância negra (MUTARELLI; OMURO; ADONI, 2006). O principal neurotransmissor do NB é a dopamina, que atua como um fator determinante no funcionamento correto deste circuito e coordena principalmente os movimentos inconscientes. Quando ocorre a perda deste neurotransmissor pela DP a transdução de sinal é prejudicada, ocasionando os sintomas motores da doença (MINK, 2003).

Além disto, evidências tem demonstrado que o déficit do sistema dopaminérgico na via nigroestriatal não a única região afetada no processos neurodegenerativo da DP, o que demonstra que a sua fisiopatologia é complexa e envolve várias estruturas e funções do SNC (NICHOLSON; PEREIRA; HALL, 2002). Já se sabe que regiões como bulbo olfatório, nucleo basal de Meynert, locus coeruleus, núcleo dorsal do vago, córtex cerebral e o trato digestivo também estão associadas com a DP (SHANNON et al., 2012). Neurotransmissores referentes aos sistemas noradrenérgico, serotoninérgico e colinérgico são apresentados como potenciais desencadeadores dos sintomas da DP. O sistema noradrenérgico está associado a regiões do SNC, como o locus coeruleus e o núcleo dorsal do vago, hipotalâmico supraóptico e paraventricular, onde foi observada a perda de 50 a 80% de neurônios. Nos sistemas serotoninérgico e colinérgico, ocorre a perda de neurônios no núcleo dorsal de rafe, de 57,8% e cerca de 60%, respectivamente (BRAAK; BRAAK, 2000).

A presença de corpos de Lewy, ainda é o marcador mais preciso da progressão da DP, e correspondem a agregados proteicos citoplasmáticos formados no mesencéfalo, mais precisamente na substância negra. Estas estruturas são geradas por uma resposta protetiva das células neuronais quando expostas a um meio altamente citotóxico (KALIA; LANG, 2015). A DP apresenta agregados proteicos de α -sinucleína,

sintetizados pelo gene SNCA, que possui uma mutação descrita como fator de predisposição à DP monogênica. Estas inclusões citoplasmáticas são comumente observadas no cérebro, porém devido sua relação com a progressão da DP, a α -sinucleína pode ser identificada ainda na medula espinhal e sistema nervoso periférico (GOLDMAN et al., 2012).

Em relação às características histopatológicas da DP, o estudo de Braak et al (2002) demonstrou que a progressão da doença pode ser dividida em seis estágios determinados pela região afetada e as características clínicas correspondentes. Este estudo utilizou neuromarcadores específicos para identificação da migração da α -sinucleína durante o desenvolvimento da DP, observando que o estágio I atinge o núcleo motor dorsal dos nervos glossofaríngeos e vago, zona reticular intermediária e núcleo olfatório; o estágio II progride para os núcleos de rafe, núcleo gigantocelular e locus coeruleus; o estágio III afeta a substância negra pars compacta no mesencéfalo; os estágios IV e V comprometem regiões do prosencéfalo, mesocortéx temporal e neocórtex pré-frontal; e o estágio VI inclui toda a região do neocortéx, regiões pré-motoras e motora pirâmida (BRAAK et al., 2003).

1.4 Sintomatologia e diagnóstico

O envelhecimento promove o surgimento de patologias com sinais e sintomas semelhantes à doença de Parkinson, entretanto os estudos de James Parkinson e Jean-Martin Charcot proporcionaram a caracterização concreta de suas manifestações clínicas (JANKOVIC, 2008). Parkinson determinou que o tremor e distúrbio postural são os sinais patognômicos da doença, sendo posteriormente complementado por Charcot que observou a presença de sintomas motores como alteração postural e imobilidade, e não motores como perda de memória e disfunção cognitiva (BALDIVIA et al., 2011). A partir destas avaliações, atualmente é possível determinar o surgimento da DP através da presença do tremor de repouso seguido por rigidez muscular, bradicinesia, acinesia e alterações posturais (MARRAS; LANG, 2013).

O tremor de repouso é o sintoma mais evidente na DP e ocorre em mais de 50% dos casos da doença, é caracterizado por ocorrer de forma involuntária, com frequência de 4 a 6 ciclos por segundo, podendo ser intensificado em situações de estresse e esforço físico, desaparecendo durante os movimentos voluntários. O tremor costuma

atingir inicialmente os membros superiores de maneira unilateral, principalmente as mãos através da flexão e extensão e/ou adução e abdução do polegar. E com a progressão da doença, este sintoma ocorre de forma bilateral e ainda afeta os membros inferiores, lábios, mandíbula e língua (JANKOVIC, 2008; NICHOLSON; PEREIRA; HALL, 2002).

A rigidez muscular afeta o movimento passivo, fazendo com que a resposta do membro a um determinado estímulo seja retardada. Isto ocorre por que o processo neurodegenerativo da DP origina comandos incorretos no cérebro, que desregulam o processo de intercalação entre o funcionamento dos músculos, tornando-os rígidos e com mobilidade reduzida (CÔRTE; LODOVICI NETO, 2009). A rigidez pode atingir apenas um membro de forma uni ou bilateral, como também estender sua ação para todo o corpo. Ainda pode ser classificada de duas formas distintas, popularmente denominadas de “roda dentada”, quando a resistência ao movimento ocorre de forma descontínua, ou “cano de chumbo”, quando a resistência é constante (SAMII; NUTT; RANSOM, 2004).

O sinal clínico mais perceptível e debilitante na DP é a bradicinesia, sendo caracterizada pela presença de movimentos mais lentos e diminuição do reflexo, influenciando na deambulação, aptidão no desenvolvimento de movimentos diários comuns, capacidade de desempenhar funções motoras mais finas, como a escrita, tocar instrumentos, escovar os dentes e pentear o cabelo. Além de funções involuntárias, como frequência do piscar dos olhos e deglutição (GOEDE et al., 2001; PEREIRA, 2016). A possível causa da bradicinesia esta relacionada com a perda neuronal, provocando o retardo na sinalização das informações nos núcleos de base e conseqüentemente afetando a organização do sistema motor (MATA; BARROS; LIMA, 1999). Já a acinesia, diferentemente da bradicinesia, caracteriza-se pela total inapetência em iniciar um movimento, ocasionando principalmente a perda de expressão denominada de “face de máscara” e hipofonia (FERREIRA et al., 2007).

O sintoma tardio mais comum na DP é a instabilidade postural, caracterizada pelos sinais clínicos mais marcantes da doença. Os pacientes tendem a manifestar dificuldade em manter a postura ereta, perda de reflexos e incapacidade de permanecer de pé, principalmente quando há desvio de atenção (O’SULLIVAN, 2004). Estas condições podem ocorrer durante a marcha ou mudança abrupta de direção e atinge diretamente o centro de gravidade, suprimindo o senso de equilíbrio, o que potencializa

o risco de quedas, principalmente em circunstâncias que demandem agilidade, situações de estresse e fadiga (ARAGÃO, 2018).

Além das manifestações motoras, a DP também apresenta sintomas de ordem não motora, que podem provocar distúrbios sensoriais, autonômicos e/ou neurocomportamentais (DUNCAN; EARHART, 2014). Sintomas de caráter autonômico, como a hipotensão ortostática e disfunção erétil e do esfíncter são muito comuns em pacientes com DP, principalmente nos estágios mais avançados da doença (JANKOVIC, 2008; PURSIAINEN et al., 2007). As síndromes do sono podem ser divididas em insônia, sonolência excessiva e ataques de sono. A insônia apresenta prevalência de cerca 0,50%, em quanto que aproximadamente 32% do pacientes com DP demonstram distúrbios comportamentais durante o sono, como sonhos, chutes, gritos e outros movimentos motores intensos (BOEVE et al., 2007; MONDERER; THORPY, 2009). Os sintomas sensoriais incluem dores orais, genitais, parestesia e hiposmia, sendo este último associado como fator de predisposição para DP, tendo em vista que o estudos realizado por POSEN et al (2001) avaliaram que após cerca de 2 anos do início deste sintoma os pacientes apresentaram um risco aumentado de 10% para progressão da doença.

Dentre todos os sintomas não motores da DP, os neurocomportamentais são os mais amplamente difundidos. A depressão, por exemplo, é um sintoma muito comum na DP, atingindo aproximadamente 40% dos pacientes, podendo ser considerada como um fator de risco ou uma consequência da doença, sendo comumente associada ao isolamento e incapacidade determinados pelos efeitos da doença, o que causa grande diminuição na qualidade de vida do paciente (SILBERMAN et al., 2006; TUMAS et al., 2008). Além disto, estudos têm demonstrado que a progressão da DP tende a aumentar a ocorrência de demência, aproximadamente 84% dos pacientes com diagnóstico superior a 20 anos apresentaram este sintoma e distúrbios associados, como alucinações, ansiedade e apatia. Muitos destas condições não motoras podem ocorrer antes do surgimento dos sintomas motores, entretanto a maioria acontece em decorrência da progressão da DP e estão diretamente relacionadas com a diminuição da qualidade de vida dos pacientes (AARSLAND; ALVES; LARSEN, 2005; RAVINA et al., 2007)

O diagnóstico da DP ocorre principalmente pela avaliação clínica do paciente e observação da presença dos sintomas cardinais da doença, a bradicinesia, rigidez e tremor de repouso. Além disto, a investigação da ausência de outras neuropatologias e a

resposta positiva dos sintomas motores à administração de L-DOPA são os métodos diagnósticos adicionais mais precisos no diagnóstico da DP (GOLDSTEIN, 2009). Os critérios orientadores para avaliação e pesquisas clínicas da DP são os determinados pelo Banco de Cérebros da Sociedade de Parkinson do Reino Unido ((UKPDSBB), o qual possui até 90% de precisão no diagnóstico da doença (Tabela 1) (HUGHES et al., 2002).

Tabela 1. Critérios do Banco de Cérebros da Sociedade de Parkinson do Reino Unido para o diagnóstico clínico da Doença de Parkinson. Adaptado de HUGHES et al., 1992.

<p>I. Critérios necessários para diagnóstico de doença de Parkinson</p>	<p>a. Bradicinesia e pelo menos um dos seguintes sintomas:</p> <p>b. Rigidez muscular.</p> <p>c. Tremor de repouso 4-6 Hz: avaliado clinicamente.</p> <p>d. Instabilidade postural não causada por distúrbios visuais, vestibulares, cerebelares ou proprioceptivos.</p>
<p>II. Critérios negativos (excludentes) para doença de Parkinson:</p>	<p>a. História de AVC de repetição.</p> <p>b. História de trauma craniano grave.</p> <p>c. História definida de encefalite.</p> <p>d. Crises oculogíricas.</p> <p>e. Tratamento prévio com neurolépticos.</p> <p>f. Remissão espontânea dos sintomas.</p> <p>g. Quadro clínico estritamente unilateral após três anos.</p> <p>h. Paralisia supranuclear do olhar.</p> <p>i. Sinais cerebelares.</p> <p>j. Sinais autonômicos precoces.</p>

<p>III. Critérios de suporte positivo para o diagnóstico de doença de Parkinson (três ou mais são necessários para o diagnóstico):</p>	<p>k. Demência precoce.</p> <p>l. Liberação piramidal com sinal de Babinski.</p> <p>m. Presença de tumor cerebral ou hidrocefalia comunicante.</p> <p>n. n. Resposta negativa a altas doses de L-DOPA.</p> <p>o. Exposição a metilfeniltetraperidinium.</p>
	<hr/> <p>a. Início unilateral.</p> <p>b. Presença do tremor de repouso.</p> <p>c. Doença progressiva.</p> <p>d. Persistência da assimetria dos sintomas.</p> <p>e. Boa resposta a L-dopa.</p> <p>f. Presença de discinesias induzida pela L-DOPA.</p> <p>g. Resposta a L-dopa por 05 anos ou mais.</p> <p>h. Evolução clínica de 10 anos ou mais.</p>

A característica progressiva da DP demanda ainda a necessidade de métodos que avaliem o avanço da doença, assim como a eficácia da resposta terapêutica. Para isto, escalas foram desenvolvidas para mensurar características clínicas, aspectos motores, não motores, mentais e a qualidade de vida dos pacientes. A Escala Unificada de Avaliação na DP - UPDRS e Escala de Estágios de Incapacidade de Hoehn e Yahr são comumente utilizadas na prática clínica e no desenvolvimento de pesquisas (GOULART et al., 2004). Entretanto, a escala Hoehn e Yahr possui maior confiabilidade e praticidade, sendo mundialmente reconhecida pela sua capacidade de classificar a doença em estágios que determinam a severidade da doença, em inicial, moderado e grave, como demonstrado na tabela 2. Estes dados auxiliam ainda na

escolha da terapia apropriada e avaliar a resposta do medicamento para os sintomas motores (CABREIRA; MASSANO, 2019; HOEHN; YAHR, 1967).

Tabela 2. Escala de Hoehn e Yahr, determinando os estágios (1-5) de progressão da doença de acordo com os seus sinais clínicos. Fonte: Adaptada de SCHENKMAN et al (2001).

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

O objetivo da escala de Hoehn e Yahr é classificar cada paciente de acordo com o seu grau de incapacidade e conseqüentemente de progressão da DP. O estágio inicial que vai de 1 a 3 é o período em que o paciente ainda possui sintomas leves e capacidade de controlar os movimentos e o tratamento é direcionado ao retardo da progressão da doença. Já os estágios 4 e 5 corresponde ao período em que os sintomas causam total incapacidade do paciente e dependência total do auxílio de outras pessoas para realizar as atividades cotidianas (GOETZ et al., 2007). Neste estágio tardio o tratamento visa principalmente a melhoria da qualidade de vida, através de fármacos que aliviem os sintomas motores e exercícios fisioterapêuticos que estimulem a atividade motora (GOULART et al., 2004).

Outro método diagnóstico viável são os exames de imagem, que apesar de possuírem maior sensibilidade em distinguir a DP de outras patologias neurológicas, também exigem maior custo para sua realização. Atualmente os métodos mais eficazes

são a tomografia por emissão de pósitrons (PET) e tomografia computadorizada por emissão de fótons (SPECT) (BROOKS; PAVESE, 2011; PICCINI; BROOKS, 2006). A perda neuronal no SNpc é o fator diagnóstico mais importante da DP e que a diferencia de outras patologias, e são estas tecnologias de imagem que permitem visualizar esta característica neuropatológica da doença, através dos marcadores que avaliam a redução de dopamina nos terminais nervosos da SNpc (DICKSON et al., 2009; IRANZO et al., 2014).

1.5 Tratamento

A doença de Parkinson é crônica, progressiva, multifatorial e os métodos terapêuticos disponíveis são direcionados apenas para redução dos sintomas motores da doença, através da administração de fármacos, fisioterapia e, em último caso, tratamento cirúrgico (BRAVO; NASSIF, 2006). Estudos demonstram que as características fisiopatológicas da DP demandam um tratamento multifacetado, que atuem de forma eficaz diante das particularidades de sinais, sintomas e resposta medicamentosa de cada paciente. Além disso, a terapêutica deve ser direcionada às diversas vias moleculares que podem estar relacionadas ao processo neurodegenerativo, como a disfunção mitocondrial, acúmulo de α -sinucleína, neuroinflamação e estresse oxidativo (ALDAKHEEL; KALIA; LANG, 2014; KALIA; LANG, 2015; KWOLEK, 2003; TRAN et al., 2014).

O tratamento farmacológico destina-se a recuperar os níveis de dopamina cerebral, através do aumento de sua concentração intracelular ou ativação de seus receptores, sendo o início da terapia, o tipo de medicamento e suas concentrações determinadas pelo estágio da doença e a gravidade dos sintomas motores. Atualmente os medicamentos mais utilizados são os agonistas dopaminérgicos (AD), anticolinérgicos, inibidores da catecol-O-metiltransferase (COMT) e monoamina oxidase B (MAO-B) e a levodopa (CONNOLLY; LANG, 2014; FOX, 2014).

Os AD agem através da estimulação direta de receptores dopaminérgicos e são indicados na monoterapia para sintomas leves ou em associação com a levodopa para sintomas mais graves. Os AD mais comumente utilizados são o pramipexol e bromocriptina (DROZDZIK; BIALECKA; KURZAWSKI, 2014). Os anticolinérgicos atuam no SNC através do bloqueio de receptores muscarínicos, o que impede a

transmissão colinérgica nos neurônios do estriado, desempenhando papel importante no tratamento de tremores (MISULIS; HEAD, 2008). Os inibidores de COMT e MAO atuam como bloqueadores do metabolismo da dopamina, prolongando o seu tempo de vida. A principal droga que atua como inibidoras de COMT é o entacapone em associação com a levodopa (MÜLLER, 2013). E a selegenina é a principal inibidora de MAO-B, atuando principalmente na inibição da formação de ROS durante o metabolismo da dopamina e no aumento de dopamina no núcleos de base (BORGHAIN et al., 2014).

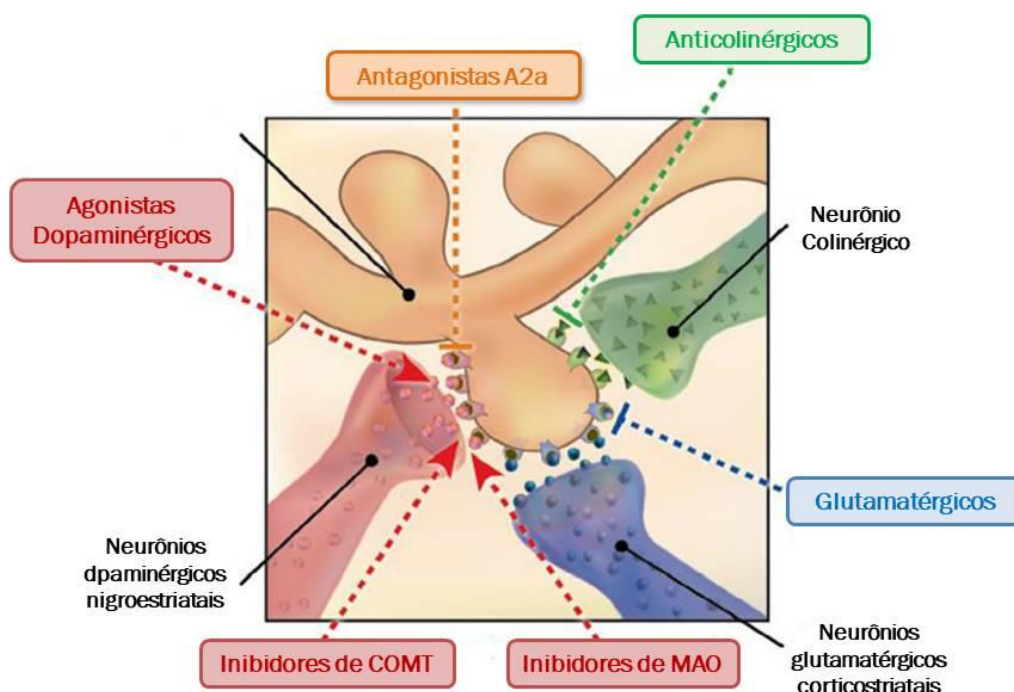


Figura 1. Figura esquemática dos tipos de medicamentos farmacológicos empregados na terapêutica da DP. Fonte: Adaptada de ELLIS; FELL (2017).

Desde a sua disponibilização em 1917, a L-dihidroifenilalanina ou Levodopa (L-DOPA) é o medicamento padrão ouro na terapia dos sintomas motores da DP, principalmente a rigidez, acinesia e o tremor (ASANUMA; MIYAZAKI; OGAWA, 2003). A administração da dopamina pura não atende as necessidades terapêuticas, já que suas propriedades químicas não permitem sua passagem pela barreira hematoencefálica (BHE) (HALL; GUYTON, 2011). Desta forma, a alternativa para estimular os níveis de dopamina intracerebral é o emprego da L-DOPA, que atua como

um precursor da dopamina, capaz de transpassar a BHE, ser absorvida pelas células nervosas e convertida em dopamina. Para que isto ocorra, a L-DOPA precisa estar associada a uma enzima aminoácido aromático descarboxilase (carbidopa), responsável por auxiliar na passagem da droga pela BHE, evitando seu metabolismo sistêmico no trato digestivo, aumentando a eficácia do medicamento mesmo em dosagens mais baixas e amenizando a geração de efeitos colaterais (DONG et al., 2016; DROZDZIK; BIALECKA; KURZAWSKI, 2014).

Apesar de ser o medicamento que traz maior resposta para os sintomas da doença, o uso da Levodopa pode levar a efeitos adversos, afetando diretamente a qualidade de vida dos pacientes. Inicialmente, o estímulo provocado pelo medicamento nos receptores periféricos da dopamina, pode causar náusea e hipotensão ortostática (JENNER, 2015). Já o uso prolongado, pode levar a complicações mais sérias, que envolvem sintomas como confusão, delírios, alucinações visuais, flutuação motora e discinesia. Estes sintomas parecem estar relacionados com o excesso de estímulo nos receptores de dopamina no estriado e a proximidade nas concentrações de levodopa intracerebral e plasmática. Além disto, em 80% dos pacientes que realizam a terapia com L-DOPA por mais de 10 anos, o efeito do medicamento demonstrou uma tendência a diminuir sua eficácia. Isto ocorre por que no decorrer da progressão da doença, se perde a capacidade do sistema nigroestriatal de converter a L-DOPA em dopamina e armazena-la nas vesículas pré-sinápticas, o que ocasiona uma liberação desordenada de dopamina, com uma resposta imprevisível e ineficaz. Quando isto ocorre há necessidade de mudanças na dose e/ou frequência de administração da L-DOPA, assim como a implementação de terapias suplementares (MARRAS; LANG, 2013; SCHAPIRA, 2009; STACY; HICKEY; STACY, 2011).

A cirurgia como tratamento para DP era comum na década de 50, porém com o surgimento da L-DOPA este método caiu em desuso, passando a ser indicado apenas em casos muito específicos, como pacientes jovens que não respondiam a terapia farmacológica (ARAUJO; ANDRAUS, 2002). Entretanto, estudos têm demonstrando que o tratamento cirúrgico, através da estimulação cerebral profunda do núcleo subtalâmico ou do globus pallidus internus, é eficaz no controle de tremores e principalmente nos sintomas ocasionados por efeitos adversos da terapia medicamentosa, com a discinesia, flutuação motora e anormalidades comportamentais (KALIA; SANKAR; LOZANO, 2013). Sua indicação depende de vários determinantes,

como estágio evolutivo da doença, suas condições clínicas e a resposta ao tratamento farmacológico, levando cerca de 10 a 13 anos depois do diagnóstico da doença para ser considerado como uma terapia complementar (REIS, 2004). Outra ferramenta utilizada como tratamento suplementar é a fisioterapia direcionada à coordenação motora e fortalecimento muscular, evitando a atrofia muscular característica da progressão dos sintomas da DP. Além disto, a prática de exercícios físicos estimula as funções respiratórias, a capacidade funcional e psicológica do paciente (FERREIRA et al., 2007).

1.6 Estresse oxidativo

Quando uma molécula apresenta um número ímpar de elétrons em sua última camada eletrônica é denominada de radical livre, podendo ser originadas nas mitocôndrias, membranas celulares e citoplasma. Estas moléculas são altamente reativas, pois sua instabilidade leva a uma interação rápida com outras moléculas (GREEN; BRAND; MURPHY, 2004; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015). Esta interação pode ocorrer a partir de uma reação de redução pela liberação do elétron ou oxidação pela diminuição do elétron na última camada da molécula afetada. Os dois principais radicais livres que desencadeiam o estresse oxidativo são as espécies reativas de nitrogênio (ERNs) e as espécies reativas de oxigênio (ROS) (DALLE-DONNE et al., 2006).

Radicais livres são formados por processos fisiológicos naturais do organismo e desempenham funções biológicas importantes, como metabolismo da glicose, geração de energia (ATP), defesa contra agentes patogênicos em processos infecciosos e sinalização de genes (ALI; BINIENDA; IMAM, 2011; KUMAR et al., 2012). Porém, quando há instabilidade entre a formação destes radicais e a taxa de antioxidantes no organismo, ocorre o fenômeno denominado de estresse oxidativo. Esta condição possui a capacidade de interagir com componentes celulares como lipídios, proteínas e ácidos nucleicos, podendo ocasionar impermeabilidade da membrana plasmática, irregularidade na atividade enzimática, mutações genéticas e indução a apoptose (MILLER et al., 2009; VARÇIN et al., 2012). O excesso de radicais livres pode ocorrer de forma intracelular através de reações bioquímicas, metabolismo celular e resposta

inflamatória, ou por fontes externas como exposição à radiação ionizante, luz ultravioleta (UV) e agentes químicos (FRY; BEGLEY; SAMSON, 2005).

O desempenho de diversas funções vitais em organismos aeróbicos depende do oxigênio (O_2). A metabolização do O_2 ocorre na mitocôndria, onde por meio da cadeia transportadora de elétrons aproximadamente 85% a 90% deste metabólito é consumido, principalmente para produção de ATP (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015). Ainda na mitocôndria o O_2 passa por um processo de redução, mediado pela enzima catalisadora citocromo oxidase, responsável por retirar um elétron de quatro moléculas de citocromo C, convertendo o O_2 em água (H_2O) (Figura 5). Porém, falhas são comuns em qualquer processo biológico e neste caso a formação de radicais livres pode ocorrer pela redução do O_2 à forma univalente, a partir do desvio do oxigênio da mitocôndria para outras vias metabólicas (KALYANARAMAN, 2013).

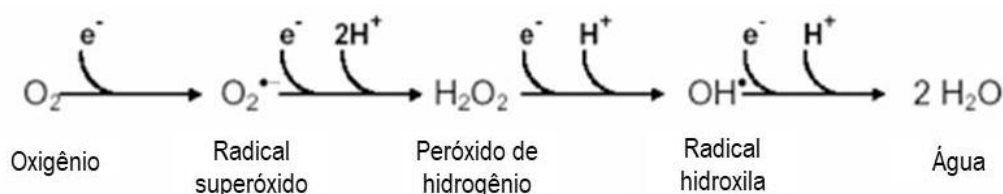


Figura 2. Metabolização do oxigênio (O_2) na mitocôndria a partir de sua redução tetravalente até a formação de H_2O . Fonte: Adaptada de NORDBERG; ARNÉR (2001).

A redução univalente do O_2 associada a reações catalisadas por enzimas específicas e íons de ferro e cobre, dão origem a três tipos de radicais livres, o superóxido ($O_2^{\bullet-}$), radical hidroxila (OH^{\bullet}) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (GUTOWSKI; KOWALCZYK, 2013; WELCH et al., 2002).

O radical ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$) pode ser formado na mitocôndria durante a geração de ATP, em microssomas ou peroxissoma, ocorrendo quando o dióxido de oxigênio (O_2 molecular) recebe um elétron (VALKO et al., 2007). O $O_2^{\bullet-}$ apresenta meia vida longa e apesar de ser considerado o radical livre menos reativo, demonstra potencial para causar danos celulares devido à sua capacidade de formar ROS secundários. De acordo com o ambiente e o pH, o $O_2^{\bullet-}$ pode ocorrer na forma de hidroperóxil, um radical com alta permeabilidade em membranas biológicas, ou desencadear o processo de dismutação, mediado pela enzima superóxido dismutase

(SOD), onde dois radicais superóxidos reagem entre si, dando origem ao peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (GUTOWSKI; KOWALCZYK, 2013).

O radical hidroxila ($OH\bullet$) possui um tempo de meia vida curto o que confere uma alta instabilidade, e conseqüentemente um grande potencial de reatividade, devido a sua urgência em obter elétrons e sua capacidade de interagir e danificar diversos tipos de moléculas, como fosfolipídios, aminoácidos, ácidos orgânicos, RNA e DNA (GRANT et al., 2012; LOBO et al., 2010). A formação do radical $OH\bullet$ pode ocorrer a partir de três mecanismos, pela interação do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) com uma forma reduzida do cobre, pela reação de Fenton, através da ligação entre O-O da molécula de peróxido de hidrogênio quando em associação com íons de ferro, ou pela reação de Haber-Weiss quando o peróxido de hidrogênio interage com $O_2^{\bullet-}$ como demonstrado na figura 6 (KOURY; DONANGELO, 2003; WELCH et al., 2002).

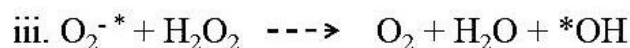
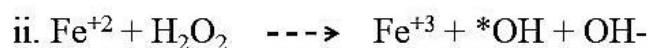
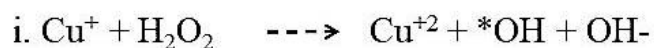


Figura 3. Reações de formação do radical hidroxila ($OH\bullet$). i. Peróxido de hidrogênio com cobre; ii. Reação de Fenton; iii. Reação de Haber-Weiss. Fonte: Adaptada de BERRA; MENCK; DI MASCIO (2006).

O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é formado a partir da reação de dismutação do $O_2^{\bullet-}$ e não possui um elétron desemparelhado na sua última camada eletrônica, o que essencialmente não o caracteriza como um radical livre (PIGNATELLO; OLIVEROS; MACKAY, 2006). Entretanto, o H_2O_2 possui a capacidade de interagir e danificar células, devido à sua atuação no processo de formação do $OH\bullet$, o radical livre mais reativo e com maior capacidade deletéria. Além disto, possui longo tempo de meia vida e um alto potencial de penetração em membranas celulares hidrofóbicas, devido à sua fácil solubilidade em meio aquoso (WANG et al., 2012). Em condições fisiológicas normais, este radical é rapidamente degradado por enzimas antioxidantes, como a catalase e a glutathiona peroxidase (GSH). Quando ocorre instabilidade entre a formação de H_2O_2 e antioxidantes, proteínas heme podem ser afetadas, gerando uma liberação

excessiva de ferro, e conseqüentemente danos a moléculas biológicas a partir da inativação de enzimas e estresse oxidativo (DE LAAT; LE, 2006).

No decorrer do processo evolutivo humano, diversos mecanismos de defesa contra a ação de ROS foram desenvolvidos. Porém, alguns órgãos são naturalmente suscetíveis ao estresse oxidativo, devido principalmente às suas condições fisiológicas (CALABRESE et al., 2005). As células cerebrais são as mais vulneráveis aos ROS, pois apesar de representar uma pequena porção do peso total do corpo, o cérebro é o órgão que mais consome oxigênio, cerca de 20% do total disponibilizado para todos os órgãos do corpo. Além disto, o cérebro apresenta altos níveis de compostos suscetíveis à ação de radicais livres, como fosfolipídios e ácidos graxos poliinsaturados, déficit de enzimas supressoras de radicais livres, dificuldade na recepção de antioxidantes através da barreira hematoencefálica, e caráter pós-mitótico, o que confere maior probabilidade de disfunção permanente em células danificadas (ALI; BINIENDA; IMAM, 2011; DIAS; JUNN; MOURADIAN, 2013).

Estas características associam o estresse oxidativo ao desenvolvimento e progressão de várias doenças neurodegenerativas, dentre elas a doença de Parkinson (ROSSOR et al., 2010). Estudos em cérebros *post-mortem* de pacientes com a DP avaliaram níveis elevados de oxidação em lipídeos, proteínas e DNA, redução dos antioxidantes GSH, catalases e superóxido dismutase e alta concentração de ferro no globo pálido e a substância negra (HWANG, 2013; KIM et al., 2012; MOORE et al., 2005). Adicionalmente, a presença de enzimas geradoras de ROS, como a tirosina hidroxilase e monoamina oxidase A (MAO-A) nos neurônios dopaminérgicos conferem maior predisposição ao estresse oxidativo. Em condições normais, a MAO-A atua na reação de oxidação da dopamina nos neurônios, sendo responsável por gerar o $O_2^{\cdot-}$ e H_2O_2 , conferindo um estado de constante exposição ao estresse oxidativo (BLANDINI, 2013). Além disto, o metabolismo da dopamina (DA) pode gerar espécies de dopamina quinona, as quais são capazes de alterar várias proteínas, como a α -sinucleína. Quando danificada, a α -sinucleína perde o controle de permeabilidade da membrana, causando o escoamento de dopamina para o citoplasma, prejudica a degradação natural de proteínas e pode ser convertida para sua forma citotóxica (CONWAY, 2001).

As condições de suscetibilidade do cérebro e neurônios dopaminérgicos ao estresse oxidativo, levaram ao desenvolvimento de várias hipóteses acerca da sua influencia e atuação na doença de Parkinson, das quais se destacam as disfunções

mitocondriais, disfunção no sistema ubiquitina-proteassoma (SUP) e metabolismo da DA (KOPPULA et al., 2012; MILLER et al., 2009). Pacientes diagnosticados para DP, apresentavam atividade reduzida do complexo I e baixos níveis da enzima ubiquinona oxidoreductase na substância negra, o que estimula a produção excessiva de ROS, a baixa síntese de ATP e morte celular (CHINTA; ANDERSEN, 2008). A atividade desregulada do SUP também está associada com ao acúmulo de produtos tóxicos, devido à degradação ineficaz das proteínas (HOROWITZ; GREENAMYRE, 2010). E a hipótese da formação de ROS pelo metabolismo da DA sugere que os oxirradicais e o peróxido de hidrogênio são produzidos pela oxidação da DA mediada pela MAO e que os mecanismos antioxidantes não são suficientes para lidar com a alta rotatividade de dopamina intracelular. O que também pode indicar uma relação entre a terapia com levodopa e o acúmulo de radicais livres em pacientes com a DP (KAUR; ANDERSEN, 2004; MANOHARAN et al., 2016).

1.7 Via de reparo por excisão de bases (BER)

O DNA contém todas as informações genéticas necessárias para a manutenção da homeostase nos organismos vivos. Porém, O DNA é naturalmente suscetível à geração de danos em suas sequências genômicas, devido à instabilidade química de suas moléculas em meio celular e constante exposição a fatores exógenos e endógenos, tais como radiação ionizante, agentes químicos, luz UV e metabólitos celulares, que podem ocasionar alterações químicas como metilação, desaminação, alquilação e oxidação de bases (ERROL et al., 2006; SHARMA; DIANOV, 2007). Estas alterações podem levar a inserção incorreta de bases como a uracila, purinas N-alquiladas (7-metilguanina, 3-metiladenina, 3-metilguanina), pirimidinas fragmentadas, 8-oxo-7,8dihidroguanina (8-OxoG) e timina glicol (CHRISTMANN et al., 2003). Estes danos, quando não reparados, comprometem as atividades de replicação, transcrição e tradução do DNA, promovendo distúrbios metabólicos e/ou mutagênese (RONEN; GLICKMAN, 2001).

Inserção, deleção, quebras de fita simples (SSBs), de fita dupla (DSBs), modificações químicas das bases ou açúcares e formação de sítios apurínicos-pirimidínicos (AP) são exemplos das circunstâncias em que as lesões do DNA podem acontecer (CALDECOTT, 2003). Os diversos fatores e condições que ocasionam danos ao DNA exigem do organismo uma abrangência e especificidade de mecanismos

responsáveis por reconhecer e reparar cada tipo de lesão. A atuação destes mecanismos de reparo pode ocorrer, na maioria dos casos, a partir de recombinação, pela reversão direta da lesão, sem hidrólise da ligação fosfodiéster, ou por sua excisão completa (HOEIJMAKERS, 2001). Estas vias de reparo são distribuídas de acordo com o seu mecanismo de reparo em: reparo por recombinação homóloga (HR), junção de extremidades não-homólogas (NHEJ), via translesão (TLS), reparo de mal pareamento (MMR), reparo por excisão de nucleotídeos (NER) e de bases (BER) (FU; CALVO; SAMSON, 2012; SIMONELLI et al., 2017).

A via de reparo por excisão de bases (BER) é o mecanismo responsável por restaurar danos causados por SSBs e modificações que não alterem a dupla hélice do DNA (BARTKOVA et al., 2005). Estes tipos de lesões podem ocorrer pela ação de alquilação, desaminação ou oxidação de bases e ocorrem constantemente no DNA, afetando uma célula cerca de 10.000 a 20.000 vezes por dia, o que torna a BER um dos mecanismos mais essenciais na estabilidade genômica (JACOBS; SCHÄR, 2012; WEISSMAN et al., 2007).

O ponto de atuação da via BER situa-se no ciclo celular, mais especificamente na fase G1, verificando a ausência de erros durante a transcrição e certificando que a sequência de DNA está apta para a replicação. Quando este mecanismo funciona de forma ineficaz, pode ocorrer o surgimento de diversas doenças, como câncer e desordens neurodegenerativas (CABELOF, 2012; WALLACE; MURPHY; SWEASY, 2012).

O estudo que deu início a descoberta da via BER foi realizado por Tomas Lindahl em 1974, onde a investigação de atividade enzimática em citosinas desaminadas deu origem à descoberta de uma nova enzima, denominada de uracil-DNA glicosilase (UDG), com capacidade de remover uma base danificada do DNA. A partir disto, diferentes glicosilases foram evidenciadas, com função equivalente a UDG de reconhecer e remover pequenos danos, normalmente ocasionados pela própria instabilidade química do DNA (LINDAHL; NYBERG, 1974; MI; KLUNGLAND; YANG, 2016).

2.7.1 Mecanismos de ação da via BER

O funcionamento da via BER depende da atuação de um conjunto de enzimas responsáveis por identificar e retirar as bases danificadas, e realizar a inserção do nucleotídeo correspondente à sua posição na sequência de DNA (DIANOV et al., 2000). Esta atividade enzimática ocorre sequencialmente, ou seja, o produto da atividade da primeira enzima será instantaneamente processado pela enzima posterior, o que implica na necessidade do funcionamento equilibrado de todos os componentes desta via, tendo em vista que instabilidades podem ocasionar o acúmulo de espécies tóxicas (WILSON, 2007).

Como demonstrado na figura 8, a via BER ocorre ao longo de cinco etapas essenciais: o reconhecimento da base danificada; remoção de uma purina ou pirimidina pela ação de uma glicosilase; incorporação de um açúcar-fosfato no local abásico; processamento e eliminação dos resíduos de açúcar; reparação do local AP; e conserto das estruturas de DNA alteradas durante o processo (ANDRADE et al., 2012; CHAIM et al., 2017). Cada etapa do processo de reparo depende do desempenho de enzimas específicas que são divididas em quatro categorias fundamentais: as glicosilases; as endonucleases; DNA polimerases; e DNA ligases (PASCUCCI et al., 2012).

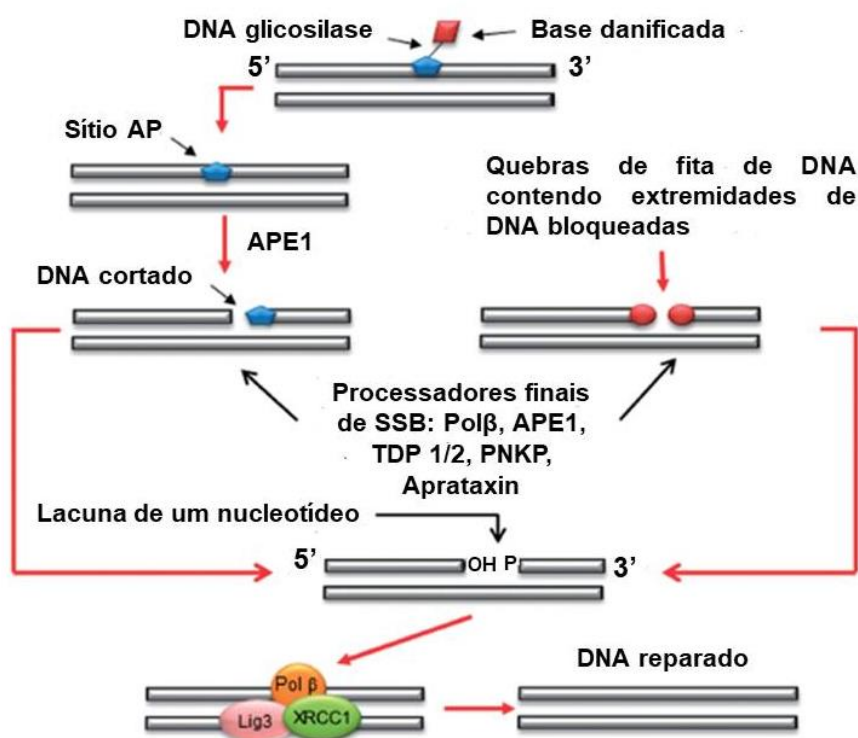


Figura 4. Esquema simplificado das etapas do reparo por excisão de bases (BER) e as respectivas proteínas envolvidas. Fonte: Adaptada de DIANOV; HÜBSCHER (2013).

As DNA glicosilases são proteínas monoméricas pequenas que possuem um alto potencial de distinção entre bases danificadas e normais, removendo uma grande quantidade de pequenas lesões no DNA (VAN DER VEEN; TANG, 2015). No BER, as glicosilases possuem especificidade para cada tipo de dano e são responsáveis por reconhecer a base de DNA danificada e iniciar a clivagem da ligação entre a base e a desoxirribose (N-glicosídica). Isto ocorre através da ligação da glicosilase ao sulco menor do DNA, dobramento da região danificada e expulsão da base incorreta, formando um sítio abásico (AP), que se não corrigido pelas etapas subsequentes do BER, poderá resultar num elevado grau de citotoxicidade e mutagênese (HUFFMAN; SUNDHEIM; TAINER, 2005; KROKAN; BJORAS, 2013). As glicosilases também podem ser classificadas em monofuncionais, quando encerram sua atuação na formação do sítio AP, ou bifuncionais que também possuem a capacidade de exercer a função de AP liase, clivando a ligação fosfodiéster no sítio AP (SVILAR et al., 2011).

As endonucleases AP são as principais responsáveis por iniciar o processo de reparação dos sítios AP, e por este motivo são as enzimas mais importantes da via BER, tendo em vista que a estabilidade química do genoma depende do reparo correto destas lesões originadas no DNA (DYRKHEEVA; LEBEDEVA; LAVRIK, 2016). São conhecidas duas famílias de endonucleases AP, a endonuclease IV e exonuclease III, que variam de acordo com a semelhança de suas sequências de nucleotídeos (ROYCHOUDHURY et al., 2017).

A APE1, representante das exonucleases III, é a principal endonuclease da via BER, sendo amplamente sintetizada no organismo humano e atuante em diversos processos biológicos, incluindo o reparo de sítios AP (WILSON; BARSKY, 2001). A polimerase β é uma enzima da classe X das polimerases e corresponde a principal polimerase humana, atua na via BER através da incorporação de um novo nucleotídeo destinado ao preenchimento do sítio AP e lise da ligação dRP (BEARD; WILSON, 2006; GOELLNER et al., 2014). A DNA ligase é a última enzima atuante na via BER e tem um papel fundamental no sucesso do reparo, sendo responsável por reestabelecer a ligação fosfodiéster. Entretanto, a funcionalidade desta enzima depende de sua associação com a proteína XRCC1 (MORTUSEWICZ, 2006).

De modo geral, a resposta do BER aos danos celulares acontece de forma rápida, podendo ser totalmente realizada em poucos minutos. Entretanto, a via BER tem a capacidade de desempenhar o reparo a partir de dois caminhos distintos, denominados

de *short-patch* e *long-patch* (LAN et al., 2004). A determinação da via a qual decorrerá o processo de reparo ainda é pouco esclarecida, porém estudos demonstram que alguns fatores podem estar relacionados nessa seleção. Dentre eles, destaca-se a quantidade de nucleotídeos danificados, a fase do ciclo celular em que o dano ocorreu, a especificidade da glicosilase e do tipo de célula danificada (KROKAN; BJORAS, 2013; TICHY et al., 2011). Além disto, o papel da endonuclease AP demonstrou ser fundamental no direcionamento para o *short-patch* ou *long-patch*, isto por que o produto 5'-dRP, produzido na atuação desta enzima, é normalmente processado pela pol β durante o *short-patch* e quando isto não ocorre, o reparo é direcionado para a sub-via *long-patch* (Figura 9) (FORTINI; DOGLIOTTI, 2007; WALLACE; MURPHY; SWEASY, 2012).

A concentração de ATP também foi descrita como um fator determinante, tendo em vista que quando há baixos níveis de ATP no local onde o sítio abásico foi gerado, o *long-patch* é recrutado e atua a partir das polimerases β e δ/ϵ associadas a várias outras proteínas (CNA, FEN1, PARP1 e Lig1), na retirada de um fragmento de 2 a 13 bases da fita anterior e a reconstituição correta da sequência clivada (PETERMANN; KEIL; OEI, 2006; SVILAR et al., 2011).

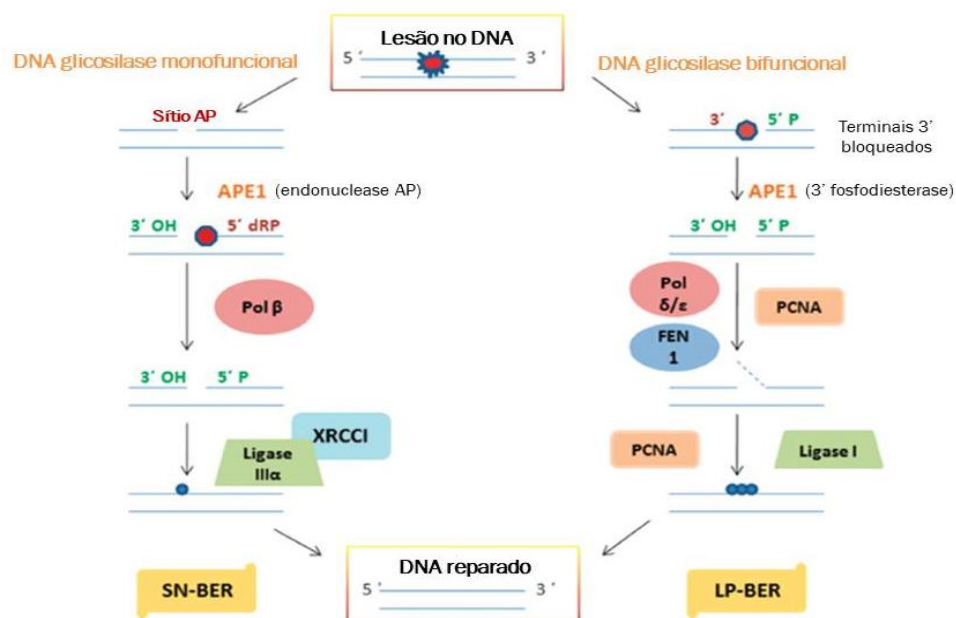


Figura 5. Representação esquemática do mecanismo das sub-vias de curta distância (SN-BER) e longa (LP-BER) de reparo por excisão de base (BER). A endonucleaseapurínica/pirimidínica 1 (APE1) / fator efetor redox 1 (Ref-1) funciona como uma

endonuclease AP no SN-BER, iniciada pela DNA glicosilase (DG) monofuncional e como uma fosfodiesterase 3' na LP-BER, iniciada pela bifuncional DG. Pol β , XRCC1 e ligase III α são necessárias para o SN-BER realizar o reparo de SN, enquanto antígeno nuclear de célula em proliferação (PCNA), Pol $\delta\epsilon$, endonuclease de retalho 1 (FEN-1) e ligase I são necessários para que o LP-BER conduza o reparo multinucleotídeo em células de mamíferos. Fonte: Adaptada de IGNATOV; BONDARENKO; MAKAROVA, (2017).

O principal condicionante no desempenho da via BER é o nível das proteínas envolvidas, tendo em vista que o reparo ao DNA precisa ser executado de forma rápida e precisa. Entretanto, estes níveis dependem de alguns fatores, como as peculiaridades de cada indivíduo e o tecido afetado (JEPPESEN; BOHR; STEVNSNER, 2011). Dentre os tipos de danos reparados pela BER, os locais AP, ocasionados pela ação das ROS, são os mais comumente identificados como agentes de indução a apoptose. As células cerebrais são as mais afetadas por este tipo de lesão, sendo formados aproximadamente 50.000 a 200.000 sítios AP por célula, principalmente devido às altas taxas de metabolização de oxigênio e níveis baixos de antioxidantes no cérebro (KUCHERLAPATI et al., 2002).

Esta predisposição dos neurônios ao estresse oxidativo, demanda um esforço de resposta ainda maior da via BER, tendo em vista que o acúmulo destas lesões podem levar ao desenvolvimento de doenças neurodegenerativas, como o Alzheimer e a doença de Parkinson. Além disto, quando ocorrem modificações moleculares, como polimorfismos genéticos, nos genes que codificam as proteínas que atuam na BER, pode ocorrer um déficit deste mecanismo em responder aos danos no DNA (LEANDRO; SYKORA; BOHR, 2015; MARKKANEN, 2017).

1.8 Genes de reparo na doença de Parkinson

1.8.1 Gene APE1

O gene endonucleaseapurínico/pirimidínico 1 (*APE1*) está localizado no cromossomo 14 (14q11.2) é formado por uma sequência de cerca de 3 kb, possui 5 exóns e 4 íntrons (ROY; CHUN; POWELL, 2012) (Figura 10). Sua região promotora não apresenta TATA box, podendo estabelecer sua transcrição a partir de vários sítios

de início e sua fase de leitura aberta está localizada nos últimos quatro éxons, sendo responsável por sintetizar uma proteína multifuncional denominada de APE 1 (endonuclease apurínica/pirimidínica 1), composta por 318 aminoácidos (35,5 kDa) e responsável por atuar na regulação transcricional e reparo do DNA (LI; WILSON, 2014).

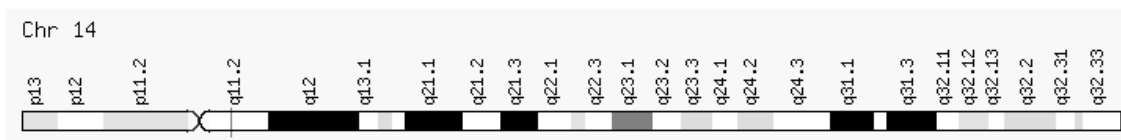


Figura 6. Localização do gene APE1 no cromossomo 14 (14q11.2). Fonte: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=APEX1&keywords=APE1>.

A proteína APE1 é amplamente sintetizada nas células e corresponde a principal endonuclease humana (ROYCHOUDHURY et al., 2017). Pertence a superfamília fosfodiesterase e possui sequência homóloga a outras nucleases, em especial a exonuclease III (ABSHIRE et al., 2018). É uma proteína multifuncional que atua em diversos processos biológicos, sendo imprescindível na manutenção das funções celulares, como a sinalização de crescimento, de vias inflamatórias, proliferação, diferenciação e controle danos no DNA que podem induzir a apoptose (FUNG; DEMPLE, 2005; SHAH et al., 2017). Desempenha papel importante na via de reparo por excisão de bases (BER), através do reparo de sítios apurínicos/pirimidínicos (AP) gerados por agentes endógenos, exógenos ou estresse oxidativo. Porém, também está relacionada com o controle da expressão gênica, através da sua função redox que permite a ligação do DNA a fatores de transcrição, como AP-1 (Fos, Jun), NF κ B (fator nuclear kapa β), HIF1 α (fator indutível de hipóxia-1 α) e p53 (LANDO et al., 2000; VASCOTTO et al., 2011)

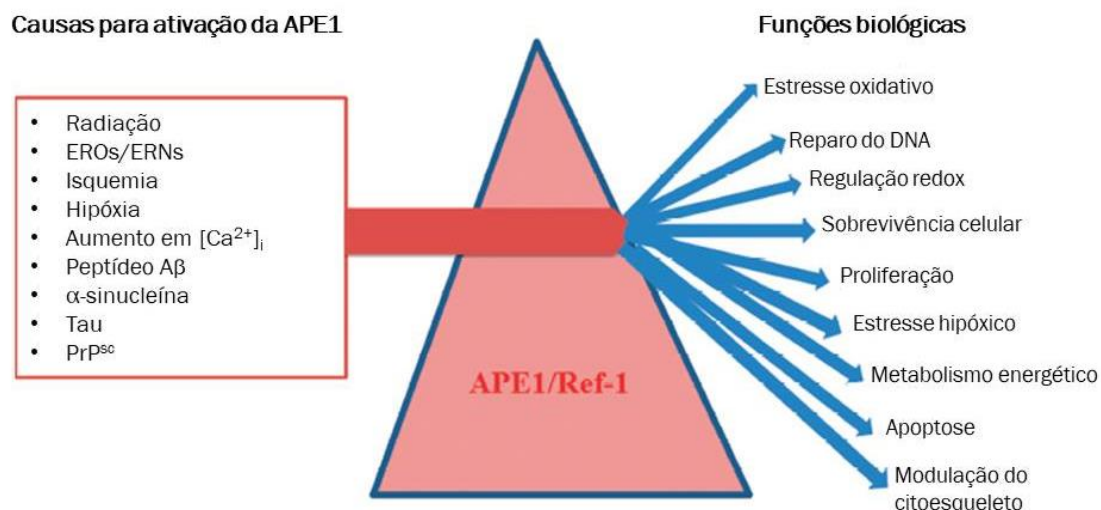


Figura 7. Capacidade multifuncional da endonuclease AP humana (APE1) de atuar na via de reparo por excisão de bases (BER), regulação do fator de transcrição e sinalização oxidativa. Fonte: Adaptada de THAKUR et al (2014).

A característica pleiotrópica deste gene é fundamental na homeostase genômica e a resposta correta ao estímulo correspondente ocorre através da presença de sítios ativos específicos para cada função desempenhada pela proteína APE1 (CHEN et al., 2015). No geral, a APE1 possui duas funções distintas, a redox e a de reparo do DNA. A atividade redox desta enzima, responsável por denominá-la também como REF1 (fator redutor efector 1), é codificada pela região N-terminal, onde está situada a sequência de localização nuclear composta por 1 a 36 resíduos (MOL et al., 2000; SHAH et al., 2017). Já a atividade de reparo do DNA é codificada pelo sítio C-Terminal da APE1, onde os resíduos Fen266, Trp280 e Leu282 são responsáveis por reconhecer e se ligar aos sítiosapurínicos/pirimidínicos formados no DNA (KELLEY; GEORGIADIS; FISHEL, 2012; MANTHA; SARKAR; TELL, 2014).

A relação entre função de reparo da APE1 com a manutenção dos mecanismos de funcionamento da via BER é amplamente conhecida. A APE1 é responsável por atuar diretamente no controle de danos que podem levar a substituições, inserções ou deleções de base, que se não reparados conferem um alto potencial mutagênico ao DNA (LI; WILSON, 2014; PRAKASH; JOHNSON; PRAKASH, 2005). Além disto, a expressão correta e o desempenho preciso desta enzima são fatores imprescindíveis na manutenção genômica, tendo em vista que a sua própria atuação de clivagem na BER

causa um desequilíbrio que demanda o reparo rápido e eficiente (BELANGER et al., 2016; WHITAKER et al., 2017).

No BER, a APE1 se liga ao sítio AP, formado através da excisão da base danificada pela DNA glicosilase, e provoca a quebra do local 5' no esqueleto fosfodiéster do DNA, gerando uma região composta por um grupo iniciador 3'-hidroxil e um fosfato de 5'-desoxirribose (5'dRP) (SCHERMERHORN; DELANEY, 2013). Enquanto uma das fitas do DNA permanece com uma base independente, o sítio AP localizado na fita oposta fica totalmente ligado ao sítio ativo da APE1, permanecendo assim até o início da atuação da próxima enzima (POL β) da via, com o intuito de assegurar a continuidade do mecanismo de reparo (MOL et al., 2000; PEDDI et al., 2006).

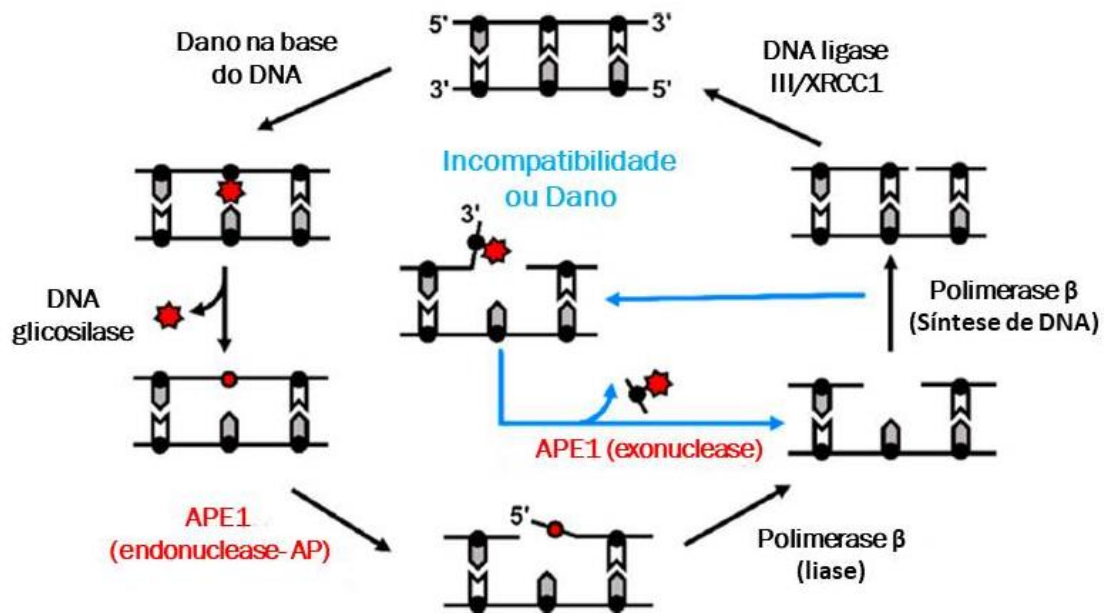


Figura 8. Atividade da APE1 endonuclease (preto) e exonuclease (azul) na verificação de incompatibilidades e remoção de danos (vermelho) na região na 3'. Fonte: WHITAKER; FLYNN; FREUDENTHAL (2018).

Uma das principais atividades da APE1 na via BER é o reparo de danos causados pelo estresse oxidativo, o que pode sugerir uma relação desta enzima com o surgimento de diversas patologias, principalmente as neurológicas. Várias patologias neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer e a doença de Parkinson, estão associadas aos altos níveis de radicais livres, tendo em vista que as células cerebrais

possuem altas taxas metabólicas e maior suscetibilidade à produção de danos ao DNA (REYNOLDS; STEWART, 2013). Por esta condição, o cérebro demanda uma maior resposta dos mecanismos de reparo aos danos causados por ROS e quando isto não ocorre, estes danos podem levar ao desenvolvimento ou progressão destes distúrbios neurológicos. Entretanto, estes indicativos não são suficientes para confirmar o papel da APE1 com estas doenças, apenas é possível afirmar que esta enzima desempenha um fator protetivo nas células neuronais (LEE et al., 2009; LI; WILSON, 2014).

Ainda são escassos os estudos que comprovem a contribuição da APE1 e BER no desenvolvimento das patologias associadas ao estresse oxidativo, porém, alguns trabalhos que investigaram a possível associação desta proteína em condições neuropatológicas, demonstraram alteração na expressão da APE1, mutações em regiões estruturais da molécula e de ligação do fator de transcrição do gene e a relação do envelhecimento com o retardo da resposta da APE1 em condições de estresse oxidativo (EDWARDS et al., 1998; OLKOWSKI, 1998; HEGDE et al., 2012). Além disto, um estudo mais recente demonstrou altos níveis de uma variável responsável por inativar a função de endonuclease AP em cérebros *post-mortem* de pacientes diagnosticados com a doença de Alzheimer ou Parkinson (HUANG et al., 2010). Gencer et al. (2012), verificaram em seu estudo, que o genótipo polimórfico APE1 Glu/Glu confere risco significativo para o surgimento da DP.

Os polimorfismos genéticos de base única (SNP) descritos para o gene APE1 incluem a alteração dos aminoácidos Gln51His, Ile64Val e Asp148Glu (HUNG et al., 2005). E dentre estes, o mais amplamente estudado é o SNP rs113040 que está localizado no éxon 4, códon 148 e é responsável pela troca da base timina (T) por uma guanina (G), dando origem à um aminoácido de glutamato (Glu) ao invés do aspartato (Asp) (ALI et al., 2014; LI; WILSON, 2014). Esta troca de aminoácidos esta relacionada à redução ou inativação da função de reparo do DNA da APE1 e suscetibilidade ao desenvolvimento de doenças. O alelo G foi identificado como fator de alteração na comunicação da APE1 com as outras enzimas da BER, além da inativação da sua atividade endonuclease. Esse possui frequência alélica mundial de 62% para o alelo T e 38% para o alelo G (DAI, 2015).

1.8.2 Gene XRCC1

O gene de complementação cruzada de reparo de raios-X 1 (XRCC1) está localizado no cromossomo 19 (19q13.2) (Figura 13), possui 17 éxons, codifica uma proteína “*scaffold*” de mesmo nome (XRCC1) e representa um componente fundamental na via de reparo do DNA por excisão de bases (THACKER; ZDZIENICKA, 2003).

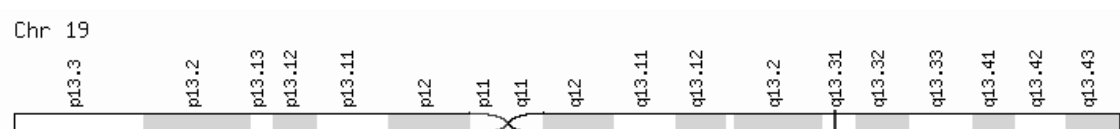


Figura 9. Localização do gene XRCC1 no cromossomo 19 (19q13.2). Fonte: <https://www.genecards.org/cgi-in/carddisp.pl?gene=APEX1&keywords=XRCC1>.

A proteína XRCC1 possui 633 aminoácidos (70kDa), pertencente ao grupo de proteínas “*scaffold*” que atuam em vários processos de sinalização enzimática. Está diretamente relacionada com o reparo de quebras SSB na via BER e apesar de não desenvolver uma função enzimática, a XRCC1 é fundamental no recrutamento e controle dos componentes de reparo desta via, atuando principalmente na interação e coordenação das proteínas responsáveis por todas as etapas de reparo desta via (CALDECOTT, 2019a; STERPONE; COZZI, 2010).

A XRCC1 é responsável pela transdução de sinal e localização de proteínas como as glicosilases, APE1, DNA ligase IIIa, DNA polimerase β , PARP1 e PARP 2, organizando-as em complexos referentes às suas funções específicas (DE VOS; SCHREIBER; DANTZER, 2012). Este processo coordenado da XRCC1 ocorre devido às suas características estruturais, apresentando domínios funcionais específicos pela sinalização das proteínas correspondentes (THOMPSON; WEST, 2000). Estes domínios são subdivididos em N-terminal (NDT), BRCT-I central e BRCT-II terminal, separados por dois outros domínios intercalados de sinalização celular e fosforilação da polinucleótideo fosfatase quinase (PNKP). O N-terminal é composto por 160 aminoácidos, responsável por interagir com a Pol β . O BRCT-I central com 90 aminoácidos interage com a PARP1, PARP2, poli (ADP-ribose) e o DNA, enquanto que o BRCT-II possui 100 aminoácidos e atua formando um complexo com a DNA ligase III (BRESLIN et al., 2017; POLO et al., 2019).

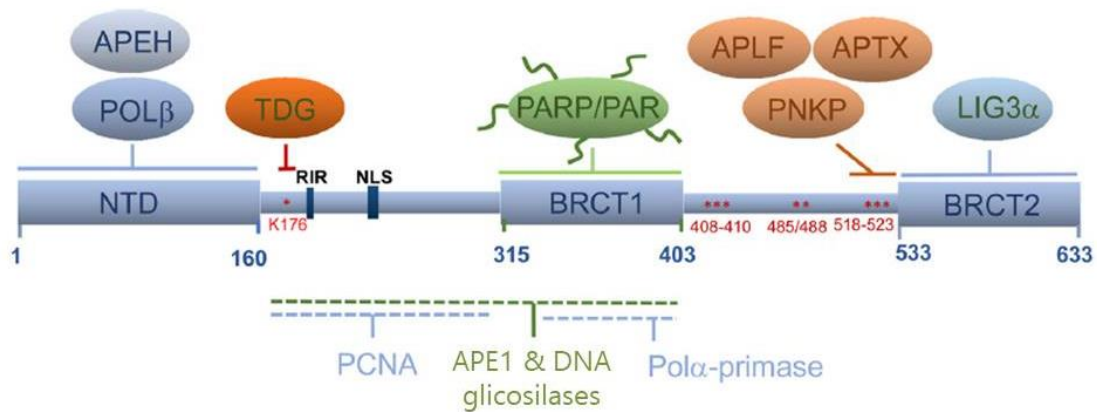


Figura 10. Demonstração da ligação das proteínas, envolvidas na via BER, no domínio correspondente (NTD, BRCT1 e BRCT2) do gene XRCC1. Fonte: CALDECOTT, (2019).

O desempenho da XRCC1 na BER é imprescindível na manutenção das funções celulares, principalmente nas fases G1 e S do ciclo celular, tendo em vista que a análise em ratos demonstrou que a ausência na expressão da XRCC1 influenciou na morte destes indivíduos na primeira fase da formação embrionária (FAN, 2004; KULKARNI et al., 2008). Além disto, como a via BER é responsável pelo reparo de danos ocasionados pelo estresse oxidativo e a XRCC1 é responsável por controlar praticamente toda a cascata enzimática desta via, existe um forte indicativo de que alterações que influenciem na execução das funções desta proteína podem aumentar o risco de desenvolvimento de neuropatologias (BREM, 2005).

GENCER et al (2012) demonstraram uma relação entre o polimorfismo Arg399Gln com o risco aumentado para DP e ROSS; TRUANT, 2017 relataram que mutações que causam a inativação de XRCC1 em ratos foram capazes de iniciar um processo degenerativo nas células neuronais. Desta forma, estudos sugerem que as alterações provocadas por polimorfismos no gene XRCC1 são capazes de prejudicar o reparo do DNA devido à inibição de sua função de sinalização enzimática (JIAO et al., 2006; MATEUCA et al., 2006; ROSSIT et al., 2002). Aproximadamente 60 polimorfismos já foram descritos para o gene XRCC1, mas os SNPs mais comumente estudados são o Arg194Trp, Arg280His e Arg399Gln (LACZMANSKA et al., 2006).

O Arg194Trp ocorre no éxon 6 (rs1799782) e é responsável pela modificação de um aminoácido de arginina por um triptofano e da base de citosina (C) para timina (T). O Arg280His localiza-se no éxon 9 (rs25489) e troca uma arginina por histidina e a base

G para A. O último SNP é encontrado no éxon 10 (rs25487), substituindo uma arginina porjetpor uma glutamina (Arg399Gln) e a base G por A (WANG et al., 2008).

Os estudos analisados acima demonstram a necessidade de mais pesquisas que avaliem as variantes do gene *APE1* (rs1130409) e do gene *XRCC1* (rs25487) em doenças neurodegenerativas, principalmente na doença de Parkinson, tendo em vista que estes genes estão associados a principal via de reparo do estresse oxidativo, um dos fatores mais amplamente discutidos no processo neurodegenerativo da DP. Além disto, as causa do estresse oxidativo ainda é pouco esclarecida e a relação com a terapia pode ser um aspecto importante para o esclarecimento das condições que influenciam na progressão da DP e desenvolvimento de terapias personalizadas através do perfil genético dos pacientes.

2. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Investigar a relação entre os polimorfismos funcionais dos genes de reparo do DNA *APE1* e *XRCC1* e os efeitos da terapia com levodopa em pacientes atendidos e diagnosticados com a doença de Parkinson pelo ambulatório Pró-Parkinson do Hospital das clínicas da UFPE.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar a distribuição do polimorfismo Asp148Glu (rs1130409) do gene de reparo *APE1* em indivíduos com a doença de Parkinson atendidos no ambulatório Pró-Parkinson do Hospital das clínicas da UFPE.
- Avaliar a distribuição do polimorfismo Arg399Gln (rs25487) do gene de reparo *XRCC1* em indivíduos com a doença de Parkinson atendidos no ambulatório Pró-Parkinson do Hospital das clínicas da UFPE.
- Investigar a relação entre os polimorfismos em estudo com os aspectos farmacogenéticos e o surgimento de sintomas adversos na população de estudo.

3. REFERÊNCIAS

AARSLAND, D.; ALVES, G.; LARSEN, J. P. Disorders of motivation, sexual conduct, and sleep in Parkinson's disease. **Advances in Neurology**, v. 96, p. 56–64, 2005.

ABSHIRE, E. T. et al. The structure of human Nocturnin reveals a conserved ribonuclease domain that represses target transcript translation and abundance in cells. **Nucleic Acids Research**, v. 46, n. 12, p. 6257–6270, 6 jul. 2018.

AHLSKOG, J. E.; MUENTER, M. D. Frequency of levodopa-related dyskinesias and motor fluctuations as estimated from the cumulative literature: Levodopa Motor Complication Frequency. **Movement Disorders**, v. 16, n. 3, p. 448–458, maio 2001.

ALDAKHEEL, A.; KALIA, L. V.; LANG, A. E. Pathogenesis-Targeted, Disease-Modifying Therapies in Parkinson Disease. **Neurotherapeutics**, v. 11, n. 1, p. 6–23, jan. 2014.

ALI, K. et al. Germline Variations of Apurinic/Apyrimidinic Endonuclease 1 (APEX1) Detected in Female Breast Cancer Patients. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 15, n. 18, p. 7589–7595, 11 out. 2014.

ALI, S. F.; BINIENDA, Z. K.; IMAM, S. Z. Molecular Aspects of Dopaminergic Neurodegeneration: Gene-Environment Interaction in Parkin Dysfunction. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 8, n. 12, p. 4702–4713, 16 dez. 2011.

ANDRADE, L. N. DE S. et al. Evidence for premature aging due to oxidative stress in iPSCs from Cockayne syndrome. **Human Molecular Genetics**, v. 21, n. 17, p. 3825–3834, 1 set. 2012.

ARAGÃO, F. A. Influências do envelhecimento, do tempo de evolução da doença e do estado cognitivo sobre os episódios de quedas, em uma população parkinsoniana. **Fisioterapia Brasil**, v. 6, n. 4, p. 250, 18 mar. 2018.

ARAÚJO, I. S.; ANDRAUS, C. F. Considerações acerca do tratamento cirúrgico da doença de Parkinson. **Rev. bras. neurol**, v. 38, n. 2/3, p. 26–31, 2002.

ASANUMA, M.; MIYAZAKI, I.; OGAWA, N. Dopamine- or L-DOPA-induced neurotoxicity: The role of dopamine quinone formation and tyrosinase in a model of Parkinson's disease. **Neurotoxicity Research**, v. 5, n. 3, p. 165–176, jan. 2003.

BALDIVIA, B. et al. Dementia in Parkinson's disease: a Brazilian sample. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 69, n. 5, p. 733–738, out. 2011.

BARTKOVA, J. et al. DNA damage response as a candidate anti-cancer barrier in early human tumorigenesis. **Nature**, v. 434, n. 7035, p. 864–870, abr. 2005.

- BEARD, W. A.; WILSON, S. H. Structure and Mechanism of DNA Polymerase β . **Chemical Reviews**, v. 106, n. 2, p. 361–382, fev. 2006.
- BELANGER, K. K. et al. The Potential Role of 8-Oxoguanine DNA Glycosylase-Driven DNA Base Excision Repair in Exercise-Induced Asthma. **Mediators of Inflammation**, v. 2016, p. 1–15, 2016.
- BERRA, C. M.; MENCK, C. F. M.; DI MASCIO, P. Estresse oxidativo, lesões no genoma e processos de sinalização no controle do ciclo celular. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1340–1344, dez. 2006.
- BJÖRKLUND, A.; DUNNETT, S. B. Dopamine neuron systems in the brain: an update. **Trends in Neurosciences**, v. 30, n. 5, p. 194–202, maio 2007.
- BLANDINI, F. Neural and Immune Mechanisms in the Pathogenesis of Parkinson's Disease. **Journal of Neuroimmune Pharmacology**, v. 8, n. 1, p. 189–201, mar. 2013.
- BOEVE, B. F. et al. Pathophysiology of REM sleep behaviour disorder and relevance to neurodegenerative disease. **Brain**, v. 130, n. 11, p. 2770–2788, 5 abr. 2007.
- BORGOHAIN, R. et al. Randomized trial of safinamide add-on to levodopa in Parkinson's disease with motor fluctuations: Safinamide Add-On to L-Dopa in Mid-to-Late PD. **Movement Disorders**, v. 29, n. 2, p. 229–237, fev. 2014.
- BOVOLENTA, T. M.; FELÍCIO, A. C. Parkinson's patients in the Brazilian Public Health Policy context. **Einstein (São Paulo)**, v. 14, n. 3, p. 7–9, set. 2016.
- BRAAK, H. et al. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. **Neurobiology of Aging**, v. 24, n. 2, p. 197–211, mar. 2003.
- BRAAK, H.; BRAAK, E. Pathoanatomy of Parkinson's disease. **Journal of Neurology**, v. 247, n. S2, p. II3–II10, 10 abr. 2000.
- BRAVO, P. A. F.; NASSIF, M. C. Doença de Parkinson: terapêutica atual e avançada. **Pharmacia Brasileira**, v. 55, p. 25–29, 2006.
- BREM, R. XRCC1 is required for DNA single-strand break repair in human cells. **Nucleic Acids Research**, v. 33, n. 8, p. 2512–2520, 28 abr. 2005.
- BRESLIN, C. et al. The Rev1 interacting region (RIR) motif in the scaffold protein XRCC1 mediates a low-affinity interaction with polynucleotide kinase/phosphatase (PNKP) during DNA single-strand break repair. **Journal of Biological Chemistry**, v. 292, n. 39, p. 16024–16031, 29 set. 2017.
- BROOKS, D. J.; PAVESE, N. Imaging biomarkers in Parkinson's disease. **Progress in Neurobiology**, v. 95, n. 4, p. 614–628, dez. 2011.

BRUNTON, L. L.; BRUNTON, L. L.; CHABNER, B. A. **As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman & Gilman (12a. ed.)**. São Paulo: Grupo A - AMGH, 2012.

CABELOF, D. C. Haploinsufficiency in mouse models of DNA repair deficiency: modifiers of penetrance. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 69, n. 5, p. 727–740, mar. 2012.

CABREIRA, V.; MASSANO, J. Doença de Parkinson: Revisão Clínica e Atualização. **Acta Médica Portuguesa**, v. 32, n. 10, p. 661, 1 out. 2019.

CACABELOS, R. Parkinson's Disease: From Pathogenesis to Pharmacogenomics. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 3, p. 551, 4 mar. 2017.

CALABRESE, V. et al. Oxidative stress, mitochondrial dysfunction and cellular stress response in Friedreich's ataxia. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 233, n. 1–2, p. 145–162, jun. 2005.

CALDECOTT, K. W. XRCC1 and DNA strand break repair. **DNA Repair**, v. 2, n. 9, p. 955–969, set. 2003.

CALDECOTT, K. W. XRCC1 protein; Form and function. **DNA Repair**, v. 81, p. 102664, set. 2019a.

CALDECOTT, K. W. XRCC1 protein; Form and function. **DNA Repair**, v. 81, p. 102664, set. 2019b.

CHAIM, I. A. et al. A novel role for transcription-coupled nucleotide excision repair for the *in vivo* repair of 3, N^4 -ethenocytosine. **Nucleic Acids Research**, p. gkx015, 23 jan. 2017.

CHEN, T. et al. Inhibition of Ape1 Redox Activity Promotes Odonto/osteogenic Differentiation of Dental Papilla Cells. **Scientific Reports**, v. 5, n. 1, dez. 2015.

CHINTA, S. J.; ANDERSEN, J. K. Redox imbalance in Parkinson's disease. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 1780, n. 11, p. 1362–1367, nov. 2008.

CHRISTMANN, M. et al. Mechanisms of human DNA repair: an update. **Toxicology**, v. 193, n. 1–2, p. 3–34, nov. 2003.

CILIA, R. et al. The modern pre-levodopa era of Parkinson's disease: insights into motor complications from sub-Saharan Africa. **Brain**, v. 137, n. 10, p. 2731–2742, 1 out. 2014.

CONNOLLY, B. S.; LANG, A. E. Pharmacological Treatment of Parkinson Disease: A Review. **JAMA**, v. 311, n. 16, p. 1670, 23 abr. 2014.

CONWAY, K. A. Kinetic Stabilization of the alpha -Synuclein Protofibril by a Dopamine-alpha -Synuclein Adduct. **Science**, v. 294, n. 5545, p. 1346–1349, 9 nov. 2001.

COPPEDÈ, F. Variants and polymorphisms of DNA base excision repair genes and Alzheimer's disease. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 300, n. 1–2, p. 200–201, jan. 2011.

CÔRTE, B.; LODOVICI NETO, P. A musicoterapia na doença de Parkinson. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 14, n. 6, p. 2295–2304, dez. 2009.

DAI, Z.-J. Relationship between apurinic endonuclease 1 Asp148Glu polymorphism and gastrointestinal cancer risk: An updated meta-analysis. **World Journal of Gastroenterology**, v. 21, n. 16, p. 5081, 2015.

DALLE-DONNE, I. et al. Biomarkers of Oxidative Damage in Human Disease. **Clinical Chemistry**, v. 52, n. 4, p. 601–623, 1 abr. 2006.

DAMASCENO DOS SANTOS, E. U. et al. Pharmacogenetic Profile and the Occurrence of Visual Hallucinations in Patients With Sporadic Parkinson's Disease. **The Journal of Clinical Pharmacology**, v. 59, n. 7, p. 1006–1013, jul. 2019.

DE LA MONTE, S. M.; WANDS, J. R. Molecular indices of oxidative stress and mitochondrial dysfunction occur early and often progress with severity of Alzheimer's disease. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 9, n. 2, p. 167–181, 14 jul. 2006.

DE LAAT, J.; LE, T. G. Effects of chloride ions on the iron(III)-catalyzed decomposition of hydrogen peroxide and on the efficiency of the Fenton-like oxidation process. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 66, n. 1–2, p. 137–146, jun. 2006.

DE LAU, L. M.; BRETELER, M. M. Epidemiology of Parkinson's disease. **The Lancet Neurology**, v. 5, n. 6, p. 525–535, jun. 2006.

DE VOS, M.; SCHREIBER, V.; DANTZER, F. The diverse roles and clinical relevance of PARPs in DNA damage repair: Current state of the art. **Biochemical Pharmacology**, v. 84, n. 2, p. 137–146, jul. 2012.

DIANOV, G. L. et al. Single Nucleotide Patch Base Excision Repair Is the Major Pathway for Removal of Thymine Glycol from DNA in Human Cell Extracts. **Journal of Biological Chemistry**, v. 275, n. 16, p. 11809–11813, 21 abr. 2000.

DIANOV, G. L.; HÜBSCHER, U. Mammalian Base Excision Repair: the Forgotten Archangel. **Nucleic Acids Research**, v. 41, n. 6, p. 3483–3490, abr. 2013.

DIAS, V.; JUNN, E.; MOURADIAN, M. M. The Role of Oxidative Stress in Parkinson's Disease. **Journal of Parkinson's Disease**, v. 3, n. 4, p. 461–491, 2013.

- DICKSON, D. W. et al. Neuropathological assessment of Parkinson's disease: refining the diagnostic criteria. **The Lancet Neurology**, v. 8, n. 12, p. 1150–1157, dez. 2009.
- DONG, J. et al. Current Pharmaceutical Treatments and Alternative Therapies of Parkinson's Disease. **Current Neuropharmacology**, v. 14, n. 4, p. 339–355, 2016.
- DROZDZIK, M.; BIALECKA, M.; KURZAWSKI, M. Pharmacogenetics of Parkinson's Disease – Through Mechanisms of Drug Actions. **Current Genomics**, v. 14, n. 8, p. 568–577, 31 fev. 2014.
- DUNCAN, R. P.; EARHART, G. M. Are the Effects of Community-Based Dance on Parkinson Disease Severity, Balance, and Functional Mobility Reduced with Time? A 2-Year Prospective Pilot Study. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v. 20, n. 10, p. 757–763, out. 2014.
- DYRKHEEVA, N. S.; LEBEDEVA, N. A.; LAVRIK, O. I. AP endonuclease 1 as a key enzyme in repair of apurinic/apyrimidinic sites. **Biochemistry (Moscow)**, v. 81, n. 9, p. 951–967, set. 2016.
- EDWARDS, M. et al. APE/Ref-1 responses to oxidative stress in aged rats. **Journal of Neuroscience Research**, v. 54, n. 5, p. 635–638, 1 dez. 1998.
- ELLIS, J. M.; FELL, M. J. Current approaches to the treatment of Parkinson's Disease. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 27, n. 18, p. 4247–4255, set. 2017.
- ERROL, C. F. et al. **DNA Repair and Mutagenesis, Second Edition**. [s.l.] American Society of Microbiology, 2006.
- FAN, J. XRCC1 co-localizes and physically interacts with PCNA. **Nucleic Acids Research**, v. 32, n. 7, p. 2193–2201, 19 abr. 2004.
- FEDOROVA, T. N. et al. The state of systemic oxidative stress during Parkinson's disease. **Neurochemical Journal**, v. 11, n. 4, p. 340–345, out. 2017.
- FERREIRA, F. V. et al. A relação da postura corporal com a prosódia na doença de parkinson: estudo de caso. **Revista CEFAC**, v. 9, n. 3, p. 319–329, set. 2007.
- FORTINI, P.; DOGLIOTTI, E. Base damage and single-strand break repair: Mechanisms and functional significance of short- and long-patch repair subpathways. **DNA Repair**, v. 6, n. 4, p. 398–409, 1 abr. 2007.
- FOX, S. H. Erratum to: Non-dopaminergic Treatments for Motor Control in Parkinson's Disease. **Drugs**, v. 74, n. 11, p. 1305–1305, jul. 2014.
- FRY, R. C.; BEGLEY, T. J.; SAMSON, L. D. GENOME-WIDE RESPONSES TO DNA-DAMAGING AGENTS. **Annual Review of Microbiology**, v. 59, n. 1, p. 357–377, out. 2005.

FU, D.; CALVO, J. A.; SAMSON, L. D. Balancing repair and tolerance of DNA damage caused by alkylating agents. **Nature Reviews Cancer**, v. 12, n. 2, p. 104–120, fev. 2012.

FUKAE, J. et al. Expression of 8-oxoguanine DNA glycosylase (OGG1) in Parkinson's disease and related neurodegenerative disorders. **Acta Neuropathologica**, v. 109, n. 3, p. 256–262, abr. 2005.

FUNG, H.; DEMPLE, B. A Vital Role for Ape1/Ref1 Protein in Repairing Spontaneous DNA Damage in Human Cells. **Molecular Cell**, v. 17, n. 3, p. 463–470, fev. 2005.

GENCER, M. et al. DNA Repair Genes in Parkinson's Disease. **Genetic Testing and Molecular Biomarkers**, v. 16, n. 6, p. 504–507, jun. 2012.

GOEDE, C. J. T. DE et al. The effects of physical therapy in Parkinson's Disease: A research synthesis. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 82, n. 4, p. 509–515, abr. 2001.

GOELLNER, E. M. et al. PCNA and Msh2-Msh6 Activate an Mlh1-Pms1 Endonuclease Pathway Required for Exo1-Independent Mismatch Repair. **Molecular Cell**, v. 55, n. 2, p. 291–304, jul. 2014.

GOETZ, C. G. et al. Movement Disorder Society-sponsored revision of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS): Process, format, and clinimetric testing plan. **Movement Disorders**, v. 22, n. 1, p. 41–47, jan. 2007.

GOETZ, C. G. The History of Parkinson's Disease: Early Clinical Descriptions and Neurological Therapies. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 1, n. 1, p. a008862–a008862, 1 set. 2011.

GOLDMAN, S. M. et al. Solvent exposures and parkinson disease risk in twins. **Annals of Neurology**, v. 71, n. 6, p. 776–784, jun. 2012.

GOLDSTEIN, N. **Parkinson's disease**. New York: Chelsea House, 2009.

GOULART, F. et al. Analysis of functional performance in patients with Parkinson's disease. **Acta Fisiátrica**, v. 11, n. 1, 2004.

GRANT, S. S. et al. Eradication of bacterial persisters with antibiotic-generated hydroxyl radicals. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 30, p. 12147–12152, 24 jul. 2012.

GREEN, K.; BRAND, M. D.; MURPHY, M. P. Prevention of Mitochondrial Oxidative Damage as a Therapeutic Strategy in Diabetes. **Diabetes**, v. 53, n. Supplement 1, p. S110–S118, 1 fev. 2004.

GUTOWSKI, M.; KOWALCZYK, S. A study of free radical chemistry: their role and pathophysiological significance. **Acta Biochimica Polonica**, v. 60, n. 1, 19 mar. 2013.

- HADI, M. Z. Functional characterization of Ape1 variants identified in the human population. **Nucleic Acids Research**, v. 28, n. 20, p. 3871–3879, 15 out. 2000.
- HALL, J. E.; GUYTON, A. C. **Guyton and Hall textbook of medical physiology**. 12th ed ed. Philadelphia, Pa: Saunders/Elsevier, 2011.
- HALLIDAY, G.; LEES, A.; STERN, M. Milestones in Parkinson's disease-Clinical and pathologic features. **Movement Disorders**, v. 26, n. 6, p. 1015–1021, maio 2011.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. Fifth edition ed. Oxford, United Kingdom: Oxford University Press, 2015.
- HEGDE, M. L. et al. Oxidative genome damage and its repair: Implications in aging and neurodegenerative diseases. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 133, n. 4, p. 157–168, abr. 2012.
- HOEHN, M. M.; YAHR, M. D. Parkinsonism: onset, progression, and mortality. **Neurology**, v. 17, n. 5, p. 427–427, 1 maio 1967.
- HOEIJMAKERS, J. H. J. Genome maintenance mechanisms for preventing cancer. **Nature**, v. 411, n. 6835, p. 366–374, maio 2001.
- HOLLOWAY, R. G. et al. Pramipexole vs levodopa as initial treatment for Parkinson disease: a 4-year randomized controlled trial. **Archives of Neurology**, v. 61, n. 7, p. 1044–1053, jul. 2004.
- HOROWITZ, M. P.; GREENAMYRE, J. T. Gene–Environment Interactions in Parkinson's Disease: The Importance of Animal Modeling. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 88, n. 4, p. 467–474, out. 2010.
- HU, J. J. Amino acid substitution variants of APE1 and XRCC1 genes associated with ionizing radiation sensitivity. **Carcinogenesis**, v. 22, n. 6, p. 917–922, 1 jun. 2001.
- HUANG, E. et al. The role of Cdk5-mediated apurinic/aprimidinic endonuclease 1 phosphorylation in neuronal death. **Nature Cell Biology**, v. 12, n. 6, p. 563–571, jun. 2010.
- HUFFMAN, J. L.; SUNDHEIM, O.; TAINER, J. A. DNA base damage recognition and removal: New twists and grooves. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 577, n. 1–2, p. 55–76, set. 2005.
- HUGHES, A. J. et al. Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: a clinico-pathological study of 100 cases. **Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**, v. 55, n. 3, p. 181–184, 1 mar. 1992.
- HUGHES, A. J. et al. The accuracy of diagnosis of parkinsonian syndromes in a specialist movement disorder service. **Brain**, v. 125, n. 4, p. 861–870, abr. 2002.

- HUNG, R. J. et al. Genetic Polymorphisms in the Base Excision Repair Pathway and Cancer Risk: A HuGE Review. **American Journal of Epidemiology**, v. 162, n. 10, p. 925–942, 15 nov. 2005.
- HWANG, O. Role of Oxidative Stress in Parkinson's Disease. **Experimental Neurobiology**, v. 22, n. 1, p. 11–17, 30 mar. 2013.
- IGNATOV, A. V.; BONDARENKO, K. A.; MAKAROVA, A. V. Non-bulky Lesions in Human DNA: the Ways of Formation, Repair, and Replication. **Acta Naturae**, v. 9, n. 3, p. 12–26, set. 2017.
- IRANZO, A. et al. Neuropathology of prodromal Lewy body disease: Prodromal Lewy Body Disease. **Movement Disorders**, v. 29, n. 3, p. 410–415, mar. 2014.
- IYAMA, T.; WILSON, D. M. DNA repair mechanisms in dividing and non-dividing cells. **DNA Repair**, v. 12, n. 8, p. 620–636, ago. 2013.
- JACOBS, A. L.; SCHÄR, P. DNA glycosylases: in DNA repair and beyond. **Chromosoma**, v. 121, n. 1, p. 1–20, fev. 2012.
- JANKOVIC, J. Parkinson's disease: clinical features and diagnosis. **Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**, v. 79, n. 4, p. 368–376, 1 abr. 2008.
- JENNER, P. Treatment of the later stages of Parkinson's disease – pharmacological approaches now and in the future. **Translational Neurodegeneration**, v. 4, n. 1, dez. 2015.
- JEPPESEN, D. K.; BOHR, V. A.; STEVNSNER, T. DNA repair deficiency in neurodegeneration. **Progress in Neurobiology**, v. 94, n. 2, p. 166–200, jul. 2011.
- JIAO, L. et al. Selected polymorphisms of DNA repair genes and risk of pancreatic cancer. **Cancer Detection and Prevention**, v. 30, n. 3, p. 284–291, jan. 2006.
- KALIA, L. V.; LANG, A. E. Parkinson's disease. **The Lancet**, v. 386, n. 9996, p. 896–912, ago. 2015.
- KALIA, S. K.; SANKAR, T.; LOZANO, A. M. Deep brain stimulation for Parkinson's disease and other movement disorders: **Current Opinion in Neurology**, v. 26, n. 4, p. 374–380, ago. 2013.
- KALYANARAMAN, B. Teaching the basics of redox biology to medical and graduate students: Oxidants, antioxidants and disease mechanisms. **Redox Biology**, v. 1, n. 1, p. 244–257, 2013.
- KAUR, D.; ANDERSEN, J. Does cellular iron dysregulation play a causative role in Parkinson's disease? **Ageing Research Reviews**, v. 3, n. 3, p. 327–343, jul. 2004.

KELLEY, M. R.; GEORGIADIS, M. M.; FISHEL, M. L. APE1/Ref-1 role in redox signaling: translational applications of targeting the redox function of the DNA repair/redox protein APE1/Ref-1. **Current Molecular Pharmacology**, v. 5, n. 1, p. 36–53, jan. 2012.

KIM, Y. et al. Pathology of Neurodegenerative Diseases. In: GONZALEZ-QUEVEDO, A. (Ed.). . **Brain Damage - Bridging Between Basic Research and Clinics**. [s.l.] InTech, 2012.

KOPPULA, S. et al. Recent Advances on the Neuroprotective Potential of Antioxidants in Experimental Models of Parkinson's Disease. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, n. 8, p. 10608–10629, 23 ago. 2012.

KOSTA, P. et al. MRI evaluation of the basal ganglia size and iron content in patients with Parkinson's disease. **Journal of Neurology**, v. 253, n. 1, p. 26–32, jan. 2006.

KOURY, J. C.; DONANGELO, C. M. Zinco, estresse oxidativo e atividade física. **Revista de Nutrição**, v. 16, n. 4, p. 433–441, dez. 2003.

KROKAN, H. E.; BJORAS, M. Base Excision Repair. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 5, n. 4, p. a012583–a012583, 1 abr. 2013.

KUCHERLAPATI, M. et al. Haploinsufficiency of Flap endonuclease (Fen1) leads to rapid tumor progression. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 99, n. 15, p. 9924–9929, 23 jul. 2002.

KULKARNI, A. et al. XRCC1 protects against the lethality of induced oxidative DNA damage in nondividing neural cells. **Nucleic Acids Research**, v. 36, n. 15, p. 5111–5121, 1 set. 2008.

KUMAR, H. et al. The Role of Free Radicals in the Aging Brain and Parkinson's Disease: Convergence and Parallelism. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, n. 8, p. 10478–10504, 21 ago. 2012.

KWOLEK, A. [Rehabilitation of patients with Parkinson disease]. **Neurologia I Neurochirurgia Polska**, v. 37 Suppl 5, p. 211–220, 2003.

LACZMANSKA, I. et al. Influence of polymorphisms in xenobiotic-metabolizing genes and DNA-repair genes on diepoxybutane-induced SCE frequency. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 47, n. 9, p. 666–673, dez. 2006.

LAMÔNICA, D. A. C.; FUKUSHIRO, A. P.; MIGUEL, H. C. A importância do processo terapêutico fonoaudiológico em portador de síndrome parkinsoniana: estudo de caso. **Salusvita**, v. 16, n. 1, p. 125–133, 1997.

- LAN, L. et al. In situ analysis of repair processes for oxidative DNA damage in mammalian cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 101, n. 38, p. 13738–13743, 21 set. 2004.
- LANDO, D. et al. A Redox Mechanism Controls Differential DNA Binding Activities of Hypoxia-inducible Factor (HIF) 1 α and the HIF-like Factor. **Journal of Biological Chemistry**, v. 275, n. 7, p. 4618–4627, 18 fev. 2000.
- LEANDRO, G. S.; SYKORA, P.; BOHR, V. A. The impact of base excision DNA repair in age-related neurodegenerative diseases. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 776, p. 31–39, jun. 2015.
- LEE, Y. et al. The genesis of cerebellar interneurons and the prevention of neural DNA damage require XRCC1. **Nature Neuroscience**, v. 12, n. 8, p. 973–980, ago. 2009.
- LI, M.; WILSON, D. M. Human Apurinic/Apyrimidinic Endonuclease 1. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 20, n. 4, p. 678–707, fev. 2014.
- LIN, M. T.; BEAL, M. F. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases. **Nature**, v. 443, n. 7113, p. 787–795, out. 2006.
- LINDAHL, T.; NYBERG, B. Heat-induced deamination of cytosine residues in deoxyribonucleic acid. **Biochemistry**, v. 13, n. 16, p. 3405–3410, jul. 1974.
- LOBO, V. et al. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. **Pharmacognosy Reviews**, v. 4, n. 8, p. 118, 2010.
- MAGUIRE-ZEISS, K. A.; SHORT, D. W.; FEDEROFF, H. J. Synuclein, dopamine and oxidative stress: co-conspirators in Parkinson's disease? **Molecular Brain Research**, v. 134, n. 1, p. 18–23, mar. 2005.
- MANOHARAN, S. et al. The Role of Reactive Oxygen Species in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease, Parkinson's Disease, and Huntington's Disease: A Mini Review. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, p. 1–15, 2016.
- MANTHA, A. K.; SARKAR, B.; TELL, G. A short review on the implications of base excision repair pathway for neurons: Relevance to neurodegenerative diseases. **Mitochondrion**, v. 16, p. 38–49, maio 2014.
- MARKKANEN, E. Not breathing is not an option: How to deal with oxidative DNA damage. **DNA Repair**, v. 59, p. 82–105, nov. 2017.
- MARNETT, L. J. Oxyradicals and DNA damage. **Carcinogenesis**, v. 21, n. 3, p. 361–370, mar. 2000.
- MARRAS, C.; LANG, A. Parkinson's disease subtypes: lost in translation? **Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**, v. 84, n. 4, p. 409–415, 1 abr. 2013.

- MATA, F. A. F. DA; BARROS, A. L. S.; LIMA, C. F. Avaliação do risco de queda em pacientes com Doença de Parkinson. **Revista Neurociências**, v. 16, n. 1, 30 abr. 1999.
- MATEUCA, R. et al. Chromosomal changes: induction, detection methods and applicability in human biomonitoring. **Biochimie**, v. 88, n. 11, p. 1515–1531, nov. 2006.
- MCLAUGHLIN, N. C. R. et al. Neuropsychiatric Symptoms in an Inpatient Parkinson's Disease Sample. **Parkinson's Disease**, v. 2014, p. 1–5, 2014.
- MI, S.; KLUNGLAND, A.; YANG, Y.-G. Base-excision repair and beyond —A short summary attributed to scientific achievements of Tomas Lindahl, Nobel Prize Laureate in Chemistry 2015. **Science China Life Sciences**, v. 59, n. 1, p. 89–92, jan. 2016.
- MILLER, R. L. et al. Oxidative and Inflammatory Pathways in Parkinson's Disease. **Neurochemical Research**, v. 34, n. 1, p. 55–65, jan. 2009.
- MINK, J. W. The Basal Ganglia and Involuntary Movements: Impaired Inhibition of Competing Motor Patterns. **Archives of Neurology**, v. 60, n. 10, p. 1365, 1 out. 2003.
- MISULIS, K. E.; HEAD, T. C. **Netter, neurologia essencial**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.
- MOL, C. D. et al. DNA-bound structures and mutants reveal abasic DNA binding by APE1 DNA repair and coordination. **Nature**, v. 403, n. 6768, p. 451–456, jan. 2000.
- MONACO, R. et al. Conformational Effects of a Common Codon 399 Polymorphism on the BRCT1 Domain of the XRCC1 Protein. **The Protein Journal**, v. 26, n. 8, p. 541–546, 5 nov. 2007.
- MONDERER, R.; THORPY, M. Sleep disorders and daytime sleepiness in Parkinson's disease. **Current Neurology and Neuroscience Reports**, v. 9, n. 2, p. 173–180, mar. 2009.
- MOORE, D. J. et al. MOLECULAR PATHOPHYSIOLOGY OF PARKINSON'S DISEASE. **Annual Review of Neuroscience**, v. 28, n. 1, p. 57–87, 21 jul. 2005.
- MORTUSEWICZ, O. Differential recruitment of DNA Ligase I and III to DNA repair sites. **Nucleic Acids Research**, v. 34, n. 12, p. 3523–3532, 19 jul. 2006.
- MÜLLER, T. Pharmacokinetic Considerations for the Use of Levodopa in the Treatment of Parkinson Disease: Focus on Levodopa/Carbidopa/Entacapone for Treatment of Levodopa-Associated Motor Complications. **Clinical Neuropharmacology**, v. 36, n. 3, p. 84–91, 2013.
- MUNCHAU, A. Pharmacological treatment of Parkinson's disease. **Postgraduate Medical Journal**, v. 76, n. 900, p. 602–610, 1 out. 2000.

- MUTARELLI, E. G.; OMURO, A. M. P.; ADONI, T. Hypersexuality following bilateral thalamic infarction: case report. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 64, n. 1, p. 146–148, mar. 2006.
- NICHOLSON, G.; PEREIRA, A. C.; HALL, G. M. Parkinson's disease and anaesthesia. **British Journal of Anaesthesia**, v. 89, n. 6, p. 904–916, dez. 2002.
- NORDBERG, J.; ARNÉR, E. S. J. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system¹ ¹This review is based on the licentiate thesis “Thioredoxin reductase—interactions with the redox active compounds 1-chloro-2,4-dinitrobenzene and lipoic acid” by Jonas Nordberg, 2001, Karolinska Institute, Stockholm, ISBN 91-631-1064-4. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 31, n. 11, p. 1287–1312, dez. 2001.
- OLANOW, C. W.; OBESO, J. A.; STOCCHI, F. Continuous dopamine-receptor treatment of Parkinson's disease: scientific rationale and clinical implications. **The Lancet Neurology**, v. 5, n. 8, p. 677–687, ago. 2006.
- OLKOWSKI, Z. L. Mutant AP endonuclease in patients with amyotrophic lateral sclerosis: **NeuroReport**, v. 9, n. 2, p. 239–242, jan. 1998.
- OMOI, N. et al. Influence of Oxidative Stress on Fusion of Pre-Synaptic Plasma Membranes of the Rat Brain with Phosphatidyl Choline Liposomes, and Protective Effect of Vitamin E. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**, v. 52, n. 4, p. 248–255, 2006.
- O'SULLIVAN, S. B. **Fisioterapia: avaliação e tratamento**. Barueri, SP: Manole, 2004.
- PARKINSON, J. An Essay on the Shaking Palsy. **The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences**, v. 14, n. 2, p. 223–236, maio 2002.
- PASCUCCI, B. et al. An altered redox balance mediates the hypersensitivity of Cockayne syndrome primary fibroblasts to oxidative stress: Alterations in oxidative metabolism in Cockayne. **Aging Cell**, v. 11, n. 3, p. 520–529, jun. 2012.
- PEDDI, S. R. et al. The human apurinic/aprimidinic endonuclease-1 suppresses activation of poly(adp-ribose) polymerase-1 induced by DNA single strand breaks. **Toxicology**, v. 224, n. 1–2, p. 44–55, jul. 2006.
- PEREIRA, D.; GARRETT, C. [Risk factors for Parkinson disease: an epidemiologic study]. **Acta Medica Portuguesa**, v. 23, n. 1, p. 15–24, fev. 2010.
- PEREIRA, J. S. Distúrbio respiratório na doença de Parkinson. **Fisioterapia Brasil**, v. 1, n. 1, 2 dez. 2016.

- PETERMANN, E.; KEIL, C.; OEI, S. L. Roles of DNA ligase III and XRCC1 in regulating the switch between short patch and long patch BER. **DNA Repair**, v. 5, n. 5, p. 544–555, maio 2006.
- PICCINI, P.; BROOKS, D. J. New developments of brain imaging for Parkinson's disease and related disorders. **Movement Disorders**, v. 21, n. 12, p. 2035–2041, dez. 2006.
- PIGNATELLO, J. J.; OLIVEROS, E.; MACKAY, A. Advanced Oxidation Processes for Organic Contaminant Destruction Based on the Fenton Reaction and Related Chemistry. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 36, n. 1, p. 1–84, jan. 2006.
- POLO, L. M. et al. Efficient Single-Strand Break Repair Requires Binding to Both Poly(ADP-Ribose) and DNA by the Central BRCT Domain of XRCC1. **Cell Reports**, v. 26, n. 3, p. 573–581.e5, jan. 2019.
- POSEN, J. et al. Young Women with PD: A Group Work Experience. **Social Work in Health Care**, v. 32, n. 1, p. 77–91, 28 fev. 2001.
- PRAKASH, S.; JOHNSON, R. E.; PRAKASH, L. EUKARYOTIC TRANSLATION SYNTHESIS DNA POLYMERASES: Specificity of Structure and Function. **Annual Review of Biochemistry**, v. 74, n. 1, p. 317–353, jun. 2005.
- PRZYBYLOWSKA-SYGUT, K. et al. Association of the Arg194Trp and the Arg399Gln Polymorphisms of the XRCC1 Gene With Risk Occurrence and the Response to Adjuvant Therapy Among Polish Women With Breast Cancer. **Clinical Breast Cancer**, v. 13, n. 1, p. 61–68, fev. 2013.
- PURSIAINEN, V. et al. Sweating in Parkinsonian patients with wearing-off. **Movement Disorders**, v. 22, n. 6, p. 828–832, 30 abr. 2007.
- RAO, K. S. DNA repair in aging rat neurons. **Neuroscience**, v. 145, n. 4, p. 1330–1340, abr. 2007.
- RAVINA, B. et al. The impact of depressive symptoms in early Parkinson disease. **Neurology**, v. 69, n. 4, p. 342–347, 24 jul. 2007.
- REIS, T. Doença de Parkinson. **Porto Alegre: Pallotti**, 2004.
- REYNOLDS, J. J.; STEWART, G. S. A single strand that links multiple neuropathologies in human disease. **Brain**, v. 136, n. 1, p. 14–27, jan. 2013.
- RONEN, A.; GLICKMAN, B. W. Human DNA repair genes. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 37, n. 3, p. 241–283, 2001.
- ROSS, C. A.; TRUANT, R. A unifying mechanism in neurodegeneration. **Nature**, v. 541, n. 7635, p. 34–35, jan. 2017.

ROSSIT, A. R. B. et al. Polymorphisms in the DNA repair gene XRCC1 and susceptibility to alcoholic liver cirrhosis in older Southeastern Brazilians. **Cancer Letters**, v. 180, n. 2, p. 173–182, jun. 2002.

ROSSOR, M. N. et al. The diagnosis of young-onset dementia. **The Lancet Neurology**, v. 9, n. 8, p. 793–806, ago. 2010.

ROY, R.; CHUN, J.; POWELL, S. N. BRCA1 and BRCA2: different roles in a common pathway of genome protection. **Nature Reviews Cancer**, v. 12, n. 1, p. 68–78, jan. 2012.

ROYCHOUDHURY, S. et al. Human Apurinic/Apyrimidinic Endonuclease (APE1) Is Acetylated at DNA Damage Sites in Chromatin, and Acetylation Modulates Its DNA Repair Activity. **Molecular and Cellular Biology**, v. 37, n. 6, 15 mar. 2017.

SABENS, E. A.; DISTLER, A. M.; MIEYAL, J. J. Levodopa Deactivates Enzymes That Regulate Thiol–Disulfide Homeostasis and Promotes Neuronal Cell Death: Implications for Therapy of Parkinson’s Disease. **Biochemistry**, v. 49, n. 12, p. 2715–2724, 30 mar. 2010.

SAMII, A.; NUTT, J. G.; RANSOM, B. R. Parkinson’s disease. **The Lancet**, v. 363, n. 9423, p. 1783–1793, maio 2004.

SAMPAIO, T. F. et al. *MAO-B* and *COMT* Genetic Variations Associated With Levodopa Treatment Response in Patients With Parkinson’s Disease. **The Journal of Clinical Pharmacology**, v. 58, n. 7, p. 920–926, jul. 2018.

SANTOS, L. S. et al. Polymorphisms in base excision repair genes and thyroid cancer risk. **Oncology Reports**, v. 28, n. 5, p. 1859–1868, nov. 2012.

SCHAPIRA, A. H. V. Etiology and Pathogenesis of Parkinson Disease. **Neurologic Clinics**, v. 27, n. 3, p. 583–603, ago. 2009.

SCHENKMAN, M. L. et al. Spinal Movement and Performance of a Standing Reach Task in Participants With and Without Parkinson Disease. **Physical Therapy**, v. 81, n. 8, p. 1400–1411, 1 ago. 2001.

SCHERMERHORN, K. M.; DELANEY, S. 122 Kinetics of apurinic/aprimidinic endonuclease 1 (APE1) on an authentic AP site or an AP site analog. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, v. 31, n. sup1, p. 78–78, jan. 2013.

SHAH, F. et al. Exploiting the Ref-1-APE1 node in cancer signaling and other diseases: from bench to clinic. **npj Precision Oncology**, v. 1, n. 1, dez. 2017.

SHAIKH, A. Y.; MARTIN, L. J. DNA base-excision repair enzyme apurinic/aprimidinic endonuclease/redox factor-1 is increased and competent in the

brain and spinal cord of individuals with amyotrophic lateral sclerosis. **NeuroMolecular Medicine**, v. 2, n. 1, p. 47–60, ago. 2002.

SHANNON, K. M. et al. Alpha-synuclein in colonic submucosa in early untreated Parkinson's disease. **Movement Disorders**, v. 27, n. 6, p. 709–715, maio 2012.

SHARMA, R. A.; DIANOV, G. L. Targeting base excision repair to improve cancer therapies. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 28, n. 3–4, p. 345–374, jun. 2007.

SHIMURA-MIURA, H. et al. Increased 8-oxo-dGTPase in the mitochondria of substantia nigral neurons in Parkinson's disease. **Annals of Neurology**, v. 46, n. 6, p. 920–924, dez. 1999.

SIAN-HÜLSMANN, J. et al. The relevance of iron in the pathogenesis of Parkinson's disease: Iron in Parkinson's disease. **Journal of Neurochemistry**, v. 118, n. 6, p. 939–957, set. 2011.

SILBERMAN, C. D. et al. Recognizing depression in patients with Parkinson's disease: accuracy and specificity of two depression rating scale. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 64, n. 2b, p. 407–411, jun. 2006.

SIMONELLI, V. et al. Crosstalk between mismatch repair and base excision repair in human gastric cancer. **Oncotarget**, v. 8, n. 49, p. 84827–84840, 17 out. 2017.

SOUZA, C. F. M. et al. A Doença de Parkinson e o Processo de Envelhecimento Motor. **Revista Neurociências**, v. 19, n. 4, p. 718–723, 31 mar. 2001.

SOUZA, C. F. M. et al. A Doença de Parkinson e o Processo de Envelhecimento Motor. **Revista Neurociências**, v. 19, n. 4, p. 718–723, 2011.

SOUZA, I. P. et al. CAPACIDADE FUNCIONAL EM IDOSOS COM DOENÇA DE ALZHEIMER E DOENÇA DE PARKINSON: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA. **Revista Pesquisa em Fisioterapia**, v. 4, n. 1, p. 78, 6 jun. 2014.

STACY, M.; HICKEY, P.; STACY, M. Available and emerging treatments for Parkinson's disease: a review. **Drug Design, Development and Therapy**, p. 241, maio 2011.

STERPONE, S.; COZZI, R. Influence of *XRCC1* Genetic Polymorphisms on Ionizing Radiation-Induced DNA Damage and Repair. **Journal of Nucleic Acids**, v. 2010, p. 1–6, 2010.

SVILAR, D. et al. Base Excision Repair and Lesion-Dependent Subpathways for Repair of Oxidative DNA Damage. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 14, n. 12, p. 2491–2507, 15 jun. 2011.

TEIVE, H. A. Etiopatogenia da Doença de Parkinson. **Revista Neurociências**, v. 13, n. 4, p. 201–214, 23 jan. 2019.

TELL, G. et al. The Intracellular Localization of APE1/Ref-1: More than a Passive Phenomenon? **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 7, n. 3–4, p. 367–384, mar. 2005.

THACKER, J.; ZDZIENICKA, M. Z. The mammalian XRCC genes: their roles in DNA repair and genetic stability. **DNA Repair**, v. 2, n. 6, p. 655–672, jun. 2003.

THAKUR, S. et al. APE1/Ref-1 as an emerging therapeutic target for various human diseases: phytochemical modulation of its functions. **Experimental & Molecular Medicine**, v. 46, n. 7, p. e106–e106, jul. 2014.

THOMPSON, L. H.; WEST, M. G. XRCC1 keeps DNA from getting stranded. **Mutation Research/DNA Repair**, v. 459, n. 1, p. 1–18, fev. 2000.

TICHY, E. D. et al. Mismatch and base excision repair proficiency in murine embryonic stem cells. **DNA Repair**, v. 10, n. 4, p. 445–451, abr. 2011.

TRAN, H. T. et al. α -Synuclein Immunotherapy Blocks Uptake and Templated Propagation of Misfolded α -Synuclein and Neurodegeneration. **Cell Reports**, v. 7, n. 6, p. 2054–2065, jun. 2014.

TUMAS, V. et al. The accuracy of diagnosis of major depression in patients with Parkinson's disease: a comparative study among the UPDRS, the geriatric depression scale and the Beck depression inventory. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 66, n. 2a, p. 152–156, jun. 2008.

VALKO, M. et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 39, n. 1, p. 44–84, jan. 2007.

VAN DER VEEN, S.; TANG, C. M. The BER necessities: the repair of DNA damage in human-adapted bacterial pathogens. **Nature Reviews Microbiology**, v. 13, n. 2, p. 83–94, fev. 2015.

VARÇIN, M. et al. Oxidative Stress in Genetic Mouse Models of Parkinson's Disease. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2012, p. 1–25, 2012.

VASCOTTO, C. et al. Knock-in reconstitution studies reveal an unexpected role of Cys-65 in regulating APE1/Ref-1 subcellular trafficking and function. **Molecular Biology of the Cell**, v. 22, n. 20, p. 3887–3901, 15 out. 2011.

VODICKA, P. Genetic polymorphisms in DNA repair genes and possible links with DNA repair rates, chromosomal aberrations and single-strand breaks in DNA. **Carcinogenesis**, v. 25, n. 5, p. 757–763, 19 dez. 2003.

VODICKA, P. et al. Cytogenetic markers, DNA single-strand breaks, urinary metabolites, and DNA repair rates in styrene-exposed lamination workers. **Environmental Health Perspectives**, v. 112, n. 8, p. 867–871, jun. 2004.

- WALLACE, S. S.; MURPHY, D. L.; SWEASY, J. B. Base excision repair and cancer. **Cancer Letters**, v. 327, n. 1–2, p. 73–89, dez. 2012.
- WANG, W. et al. Are Free Radicals Involved in IspH Catalysis? An EPR and Crystallographic Investigation. **Journal of the American Chemical Society**, v. 134, n. 27, p. 11225–11234, 11 jul. 2012.
- WANG, Z. et al. XRCC1 polymorphisms and severe toxicity in lung cancer patients treated with cisplatin-based chemotherapy in Chinese population. **Lung Cancer**, v. 62, n. 1, p. 99–104, out. 2008.
- WEISSMAN, L. et al. Defective DNA base excision repair in brain from individuals with Alzheimer’s disease and amnesic mild cognitive impairment. **Nucleic Acids Research**, v. 35, n. 16, p. 5545–5555, 17 ago. 2007.
- WELCH, K. D. et al. Deleterious iron-mediated oxidation of biomolecules¹ ¹This article is part of a series of reviews on “Iron and Cellular Redox Status.” The full list of papers may be found on the homepage of the journal. ⁶ Guest Editor: Mario Comporti. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 32, n. 7, p. 577–583, abr. 2002.
- WHITAKER, A. M. et al. Base excision repair of oxidative DNA damage: from mechanism to disease. **Frontiers in Bioscience (Landmark Edition)**, v. 22, p. 1493–1522, 01 2017.
- WHITAKER, A. M.; FLYNN, T. S.; FREUDENTHAL, B. D. Molecular snapshots of APE1 proofreading mismatches and removing DNA damage. **Nature Communications**, v. 9, n. 1, dez. 2018.
- WILSON, D. M. Processing of nonconventional DNA strand break ends. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 48, n. 9, p. 772–782, dez. 2007.
- WILSON, D. M.; BARSKY, D. The major human abasic endonuclease: formation, consequences and repair of abasic lesions in DNA. **Mutation Research/DNA Repair**, v. 485, n. 4, p. 283–307, maio 2001.
- WIRDEFELDT, K. et al. Epidemiology and etiology of Parkinson’s disease: a review of the evidence. **European Journal of Epidemiology**, v. 26, n. S1, p. 1–58, jun. 2011.
- YOSUNKAYA, E. et al. Glioma risk associates with polymorphisms of DNA repair genes, XRCC1 and PARP1. **British Journal of Neurosurgery**, v. 24, n. 5, p. 561–565, out. 2010.
- ZHANG, X. et al. XRCC1 Arg399Gln was associated with repair capacity for DNA damage induced by occupational chromium exposure. **BMC Research Notes**, v. 5, n. 1, p. 263, 2012.

ZHARKOV, D. O. Base excision DNA repair. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 65, n. 10, p. 1544–1565, maio 2008.

ZHOU, C.; HUANG, Y.; PRZEDBORSKI, S. Oxidative Stress in Parkinson's Disease: A Mechanism of Pathogenic and Therapeutic Significance. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1147, n. 1, p. 93–104, 8 dez. 2008.

The effect of XRCCI polymorphism on levodopa therapy in patients with sporadic Parkinson's disease.

Samantha Amorim Cândido¹, Erinaldo Ubirajara Damasceno dos Santos², Elaine Bandeira Cavalcanti Duarte¹, Nadja Maria Jorge Asano³, Amdore Guescel C. Asano⁴, Maria de Mascena Diniz Maia⁵, Paulo Roberto Eleutério de Souza^{1,2,5}

1 Postgraduate Program of Tropical Animal Science, Federal Rural University of Pernambuco (UFRPE), Recife- Brazil

2 Postgraduate Program of Applied Cellular and Molecular Biology, University of Pernambuco (UPE), Recife- Brazil

3 Department of Clinical Medicine, Faculty of Medicine, Federal University of Pernambuco (UFPE), Recife- Brazil

4 Pro-Parkinson Program of Clinical Hospital of Federal University of Pernambuco e Recife (HC/UFPE), Recife- Brazil

5 Department of Biology, Federal Rural University of Pernambuco (UFRPE), Recife- Brazil

Corresponding author: Paulo Roberto Eleutério de Souza, Rua Dom Manuel de Medeiros, S/N –Dois Irmãos- CEP: 52171-900 – Recife-PE BRAZIL. Telephone: +55 (81) 3320-6300, e-mail:

Declaration of Conflicting Interests: The authors declare that they have no conflicts of interest.

Funding: Brazilian funding agency FACEPE (Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco) and the CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior).

Acknowledgments: We thank the patients and their families, whose collaboration and understanding have made this work possible.

Word count to the body of the manuscript: 1.995

The aggregate number of tables: 3

Number of references: 39

Abstract

Parkinson's disease is the second most common neurodegenerative disorder among the elderly population. It is a progressive disease, has no cure and treatment with Levodopa (L-DOPA) acts to attenuate the motor symptoms of the disease. Its etiology is poorly understood, and studies suggest a possible relationship between oxidative stress (OS) and L-DOPA therapy. The base excision repair (BER) pathway is the main mechanism for repairing the OS, which underlies the objective of our study to evaluate the variants in genes encoding the main functional proteins of this pathway, *APE1* and *XRCC1*. A total of 110 Brazilian patients from the Pro-Parkinson Service of Clinics Hospital of Pernambuco diagnosed with sporadic PD and treated with L-DOPA were enrolled. PD patients were stratified into two groups according to the daily levodopa dose. The *APE1* Asp148Glu (T>G, rs1130409) was genotyped by qPCR and *XRCC1* Arg399Gln (G>A, rs25487) by RFLP-PCR. Multiple regression logistic of Poisson revealed significant association between higher doses of levodopa therapy, longer duration of therapy (PR 1.1; CI -1.1-1.19; p = 0.001); presence of motor fluctuation (PR 1.7; CI 1.3- 2.2; p = .001) and the presence of *XRCC1* 399AA variant genotype (PR 1.54; CI 1.04-2. 27; p = 0.028). Whereas, the *XRCC1* 399GA genotype had a protective effect in patients taking high doses of L-DOPA (PR 0.7; CI 0.5-0.9; p = .022). Our data suggest that genetic variation in the *XRCC1* gene may contribute to progression of PD and pharmacological response.

Key-words: Parkinson's disease, L-DOPA, BER, *APE1*, *XRCC1* genes.

Introduction

The prolongation of life expectancy in the world population has increased the prevalence of diseases associated with old age, like Parkinson's disease (PD). PD affects about 1% of the elderly population, with prospects of 8.7 to 9.3 million individuals with the disease by 2030 ¹. It is a chronic disease of the Central Nervous System (CNS), characterized by the progressive loss of dopaminergic neurons (ND) in the substantia nigra pars compacta (SNpc), which can cause the motor and non-motor symptoms ².

Until now, there is no known cure for PD, and the therapy of motor symptoms is with Levodopa (L-DOPA) use. However, patients undergoing long-term therapy have an increased tendency to develop motor complications, including abnormal involuntary movements and motor fluctuations, levodopa-induced-dyskinesia, and visual hallucinations, contributing to the decrease in the quality of life of PD patients ^{3,4}.

The etiology of PD is little known and studies that found high levels of reactive oxygen species (ROS) in post-mortem brains suggested the relationship between oxidative stress (SO) and the development of the disease. This relationship is probably due to the oxygen supply that the brain demands and the limited access of antioxidants in the CNS through the blood-brain barrier, causing an increase in the formation of ROS^{5,6}.

Some studies suggest that prolonged therapy with L-DOPA may be related to increased loss of dopaminergic neurons in PD, through the accumulation of ROS produced by dopamine metabolism in the cytoplasm⁷. The post-mitotic nature of the brain makes it susceptible to damage caused by the OS, due to low levels of DNA synthesis and repair, inducing the cell to apoptosis or necrosis^{8,9}.

In brain cells exposed to the OS, the Base Excision Repair (BER) is responsible for recognizing and repairing of oxidation and alkylation base damage, apurinic/aprimidinic (abasic sites) and single-strand breaks (SSBs), acting to reduce mutations in post-mitotic cells^{10,11}. Although the role of BER proteins in the development of PD is unclear, some studies show increased expression of some BER proteins in dopaminergic neurons in the substantia nigra of PD patients¹²⁻¹⁴.

APE1 (apurinic/aprimidinic endonuclease 1) and XRCC1 (X-ray repair cross-complementing 1) are vital proteins in the DNA repair process by BER. APE1 acts in a multifunctional way, as endonuclease AP in the repair of abasic sites originated by the OS or playing the role of binding transcription factors. XRCC1 is a scaffolding protein fundamental in recruiting the set of enzymes responsible for BER repair steps^{15,16}.

Studies have suggested that single nucleotide polymorphisms (SNPs) of the *APE1* and *XRCC1* genes may influence the ability to act in the repair of DNA damage and contribute to the development of pathologies associated with oxidative stress^{17,18}.

The SNP rs1130409 from *APE1* replaces the T base for G (aspartate - glutamate) at codon 148 (exon 5) and is associated with enzymatic modulation that influences the increase in DNA oxidation of neuronal cells, due to the repair deficiency (YANG et al., 2010). The rs25487 G for A (arginine-glutamine) at codon 399 (exon 10) influences the loss of communication between *XRCC1* and BER proteins, uncoordinated the DNA repair cascade¹⁹.

Although several studies have suggested the direct relationship between oxidative stress and Parkinson's disease and the possible influence of prolonged therapy in increasing ROS, the literature has scant data on the relationship between OS repair genes and neurodegenerative diseases. To date, no study has evaluated the relationship between genetic variants of *APE1* Asp148Glu (rs1130409) and *XRCC1* Arg399Gln (rs25487) with the emergence of adverse effects in PD. Thus, our study aimed to evaluate the possible association between the SNPs of the repair genes *APE1* (rs1130409) and *XRCC1* (rs25487) and the response of therapy with high doses of Levodopa in patients diagnosed with PD. These data can help understand the factors that influence the progression of PD, and the improvement of patients' quality of life.

Methods

The ethics committee approved all procedures performed in this study of the Ministry of Health of Brazil (CAAE: 45614415.0.0000.5208). The patients included verbally and in writing about the research objectives, benefits and procedures and authorized their participation by signing the informed consent form. As clinical-epidemiological variables, interviews with patients and family members, filling in the questionnaire and access to medical records were interrupted.

Study subjects

A cross-sectional study was carried out with 110 patients diagnosed with idiopathic PD, according to the United Kingdom Parkinson's Disease Society Brain Bank criteria²⁰. The study population consisted of individuals from northeastern Brazil (Recife) treated at the PRÓ-PARKINSON service at Hospital das Clínicas de Pernambuco, from January 2016 to December 2017. The patients included were evaluated in the first five years of treatment and those who did not use L-DOPA therapy were excluded from this study. To assess the relationship between *APE1* Asp148Glu (T>G, rs1130409) and *XRCC1* Arg399Gln (G>A, rs25487) polymorphisms and the effect of L-DOPA dosing, patients were divided into two groups according to the amount of the daily dose of L-DOPA. The first group consisted of PD patients treated with dose ≤ 600 mg/day; and group II consisted of patients treated with doses > 600 mg/day according to⁴.

DNA extraction and genotyping

Genomic DNA was extracted from 3 mL of peripheral venous blood of PD individuals using a Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega, Madison, Wisconsin) and stored in a -20 °C freezer. This procedure was performed at the Biochemical Genetics and DNA Sequencing Laboratory Profa. Tânia Falcão at the Federal Rural University of Pernambuco.

A 615 bp fragment of the *XRCC1* (rs25487) gene polymorphism was amplified using the RFLP-PCR and the restriction enzyme *MspI* was used to digest the 615 bp fragment, resulting in fragments of 374 and 221 bp for the Arg allele and no cut for the Gln allele²¹. Regarding *APE1* (rs1130409), genotyping was performed by TaqMan (Applied Biosystems) technology using the Real-Time PCR (Real-Time Polymerase

Chain Reaction) technique. The assay used was C_8921503_10 (AATTCTGTTTCATTTCTATAGGCGA[G/T]GAGGAGCATGATCAGGAAGGCCG GG) with fluorochrome markers specificity for the alleles G (VIC) and T (FAM) following the protocol of Santos et al ²².

Statistical analysis

The genotype distribution and the allele frequencies of the polymorphisms were obtained by direct counting. Univariate analyses were performed using the Bioestat 5.0 software (Manirauá, Amazônia, Brazil). Student's T-test was used for continuous data with a normal distribution and the Wilcoxon-Mann-Whitney test was performed for data without normal distribution. Genotypic frequencies were analyzed using the χ^2 test and the odds ratio (OR) with a 95% confidence interval (CI). Multivariate analyses were performed using the SPSS 16.0 statistical program with the determination of a significance level of 5%. Poisson multiple regression analysis was used to assess the relationship between high doses of Levodopa, with clinical characteristics and the investigated polymorphisms of the *APE1* and *XRCC1* genes.

Results

The distribution genotype and allelic frequencies of the *APE1* (rs1130409) and *XRCC1* (rs25487) gene polymorphisms between patients treated with low levodopa doses (groups I \leq 600 mg /day) and high levodopa doses (group II $>$ 600 mg/day) are shown in table 1. All genotype frequencies for both *APE1* (rs1130409) and *XRCC1* (rs25487) polymorphisms were more frequent in group I than group II. However, no association was found among subgroup analysis ($p > 0.05$). The association between motor and non-motor symptoms of PD and the studied polymorphisms was evaluated

by univariate analysis, none of these polymorphisms appeared associated with the presence of any of the complications (motor fluctuations, dyskinesia and visual hallucinations) (Table 2).

Multiple logistic regression analysis was performed to investigate the relationship between rs1130409 and rs25487 polymorphisms and the occurrence of motor fluctuation, dyskinesia and visual hallucinations, controlling for the conceptual confounders factors described earlier (Table 3). High daily levodopa doses was associated with greater duration of therapy (prevalence ratio (PR) 1.1; CI -1.1-1.19; $p = 0.001$), presence of motor fluctuation (PR 1.7; CI 1.3-2.2; $p = 0.001$) and the presence of *XRCCI* 399AA genotype (PR 1.54; CI 1.04-2.27; $p = 0.028$). However, we also observed a possible protector effect for individuals carrying heterozygous genotype of the *XRCCI* (rs25487) polymorphism with high levodopa doses (PR 0.7; CI 0.5-0.9; $p = 0.022$).

Discussion

The presence of oxidative stress and the resulting damage in PD is well documented in the literature, but the cause of its appearance is still unclear²³. Studies have evaluated the relationship between the excessive production of free radicals during the neurodegenerative process of PD and the appearance of motor and non-motor symptoms^{18,24}. Furthermore, some reports also have shown that the dopamine metabolism in patients treated with L-DOPA may be associated with increased formation of reactive oxygen species in the brain, causing oxidative stress^{7,25}.

Previous studies have shown a significant association between prolonged therapy with L-DOPA and the appearance of motor fluctuations, dyskinesia and visual hallucinations^{3,4}. However, to date, no study has evaluated whether the functional

genetic variability of the DNA repair genes, *APE1* and *XRCC1*, can influence the response to Levodopa in individuals with PD, as well as the occurrence of motor fluctuations, dyskinesia and visual hallucinations. For this reason, our study investigated the relationship between polymorphisms of the repair genes *APE1* Asp148Glu (rs1130409) and *XRCC1* Arg399Gln (rs25487) in patients treated with high doses of L-DOPA.

Under univariate analysis, none of these polymorphisms appeared associated with the presence of motor or non-motor complications. However, after multivariate analysis, high levodopa doses (>600 mg/day) were associated with longer duration of therapy, presence of motor fluctuation, and the presence of *XRCC1* 399AA variant genotype, suggesting that *XRCC1* (rs25487) polymorphism might influence the response to therapy with Levodopa and the occurrence of motor fluctuations. In contrast, individuals with the *XRCC1* 399GA genotype showed a protective relationship, demonstrating that patients treated with high doses of L-DOPA and who have the heterozygous genotype are not predisposed to develop motor fluctuations.

Similar to our results, many studies explain the relationship between high doses of L-DOPA, duration of therapy and the susceptibility to develop motor symptoms like dyskinesia and motor fluctuations²⁶⁻²⁹. Besides, high doses associated with longer treatment times can be an aggravating factor for oxidative stress, since studies have shown that increased dopamine turnover contributes to the formation of free radicals, reduced antioxidants and, consequently, neuronal loss^{25,30}. As demonstrated in the studies by Sabens et al²⁵ and Fedorova et al³¹, who evaluated that high doses of L-DOPA subject preserved neurons to susceptible oxidative episodes, considering that the pro-oxidant characteristic of Levodopa influences the increase in free radicals and

consequent cell death. These data propose the relationship between oxidative stress and the duration of therapy and the appearance of adverse symptoms in Parkinson's disease.

This study is the first to found a relationship between the *XRCCI* 399AA genotype with high levodopa therapy duration. However, most studies have evaluated the polymorphic variant associated with the functional alteration of the *XRCCI* gene, considering that it directly influences the BRCT1 domain responsible for the interaction with the BER protein cascade³²⁻³⁴. In a study by Gencer et al³⁵, the polymorphic variable was more frequent in patients than in controls, where the genotypes AA and GA had a greater influence on the risk for the development of Parkinson's disease. This study suggests the *XRCCI* (rs25487) polymorphism is associated with enzyme modulation, suppression of repair capacity and a tendency to greater susceptibility to the development of neuropathology.

Regarding the *APE1* gene, studies have shown the Asp148Glu variant is associated with a deficiency in repair activity in some neurodegenerative diseases, like amyotrophic lateral sclerosis (ALS)³⁶⁻³⁸. Rao et al³⁹ also postulated the *APE1* (rs1130409) polymorphism could act indirectly in the oxidation of dopamine through the enzymatic inactivation of APE1 in DNA repair. Although in the present study, no association was found between the polymorphism in the *APE1* gene and the therapeutic response to Levodopa and admitted the scarcity of studies evaluating different populations and their variables does not allow an exact determination of the relationship between *APE1* (rs1130409) polymorphism and the progression of neurodegenerative diseases.

Conclusion

Our data evidence that the genetic variation in the *XRCC1* gene influences the progression of PD and the pharmacological response.

References

1. Cacabelos R. Parkinson's Disease: From Pathogenesis to Pharmacogenomics. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017;18(3):551. doi:10.3390/ijms18030551
2. Kalia LV, Lang AE. Parkinson's disease. *The Lancet*. 2015;386(9996):896-912. doi:10.1016/S0140-6736(14)61393-3
3. Damasceno dos Santos EU, Duarte EBC, Miranda LMR, et al. Pharmacogenetic Profile and the Occurrence of Visual Hallucinations in Patients With Sporadic Parkinson's Disease. *The Journal of Clinical Pharmacology*. 2019;59(7):1006-1013. doi:10.1002/jcph.1394
4. Sampaio TF, dos Santos EUD, de Lima GDC, et al. *MAO-B* and *COMT* Genetic Variations Associated With Levodopa Treatment Response in Patients With Parkinson's Disease. *The Journal of Clinical Pharmacology*. 2018;58(7):920-926. doi:10.1002/jcph.1096
5. Kosta P, Argyropoulou MI, Markoula S, Konitsiotis S. MRI evaluation of the basal ganglia size and iron content in patients with Parkinson's disease. *Journal of Neurology*. 2006;253(1):26-32. doi:10.1007/s00415-005-0914-9
6. Sian-Hülsmann J, Mandel S, Youdim MBH, Riederer P. The relevance of iron in the pathogenesis of Parkinson's disease: Iron in Parkinson's disease. *Journal of Neurochemistry*. 2011;118(6):939-957. doi:10.1111/j.1471-4159.2010.07132.x

7. Müller T. Pharmacokinetic Considerations for the Use of Levodopa in the Treatment of Parkinson Disease: Focus on Levodopa/Carbidopa/Entacapone for Treatment of Levodopa-Associated Motor Complications. *Clinical Neuropharmacology*. 2013;36(3):84-91. doi:10.1097/WNF.0b013e31828f3385
8. Calabrese V, Lodi R, Tonon C, et al. Oxidative stress, mitochondrial dysfunction and cellular stress response in Friedreich's ataxia. *Journal of the Neurological Sciences*. 2005;233(1-2):145-162. doi:10.1016/j.jns.2005.03.012
9. Marnett LJ. Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis*. 2000;21(3):361-370. doi:10.1093/carcin/21.3.361
10. Coppedè F. Variants and polymorphisms of DNA base excision repair genes and Alzheimer's disease. *Journal of the Neurological Sciences*. 2011;300(1-2):200-201. doi:10.1016/j.jns.2010.09.020
11. Weissman L, Jo D-G, Sorensen MM, et al. Defective DNA base excision repair in brain from individuals with Alzheimer's disease and amnesic mild cognitive impairment. *Nucleic Acids Research*. 2007;35(16):5545-5555. doi:10.1093/nar/gkm605
12. Fukae J, Takanashi M, Kubo S, et al. Expression of 8-oxoguanine DNA glycosylase (OGG1) in Parkinson's disease and related neurodegenerative disorders. *Acta Neuropathol*. 2005;109(3):256-262. doi:10.1007/s00401-004-0937-9
13. Omoi N, Arai M, Saito M, et al. Influence of Oxidative Stress on Fusion of Pre-Synaptic Plasma Membranes of the Rat Brain with Phosphatidyl Choline Liposomes, and Protective Effect of Vitamin E. *J Nutr Sci Vitaminol*. 2006;52(4):248-255. doi:10.3177/jnsv.52.248
14. Shimura-Miura H, Hattori N, Kang D, Miyako K, Nakabeppu Y, Mizuno Y. Increased 8-oxo-dGTPase in the mitochondria of substantia nigral neurons in Parkinson's disease. *Ann Neurol*. 1999;46(6):920-924.

15. Caldecott KW. XRCC1 protein; Form and function. *DNA Repair*. 2019;81:102664. doi:10.1016/j.dnarep.2019.102664
16. Li M, Wilson DM. Human Apurinic/Apyrimidinic Endonuclease 1. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2014;20(4):678-707. doi:10.1089/ars.2013.5492
17. Vodicka P, Tuimala J, Stetina R, et al. Cytogenetic markers, DNA single-strand breaks, urinary metabolites, and DNA repair rates in styrene-exposed lamination workers. *Environmental Health Perspectives*. 2004;112(8):867-871. doi:10.1289/ehp.6849
18. Zhou C, Huang Y, Przedborski S. Oxidative Stress in Parkinson's Disease: A Mechanism of Pathogenic and Therapeutic Significance. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2008;1147(1):93-104. doi:10.1196/annals.1427.023
19. Caldecott KW. XRCC1 and DNA strand break repair. *DNA Repair*. 2003;2(9):955-969. doi:10.1016/S1568-7864(03)00118-6
20. Hughes AJ, Daniel SE, Kilford L, Lees AJ. Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: a clinico-pathological study of 100 cases. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 1992;55(3):181-184. doi:10.1136/jnnp.55.3.181
21. Przybylowska-Sygut K, Stanczyk M, Kusinska R, Kordek R, Majsterek I. Association of the Arg194Trp and the Arg399Gln Polymorphisms of the XRCC1 Gene With Risk Occurrence and the Response to Adjuvant Therapy Among Polish Women With Breast Cancer. *Clinical Breast Cancer*. 2013;13(1):61-68. doi:10.1016/j.clbc.2012.09.019
22. Santos LS, Branco SC, Silva SN, et al. Polymorphisms in base excision repair genes and thyroid cancer risk. *Oncology Reports*. 2012;28(5):1859-1868. doi:10.3892/or.2012.1975

23. de la Monte SM, Wands JR. Molecular indices of oxidative stress and mitochondrial dysfunction occur early and often progress with severity of Alzheimer's disease. Moreira PI, Oliveira C, eds. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2006;9(2):167-181. doi:10.3233/JAD-2006-9209
24. Lin MT, Beal MF. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Nature*. 2006;443(7113):787-795. doi:10.1038/nature05292
25. Sabens EA, Distler AM, Mieyal JJ. Levodopa Deactivates Enzymes That Regulate Thiol–Disulfide Homeostasis and Promotes Neuronal Cell Death: Implications for Therapy of Parkinson's Disease. *Biochemistry*. 2010;49(12):2715-2724. doi:10.1021/bi9018658
26. Ahlskog JE, Muentner MD. Frequency of levodopa-related dyskinesias and motor fluctuations as estimated from the cumulative literature: Levodopa Motor Complication Frequency. *Movement Disorders*. 2001;16(3):448-458. doi:10.1002/mds.1090
27. Holloway RG, Shoulson I, Fahn S, et al. Pramipexole vs levodopa as initial treatment for Parkinson disease: a 4-year randomized controlled trial. *Arch Neurol*. 2004;61(7):1044-1053. doi:10.1001/archneur.61.7.1044
28. Cilia R, Akpalu A, Sarfo FS, et al. The modern pre-levodopa era of Parkinson's disease: insights into motor complications from sub-Saharan Africa. *Brain*. 2014;137(10):2731-2742. doi:10.1093/brain/awu195
29. Olanow CW, Obeso JA, Stocchi F. Continuous dopamine-receptor treatment of Parkinson's disease: scientific rationale and clinical implications. *The Lancet Neurology*. 2006;5(8):677-687. doi:10.1016/S1474-4422(06)70521-X
30. Maguire-Zeiss KA, Short DW, Federoff HJ. Synuclein, dopamine and oxidative stress: co-conspirators in Parkinson's disease? *Molecular Brain Research*. 2005;134(1):18-23. doi:10.1016/j.molbrainres.2004.09.014

31. Fedorova TN, Logvinenko AA, Poleshchuk VV, Illarioshkin SN. The state of systemic oxidative stress during Parkinson's disease. *Neurochem J.* 2017;11(4):340-345. doi:10.1134/S1819712417040031
32. Monaco R, Rosal R, Dolan MA, Pincus MR, Brandt-Rauf PW. Conformational Effects of a Common Codon 399 Polymorphism on the BRCT1 Domain of the XRCC1 Protein. *The Protein Journal.* 2007;26(8):541-546. doi:10.1007/s10930-007-9095-y
33. Yosunkaya E, Kucukyuruk B, Onaran I, Gurel CB, Uzan M, Kanigur-Sultuybek G. Glioma risk associates with polymorphisms of DNA repair genes, XRCC1 and PARP1. *British Journal of Neurosurgery.* 2010;24(5):561-565. doi:10.3109/02688697.2010.489655
34. Zhang X, Zhang X, Zhang L, et al. XRCC1 Arg399Gln was associated with repair capacity for DNA damage induced by occupational chromium exposure. *BMC Research Notes.* 2012;5(1):263. doi:10.1186/1756-0500-5-263
35. Gencer M, Dasdemir S, Cakmakoglu B, et al. DNA Repair Genes in Parkinson's Disease. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers.* 2012;16(6):504-507. doi:10.1089/gtmb.2011.0252
36. Hu JJ. Amino acid substitution variants of APE1 and XRCC1 genes associated with ionizing radiation sensitivity. *Carcinogenesis.* 2001;22(6):917-922. doi:10.1093/carcin/22.6.917
37. Shaikh AY, Martin LJ. DNA base-excision repair enzyme apurinic/aprimidinic endonuclease/redox factor-1 is increased and competent in the brain and spinal cord of individuals with amyotrophic lateral sclerosis. *Neuromol Med.* 2002;2(1):47-60. doi:10.1007/s12017-002-0038-7

38. Tell G, Damante G, Caldwell D, Kelley MR. The Intracellular Localization of APE1/Ref-1: More than a Passive Phenomenon? *Antioxidants & Redox Signaling*. 2005;7(3-4):367-384. doi:10.1089/ars.2005.7.367
39. Rao KS. DNA repair in aging rat neurons. *Neuroscience*. 2007;145(4):1330-1340. doi:10.1016/j.neuroscience.2006.09.032

Table 1. Distribution of the genotypic frequencies of the *APEI* rs1130409 and *XRCCI* rs25487 gene polymorphisms in patients treated with high and low doses of Levodopa.

Genotypes	Group I Levodopa ≤600mg/day n = 70(%)	Group II Levodopa >600mg/day n=40 (%)	χ^2 (<i>P</i> value)	OR (95% CI)	<i>P</i> *
<i>APEI</i> (rs1130409)					
T/T	29 (20.3)	11 (4.4)	3.6 (0.1)	Reference	Reference
T/G	24 (16.8)	21 (8.4)		2.3 (0.9-5.7)	0.11
G/G	17 (11.9)	8 (3.2)		1.2 (0.4-3.6)	0.94
T/G + G/G (%)	41 (28.7)	29 (11.2)	2.1 (0.1)	1.8 (0.8-4.3)	0.20
<i>XRCCI</i> (rs25487)					
G/G	13 (9.1)	8 (3.2)	0.8 (0.6)	Reference	Reference
G/A	50 (35.0)	30 (12.0)		0.9 (0.3-2.6)	0.83
A/A	7 (4.9)	2 (0.8)		0.4 (.07-2.8)	0.67
G/A+A/A (%)	57 (39.9)	32 (12.8)	0.03 (0.9)	0.9 (0.3-2.4)	0.94

Abbreviations: χ^2 - Chi-square test; OR – odds ratio; CI – confidence interval; *P** - *P* value of the odds ratio.

Table 2. Univariate analyzes of the ratio of *APE1* rs1130409 and *XRCC1* rs25487 on the occurrence of motor fluctuation, dyskinesia and visual hallucination in patients with Parkinson's disease.

	All	Motor Fluctuation		<i>P</i> *	OR (95% CI)	Dyskinesia		<i>P</i> *	OR (95% CI)	Visual Hallucinations		<i>P</i> *	OR (95% CI)
		Present	Absent			Present	Absent			Present	Absent		
	110	48	62			16	94			9	101		
rs1130409													
T/T (%)	40 (44.0)	14 (6.72)	26 (16.1)	0.1	Reference	5 (0.8)	35 (32.9)	0.8	Reference	4 (0.36)	36 (36.3)	0.6	Reference
T/G (%)	45 (49.5)	25 (12.0)	20 (12.4)		2.3 (0.9-5.5)	7 (1.12)	38 (35.7)		1.2 (0.3-4.4)	4 (0.36)	41 (41.4)		0.8 (0.2-3.7)
G/G (%)	25 (27.5)	9 (4.32)	16 (9.92)		1.0 (0.3-2.9)	4 (0.64)	21 (19.7)		1.3 (0.3-5.5)	1 (0.09)	24 (24.2)		0.3 (0.03-3.5)
T/G + G/G (%)	70 (77.0)	34 (16.3)	36 (22.3)	0.1	1.7 (0.7-3.9)	11 (1.76)	59 (55.4)	0.8	1.3 (0.4-4.0)	5 (0.45)	65 (65.6)	0.5	0.6 (0.1-2.7)
rs25487													
G/G (%)	21 (23.1)	9 (4.32)	12 (7.44)	0.3	Reference	2 (0.32)	19 (17.8)	0.2	Reference	3 (0.27)	18 (18.1)	0.4	Reference
G/A (%)	80 (88.0)	37 (17.7)	43 (3.01)		1.1 (0.4-3.0)	14 (2.24)	66 (2.64)		2.0 (0.4-9.6)	5 (0.45)	75 (75.7)		0.4 (0.08-1.8)
A/A (%)	9 (9.9)	2 (0.96)	7 (4.34)		0.3 (0.06-2.2)	0	9 (8.46)		NT	1 (0.09)	8 (8.08)		0.7 (0.06-8.3)
G/A+A/A (%)	89 (97.9)	39 (18.7)	50 (31.0)	0.8	1.0 (0.3-2.7)	14 (2.24)	75 (70.5)	0.7	1.7 (0.3-8.4)	6 (0.36)	83 (83.8)	0.2	0.4 (0.09-1.8)

Abbreviations: OR, odds ratio; CI, confidence interval; *P** - p value; NT, not calculated.

Table 3. Multiple Poisson regression model adjusted for patients treated with high or low doses of Levodopa and clinical variables, polymorphisms *APE1* rs1130409 and *XRCC1* rs25487.

	Prevalence Ratio	95% CI	p - value
Age	0.9	0.9-1.0	0.56
Gender (Male)	1.1	0.8-1.4	0.47
Levodopa therapy duration	1.1	1.1-1.19	0.001
HY	0.9	0.8-1.1	0.87
Motor fluctuation	1.7	1.3-2.2	0.001
Dyskinesia	1.2	0.9-1.6	0.08
Visual hallucinations	0.9	0.7-1.3	0.80
rs1130409			
T/G	0.8	0.6-1.1	0.39
G/G	0.9	0.6-1.4	0.87
rs25487			
G/A	0.7	0.5-0.9	0.022
A/A	1.5	1.0-2.2	0.028

Abbreviations: HY, Hoehn e Yahr scale; 95%CI, 95% confidence interval.
Significant p-values are shown in bold ($p < 0.05$).